

**ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC**

BÙI VĂN HIẾU

**NGHIÊN CỨU THAY ĐỔI HÌNH THÁI HỌC
CỔ TỬ CUNG BẰNG SIÊU ÂM QUÝ II
VÀ KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ DỰ BÁO
NGUY CƠ SINH NON Ở THAI PHỤ SONG THAI**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HUẾ, 2026

Công trình được hoàn thành tại:
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC, ĐẠI HỌC HUẾ

Người hướng dẫn khoa học:

GS.TS. NGUYỄN VŨ QUỐC HUY
GS.TS. LÊ MINH TÂM

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại

Hội đồng chấm luận án cấp.....

Vào lúc.....giờ.....ngày.....tháng.....năm

Tại : Đại học Huế, 03 Lê Lợi, Thành phố Huế

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia
- Trung tâm học liệu - Đại học Huế
- Thư viện Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC

BÙI VĂN HIẾU

NGHIÊN CỨU THAY ĐỔI HÌNH THÁI HỌC
CỔ TỬ CUNG BẰNG SIÊU ÂM QUÝ II
VÀ KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ DỰ BÁO
NGUY CƠ SINH NON Ở THAI PHỤ SONG THAI

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Ngành: SẢN PHỤ KHOA
Mã số: 9.72.01.05

Người hướng dẫn khoa học:
GS.TS. NGUYỄN VŨ QUỐC HUY
GS. TS. LÊ MINH TÂM

HUẾ, 2026

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sinh non là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong và bệnh tật chu sinh trên toàn thế giới. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), mỗi năm có khoảng 15 triệu trẻ sinh non. Thai phụ song thai có nguy cơ sinh non cao hơn nhiều so với đơn thai, với tỷ lệ sinh non lên tới khoảng 60%. Vì vậy, việc nhận diện sớm các yếu tố nguy cơ và xây dựng các mô hình dự báo sinh non ở thai phụ song thai có ý nghĩa quan trọng trong thực hành sản khoa.

Các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào đánh giá chiều dài cổ tử cung và đã chứng minh đây là chỉ số có giá trị dự báo sinh non, tuy nhiên phần lớn chỉ đánh giá tại từng thời điểm riêng lẻ. Trong khi đó, chiều dài và góc cổ tử cung là những dấu ấn hình thái học mới, phản ánh mối quan hệ động học giữa đoạn dưới tử cung và cổ tử cung cũng như quá trình tái cấu trúc cổ tử cung diễn ra liên tục trong thai kỳ. Nhưng dữ liệu theo dõi dọc sự thay đổi của chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và hình thái lỗ trong cổ tử cung ở thai phụ song thai vẫn còn hạn chế.

Bên cạnh các thay đổi hình thái học, ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy sinh non là hậu quả của sự tương tác giữa các cơ chế viêm, miễn dịch và di truyền. Một số cytokine tiền viêm (IL-1 β , IL-6, TNF- α) và các plasma cell-free RNAs như PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4 và Hsa-let-7g đã được ghi nhận có liên quan đến sinh non trong một số nghiên cứu. Tuy nhiên, các bằng chứng này chủ yếu được thực hiện trên thai đơn, trong khi dữ liệu ở thai phụ song thai còn rất hạn chế, đặc biệt về mối liên quan giữa các marker phân tử với sự thay đổi hình thái cổ tử cung cũng như giá trị dự báo sinh non khi kết hợp với các chỉ số siêu âm.

Xuất phát từ những khoảng trống nghiên cứu trên, chúng tôi thực hiện đề tài **“Nghiên cứu thay đổi hình thái học cổ tử cung bằng siêu âm quý II và khảo sát một số yếu tố dự báo nguy cơ sinh non ở thai phụ song thai”** với hai mục tiêu:

Mục tiêu 1: Xác định thay đổi hình thái học cổ tử cung bằng siêu âm quý II và đánh giá mối liên quan với một số yếu tố genomics, yếu tố tiền viêm ở thai phụ song thai.

Mục tiêu 2: Nghiên cứu khả năng dự báo nguy cơ sinh non của chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và một số yếu tố genomics trong quý II ở thai phụ song thai.

2. ĐÓNG GÓP CỦA LUẬN ÁN

Luận án đã cung cấp thêm bằng chứng về sự thay đổi hình ảnh học cổ tử cung trên siêu âm quý II ở thai phụ song thai, đồng thời làm rõ mối liên quan với các dấu ấn mRNA, yếu tố tiền viêm và liên quan của các yếu tố này với nguy cơ sinh non. Đây là một hướng tiếp cận mới, kết hợp đồng thời giữa biến đổi hình thái cổ tử cung và các yếu tố sinh học phân tử trong dự báo sinh non.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chiều dài cổ tử cung và góc cổ tử cung có sự thay đổi theo tuổi thai và liên quan có ý nghĩa với sinh non, đặc biệt ở nhóm sinh non trước 34 tuần. Đồng thời, luận án bước đầu ghi nhận vai trò của một số mRNA, đặc biệt là PSME2, trong liên quan với sinh non và cải thiện giá trị tiên lượng khi kết hợp với các chỉ số hình ảnh học cổ tử cung.

Về mặt thực tiễn, luận án góp phần đề xuất khả năng ứng dụng theo dõi động học cổ tử cung phối hợp với các dấu ấn sinh học trong sàng lọc sớm nguy cơ sinh non ở thai phụ song thai, từ đó có thể hỗ trợ cho chiến lược dự phòng và theo dõi lâm sàng hiệu quả hơn.

3. BỐ CỤC LUẬN ÁN

Luận án gồm 137 trang: Đặt vấn đề 2 trang, tổng quan tài liệu 28 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 29 trang, kết quả nghiên cứu 34 trang, bàn luận 41 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang. Luận án có 45 bảng, 16 hình, 1 sơ đồ, 18 biểu đồ, 140 tài liệu tham khảo, trong đó có 11 tài liệu tiếng Việt và 129 tài liệu tiếng Anh.

Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. TỔNG QUAN SONG THAI

1.1.1. Định nghĩa

1.1.2. Phân loại

1.1.3. Dịch tễ

1.2. SỰ THAY ĐỔI HÌNH THÁI CỔ TỬ CUNG TRONG THAI KỲ SONG THAI

1.2.1. Thay đổi hình ảnh học cổ tử cung trong thai kỳ

Trong thai kỳ bình thường, cổ tử cung (CTC) duy trì trạng thái đóng kín để giữ thai trong buồng tử cung cho đến khi đủ tháng. Quá trình chuyển dạ và sinh non đều liên quan đến hiện tượng tái cấu trúc CTC với các biểu hiện như mềm, ngắn, xóa và mở cổ tử cung. Những thay

đôi này là kết quả của quá trình biến đổi collagen, chất nền ngoại bào (ECM), tế bào miễn dịch và hàm lượng nước trong mô CTC.

1.2.2. Các phương pháp đánh giá sự thay đổi hình ảnh học cổ tử cung

1.3. CƠ CHẾ SINH NON TỬ DI TRUYỀN ĐẾN BIỂU HIỆN LÂM SÀNG Ở SẢN PHỤ SONG THAI.

1.3.1. Vai trò các biến đổi di truyền trong khởi động cơ chế sinh non.

Các nghiên cứu gần đây cho thấy sinh non là hậu quả của sự tương tác phức tạp giữa các yếu tố di truyền, miễn dịch và viêm. Một số RNA tự do trong huyết tương mẹ như NAMPT, PSME2, Hsa-let-7g và APOA4 đã được ghi nhận có liên quan đến nguy cơ sinh non thông qua điều hòa đáp ứng viêm, miễn dịch và chuyển hóa. Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu hiện nay được thực hiện trên thai đơn, trong khi dữ liệu ở thai phụ song thai còn rất hạn chế.

1.3.1.1. Các tín hiệu di truyền bị kích hoạt dẫn đến tăng sinh cytokine tạo tiền đề cho sinh non.

1.3.1.2. Yếu tố di truyền tham gia quá trình kích hoạt các yếu tố chống viêm.

1.3.1.3. Yếu tố di truyền tham gia ổn định cấu trúc mô liên kết CTC.

1.3.2. Vai trò tăng sinh các cytokine trong khởi phát sinh non.

Các cytokine tiền viêm như IL-1 β , IL-6 và TNF- α tham gia vào quá trình tổng hợp prostaglandin, hoạt hóa metalloproteinase, làm mềm và giãn cổ tử cung, từ đó thúc đẩy chuyển dạ sinh non. Tuy nhiên, kết quả các nghiên cứu trên thai phụ song thai còn chưa thống nhất và phụ thuộc vào thời điểm lấy mẫu cũng như loại bệnh phẩm nghiên cứu.

1.3.3. Nền tảng di truyền và tín hiệu viêm gây biểu hiện những thay đổi cấu trúc CTC.

1.4. CÁC NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ QUỐC TẾ.

1.4.1. Các nghiên cứu về sự thay đổi hình ảnh học cổ tử cung ở sản phụ song thai.

Nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước cho thấy chiều dài cổ tử cung ở sản phụ song thai có xu hướng giảm dần theo tuổi thai, đặc biệt trong quý II. Tuy nhiên, một số nghiên cứu ghi nhận diễn biến không hoàn toàn tuyến tính, có thể tăng nhẹ ở một vài thời điểm rồi mới giảm. Nhìn chung, mối liên quan giữa chiều dài cổ tử cung và tuổi thai ở song thai vẫn chưa thống nhất hoàn toàn, và số nghiên cứu theo dõi dọc còn hạn chế.

Góc cổ tử cung là chỉ số mới được quan tâm trong dự báo sinh non, nhưng các nghiên cứu trên song thai còn rất ít. Một số nghiên cứu ở

thai đơn và song thai cho thấy góc cổ tử cung có xu hướng tăng theo tuổi thai và lớn hơn ở nhóm sinh non.

Hình ảnh lỗ trong cổ tử cung, đặc biệt các dạng funneling như chữ V, U, thường liên quan đến cổ tử cung ngắn và nguy cơ sinh non cao hơn.

1.4.2. Các nghiên cứu về các yếu tố dự báo nguy cơ sinh non.

****Yếu tố di truyền và sinh non***

Các nghiên cứu về RNA tự do huyết tương như PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, Hsa-let-7g cho thấy một số RNA có liên quan đến sinh non và có thể cải thiện giá trị dự báo khi kết hợp với yếu tố lâm sàng. Tuy nhiên, phần lớn nghiên cứu được thực hiện trên thai đơn, còn dữ liệu ở song thai rất ít.

****Hình thái CTC và sinh non***

Chiều dài cổ tử cung là chỉ số được nghiên cứu nhiều nhất và có giá trị dự báo sinh non ở song thai, đặc biệt khi cổ tử cung ngắn. Góc cổ tử cung cũng được xem là một chỉ số tiềm năng, nhưng dữ liệu còn ít. Funneling là dấu hiệu bổ sung có thể gợi ý nguy cơ sinh non, song giá trị tiên lượng đơn độc còn thấp.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu cho mục tiêu.

Nghiên cứu được thực hiện trên những sản phụ song thai được siêu âm đánh giá hình ảnh học CTC (chiều dài CTC, góc CTC, hình ảnh lỗ trong CTC) 2 tuần/lần từ tuần thứ 14 đến hết 24 tuần và lấy máu xét nghiệm mRNA định lượng PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, định lượng các yếu tố tiền viêm: IL-1 β , IL-6, TNF- α vào lúc thai 16 tuần. Sau đó theo dõi đến khi kết thúc thai kỳ từ 09/2023 đến 08/2025.

• Tiêu chuẩn lựa chọn

- Song thai có cả 2 thai đều sống đến kết thúc thai kỳ.
- Có kết quả đánh giá hình ảnh học CTC qua siêu âm đầu dò âm đạo (chiều dài CTC, góc CTC, hình ảnh lỗ trong CTC) mỗi 2 tuần/ lần từ 14 tuần đến 24 tuần tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng.
- Có kết quả xét nghiệm mRNA định lượng PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, Hsa-let-7g và xét nghiệm định lượng các yếu tố tiền viêm: IL-1 β , IL-6, TNF- α tại thời điểm 16 tuần.
- Sản phụ tái khám theo hẹn định kỳ.

- Kết thúc thai kỳ có chuyển dạ hoặc thai đủ tháng.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

• Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân có tiền sử can thiệp CTC (khoét chớp).
- Trong quá trình theo dõi có ít nhất 01 thai chết.
- Trong quá trình theo dõi kết thúc thai kỳ non tháng không có dấu hiệu chuyển dạ vì rau tiền đạo, tiền sản giật, biến chứng song thai 1 bánh rau...
- Tiền sử, đang mắc bệnh lý hoặc đang dùng thuốc có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm tiền viêm như: lupus, viêm khớp dạng thấp, nhiễm khuẩn, thuốc corticosteroid hoặc bệnh nhân đang viêm nhiễm, viêm âm đạo
- Sản phụ bỏ theo dõi trong khoảng thời gian nghiên cứu.

2.1.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu.

- Nghiên cứu được tiến hành tại Khoa Phụ sản Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng từ tháng 09/2023 đến 08/2025.
- Xét nghiệm mRNA tại Công ty cổ phần phân tích di truyền Gene Solutions.

- Xét nghiệm các yếu tố tiền viêm được thực hiện tại Labo trung tâm trường Đại học Y Dược Hải Phòng.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu.

Thiết kế nghiên cứu:

- Nghiên cứu thuần tập.

Cỡ mẫu:

Công thức tính cỡ mẫu để ước lượng hệ số tương quan:

$$n = \left(\frac{Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}}{\frac{1}{2} \log_e \frac{1+r}{1-r}} \right)^2 + 3$$

Trong đó:

r: hệ số tương quan giữa chiều dài CTC và tuổi thai, tham khảo nghiên cứu của Fujita (2002), chọn $r=0,43$ [58].

α : Sai lầm loại I, chọn $\alpha = 0,05$ thì $Z_{1-\alpha/2}=1,96$.

β : Sai lầm loại II, chọn $\beta=0,2$, tương đương lực thống kê là 80%, khi đó $Z_{1-\beta}=0,842$.

Thay vào công thức tính được $n=41$. Để làm tăng giá trị nghiên cứu, lấy hệ số thiết kế mẫu bằng 2, như vậy cỡ mẫu tối thiểu cho nghiên cứu là 82. Trên thực tế chúng tôi thu thập được 93 sản phụ thỏa mãn tiêu chuẩn nghiên cứu.

Phương pháp chọn mẫu: Lấy mẫu thuận tiện không xác suất thỏa mãn tiêu chuẩn nghiên cứu đủ số lượng nghiên cứu.

2.2.2. Các bước tiến hành nghiên cứu.

2.2.2.1. Các bước nghiên cứu

Bước 1: Sàng lọc thai phụ song thai 14 tuần, loại trừ tiêu chuẩn loại trừ và ký đồng thuận tham gia.

Thực hiện siêu âm đầu dò âm đạo ở mặt cắt dọc giữa cổ tử cung.

- Đo chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung theo khuyến cáo ISUOG; mỗi trường hợp 3 lần đo trong vòng 2–3 phút, chọn giá trị ngắn nhất nếu có thay đổi do cơn co tử cung.

- Đánh giá hình ảnh lỗ trong cổ tử cung, phân loại thành các dạng I, Y, V hoặc U.

Bước 2: Theo dõi dọc từ 14 đến 24 tuần, mỗi 2 tuần/lần, kết hợp đánh giá triệu chứng, nguy cơ, bệnh lý kèm theo và kết cục thai kỳ.

Bước 3: Sàng lọc thai phụ song thai từ 16 tuần, ký đồng thuận và thu mẫu máu.

- Phân tích mRNA tại labo Gene Solutions bằng kỹ thuật Droplet Digital PCR để định lượng các gen: PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, Hsa-let-7g.

- Phân tích cytokine tiền viêm tại labo Trường Đại học Y Dược Hải Phòng bằng kỹ thuật ELISA Sandwich để định lượng IL-1 β , IL-6, TNF- α .

Bước 4: Xử trí các trường hợp nguy cơ sinh non theo hướng dẫn hiện hành, bao gồm nghỉ ngơi, progesterone đặt âm đạo, cân nhắc khâu vòng cổ tử cung và nhập viện khi cần.

Bước 5: Kết thúc theo dõi khi thai phụ sinh hoặc đến đủ tháng, sau đó tổng hợp và phân tích số liệu.

2.2.3. Phương tiện nghiên cứu

- Phiếu nghiên cứu được thiết kế sẵn để thu thập thông tin.

- Máy siêu âm Voluson S8 XG, đầu dò convex 7–9 MHz, sử dụng để đánh giá hình ảnh học cổ tử cung.

- Hệ thống Droplet Digital PCR (QX AutoDG Droplet Generator và QX 600 Droplet Reader) dùng để định lượng các mRNA: PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4 và Hsa-let-7g.

- Hệ thống xét nghiệm ELISA dùng để định lượng các cytokine tiền viêm: IL-1 β , IL-6 và TNF- α .

- Monitoring sản khoa được sử dụng để phát hiện và đánh giá cơn co tử cung trong chẩn đoán dọa sinh non.

- Các phương tiện dự phòng sinh non bao gồm progesterone đặt âm đạo và khâu vòng cổ tử cung.

2.3. ĐẠO ĐỨC NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được Hội đồng đạo đức thông qua trong nghiên cứu Y sinh học của Trường Đại học Y Dược Huế với QĐ số H2023/461 và được sự đồng ý của hội đồng khoa học Bệnh viện Trường Đại học Y Hải Phòng số 192/QĐ-BVHP và hội đồng khoa học Trường Đại học Y Dược Hải Phòng với QĐ 314/QĐ-YDHP.

Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu này thu được từ mẫu gồm 93 sản phụ mang song thai thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn, được theo dõi dọc định kỳ từ tuần 14 đến hết tuần 24 tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Nghiên cứu tập trung phân tích sự thay đổi động học của các chỉ số hình ảnh học cổ tử cung qua siêu âm đầu dò âm đạo, bao gồm chiều dài CTC, góc CTC và hình ảnh lỗ trong CTC. Đồng thời, các yếu tố dự báo sinh học mức độ phân tử như nồng độ các RNA (PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, Hsa-let-7g) và các cytokine tiền viêm (IL-1 β , IL-6, TNF- α) cũng được khảo sát tại mốc 16 tuần phân tích liên quan với thay đổi hình thái và khả năng tiên lượng sinh non.

3.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.

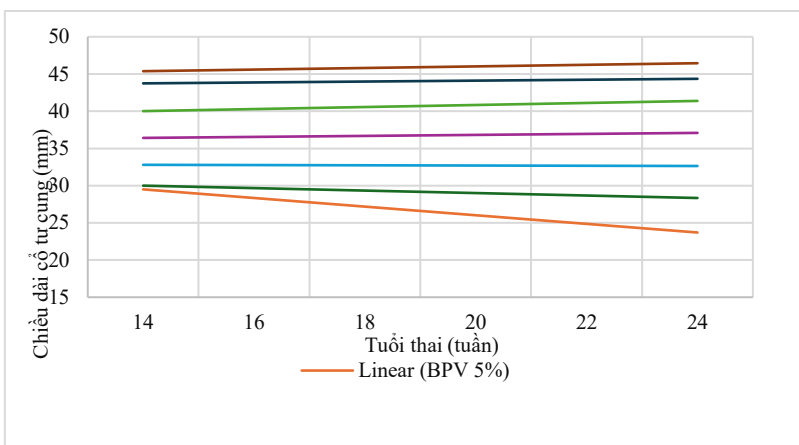
3.2. THAY ĐỔI HÌNH THÁI CỔ TỬ CUNG VÀ MÔI LIÊN QUAN VỚI CÁC YẾU TỐ GENOMICS, TIỀN VIÊM Ở THAI PHỤ SONG THAI

3.2.1. Đặc điểm chiều dài CTC của đối tượng nghiên cứu.

Chiều dài cổ tử cung trung bình trong khoảng 14–24 tuần thai tương đối ổn định, dao động từ 36,1 đến 37,2 mm, không có xu hướng giảm rõ rệt theo tuổi thai. Tuy nhiên, giá trị nhỏ nhất giảm dần theo tuổi thai, đặc biệt từ sau 20 tuần.

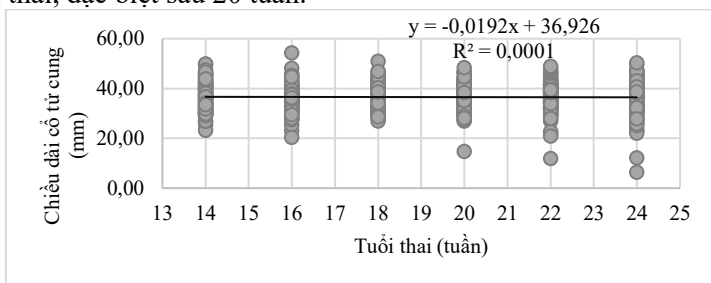
Bảng 3.4. Đặc điểm phân bố chiều dài cổ tử cung theo phân vị 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95 tại các thời điểm đo (n=93).

Tuổi thai	Phân bố chiều dài CTC theo phân vị						
	5%	10%	25%	50%	75%	90%	95%
14 tuần	28,5	29,9	32,1	36,6	41,1	45,2	46,3
16 tuần	27,6	28,3	32,7	36	39,6	42,9	44,9
18 tuần	29,2	30,6	34,1	37,5	40,2	43,5	45,7
20 tuần	28,1	29,7	32,5	36,2	39,9	43,3	45,2
22 tuần	22,6	29,4	32,7	37	41,4	43,9	46,4
24 tuần	23,6	27,1	32,2	37,2	42	45,5	47
Trung bình (558 lượt siêu âm)	27,5	29,5	32,8	36,9	40,5	44	46



Biểu đồ 3.2. Biểu đồ bách phân vị của số đo chiều dài cổ tử cung theo tuổi thai.

Phân bố chiều dài cổ tử cung theo các phân vị tại các thời điểm đo cho thấy trung vị dao động quanh 36–37 mm và tương đối ổn định từ 14 đến 24 tuần thai. Các phân vị thấp có xu hướng giảm dần theo tuổi thai, đặc biệt sau 20 tuần.



Biểu đồ 3.3. Mối tương quan giữa số đo chiều dài cổ tử cung theo tuổi thai.

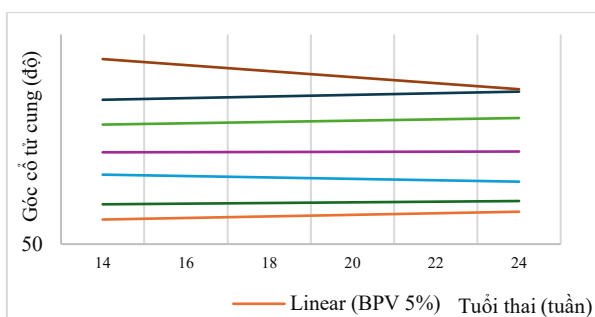
Tuổi thai và số đo chiều dài CTC có mối tương quan nghịch rất thấp ($r^2 = 0,0001$).

3.2.2. Đặc điểm góc cổ tử cung của đối tượng nghiên cứu.

Góc cổ tử cung trung bình dao động quanh 96–103° trong khoảng 14–24 tuần thai, không có xu hướng tăng hoặc giảm rõ rệt theo tuổi thai. Tuy nhiên, biên độ dao động rất rộng ở tất cả các thời điểm đo.

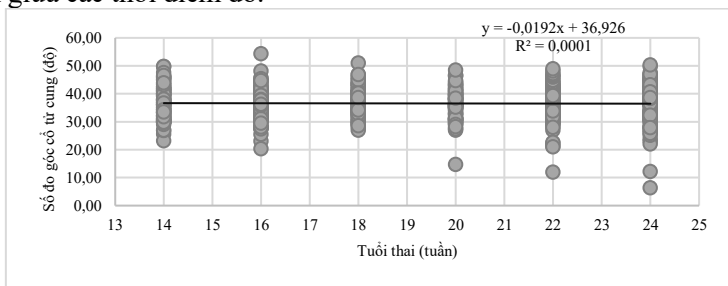
Bảng 3.8. Đặc điểm phân bố số đo góc cổ tử cung theo phân vị 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95 tại các thời điểm đo (n=93).

Tuổi thai	Phân bố góc CTC theo phân vị						
	5%	10%	25%	50%	75%	90%	95%
14 tuần	56,4	65,8	81	93,2	108,9	128,5	153,9
16 tuần	65,5	71,1	84,2	100,3	116,7	123,1	143,4
18 tuần	70,7	78,2	91,3	102,5	116,4	125,4	131,7
20 tuần	68,5	74,9	90,6	100,2	115,2	131,8	136,9
22 tuần	66,5	72,2	85,0	99,0	113,3	128,3	131,1
24 tuần	62,0	68,2	75,5	95,0	116	130,1	138,1
Tổng chung (558 lượt siêu âm)	65,4	71,2	85,4	97,6	114,4	127,4	138,4



Biểu đồ 3.5. Biểu đồ bách phân vị của số đo góc cổ tử cung theo tuổi thai lúc siêu âm.

Ở các phân vị thấp (5–10%), góc cổ tử cung có xu hướng tăng nhẹ từ 14 đến 18 tuần, sau đó giảm dần về 24 tuần, trong khi ở các phân vị cao (90–95%), giá trị góc luôn duy trì ở mức cao ($>125^\circ$) và dao động lớn giữa các thời điểm đo.



Biểu đồ 3.6. Mối tương quan giữa số đo góc cổ tử cung theo tuổi thai.

Tuổi thai và số đo góc CTC không có mối tương quan có ý nghĩa ($r^2 = 0,0001$).

3.2.3. Phân bố hình thái lỗ trong cổ tử cung theo tuần tuổi thai.

Bảng 3.10. Phân bố hình thái lỗ trong cổ tử cung theo tuần tuổi thai.

Tuổi thai	Hình chữ I (Số lượng,)	Hình chữ Y (Số lượng,)	Hình chữ V (Số lượng,)	Tổng
14 tuần	91 (97,8)	-	2 (2,2)	93 (100)
16 tuần	88 (94,6)	5 (5,4)	-	93 (100)
18 tuần	92 (98,9)	1 (1,1)	-	93 (100)
20 tuần	91 (97,8)	2 (2,2)	-	93 (100)
22 tuần	88 (94,6)	5 (5,4)	-	93 (100)
24 tuần	84 (90,3)	9 (9,7)	-	93 (100)

Hình ảnh lỗ trong CTC đa số không có sự biến đổi từ tuần 14 đến 20. Sự biến đổi hình ảnh lỗ trong CTC bắt đầu tăng từ 22 tuần.

3.2.4. Liên quan mRNA, tiền viêm với hình thái cổ tử cung.

Bảng 3.12. Mối tương quan giữa nồng độ gen, yếu tố tiền viêm và chiều dài cổ tử cung theo các thời điểm đo.

Tuần	Nồng độ Hsa-let- 7g r (p)	Nồng độ NAMPT r (p)	Nồng độ APOA1 r (p)	Nồng độ APOA4 r (p)	Nồng độ PSME2 r (p)	Nồng độ IL-1 β r (p)	Nồng độ IL-6 r (p)	Nồng độ TNF- α r (p)
14	-0,238 (0,022)	-0,143 (0,173)	0,218 (0,485)	0,218 (0,036)	-0,164 (0,117)	0,042 (0,686)	0,048 (0,650)	-0,092 (0,380)
16	-0,125 (0,233)	-0,169 (0,105)	-0,043 (0,683)	0,202 (0,052)	-0,122 (0,243)	0,076 (0,468)	-0,037 (0,722)	-0,051 (0,626)
18	0,003 (0,980)	-0,081 (0,441)	-0,091 (0,385)	0,138 (0,186)	-0,034 (0,747)	0,020 (0,848)	-0,083 (0,429)	-0,071 (0,497)
20	0,031 (0,765)	-0,053 (0,614)	-0,156 (0,134)	0,071 (0,501)	0,106 (0,313)	0,011 (0,919)	-0,059 (0,573)	0,027 (0,800)
22	-0,081 (0,440)	0,012 (0,908)	-0,064 (0,540)	-0,059 (0,577)	-0,049 (0,639)	0,049 (0,639)	-0,004 (0,971)	0,139 (0,182)
24	-0,204 (0,050)	-0,053 (0,614)	0,0029 (0,779)	0,097 (0,354)	-0,200 (0,055)	-0,052 (0,624)	0,019 (0,857)	0,094 (0,371)
Chung	-0,104 (0,014)	-0,069 (0,106)	-0,045 (0,291)	0,115 (0,007)	-0,084 (0,047)	0,020 (0,644)	-0,009 (0,840)	0,005 (0,907)

Có mối tương quan nghịch thấp giữa nồng độ gen Hsa-let-7g và tương quan thuận thấp giữa nồng độ APOA4 với chiều dài CTC vào thời điểm đo tuần 14. Không thấy có mối tương quan có ý nghĩa thống kê của chiều dài CTC với nồng độ các gen còn lại và nồng độ IL-1 β , IL-6, TNF- α vào các thời điểm đo khác.

Bảng 3.14. Mô hình tuyến tính hỗn hợp về mối liên quan giữa nồng độ gen và yếu tố tiền viêm đến sự thay đổi chiều dài cổ tử cung theo thời gian.

Marker	Biến	Mô hình đơn biến		Mô hình đa biến	
		β (95% CI)	p	β (95% CI)	p
Hsa-let-7g	Hsa-let-7g	-0,73 (-2,11–0,65)	0,301	-0,57 (-1,89–0,74)	0,392
	Hsa-let-7g x Thời gian	0,06 (-0,33–0,44)	0,773	0,05 (-0,31–0,41)	0,796
NAMPT	NAMPT	-0,48 (-0,78–0,18)	0,002	-0,56 (-0,83–0,28)	<0,001
	NAMPT x Thời gian	0,10 (0,02–0,19)	0,019	0,10 (0,03–0,18)	0,010
APOA1	APOA1	0,03 (-0,02–0,07)	0,279	0,02 (-0,03–0,06)	0,395
	APOA1 x Thời gian	-0,00 (-0,01–0,01)	0,894	-0,00 (-0,01–0,01)	0,887
APOA4	APOA4	-0,03 (-0,07–0,01)	0,107	-0,02 (-0,05–0,02)	0,307
	APOA4 x Thời gian	0,01 (-0,00–0,02)	0,242	0,01 (-0,00–0,02)	0,214
PSME2	PSME2	-0,00 (-0,01–0,00)	0,107	-0,00 (-0,01–0,00)	0,091
	PSME2 x Thời gian	-0,00 (-0,00–0,00)	0,107	0,00 (-0,00–0,00)	0,077
IL-1 β	IL-1 β	0,01 (-0,01–0,03)	0,457	0,01 (-0,01–0,02)	0,612
	IL-1 β x Thời gian	-0,00 (-0,01–0,00)	0,693	-0,00 (-0,01–0,00)	0,662
IL-6	IL-6	-0,01 (-0,07–0,05)	0,771	-0,03 (-0,09–0,03)	0,286
	IL-6 x Thời gian	-0,00 (-0,02–0,02)	0,969	-0,00 (-0,02–0,02)	0,969
TNF- α	TNF- α	-0,16 (-0,28–0,04)	0,009	-0,16 (-0,27–0,05)	0,006
	TNF- α x Thời gian	0,05 (0,01–0,08)	0,005	0,05 (0,02–0,08)	0,002

*Tương tác

Nồng độ gen NAMPT có liên quan nghịch với sự thay đổi số đo chiều dài CTC cả trong mô hình đơn biến và đa biến.

Nồng độ TNF- α có mối liên quan nghịch chiều sự thay đổi số đo chiều dài CTC, với β (95% CI) cho mô hình đơn biến và sau khi hiệu chỉnh lần lượt là -0,16 (-0,28 đến -0,04) và -0,16 (-0,27 đến -0,05). Sự

tương tác giữa TNF- α và thời gian có ý nghĩa thống kê với β (95% CI) cho cả 2 mô hình lần lượt là 0,05 (0,01-0,08) và 0,05 (0,02-0,08).

Chưa tìm thấy mối liên quan giữa các yếu tố gen và tiền viêm với sự thay đổi số đo góc CTC.

3.3. KHẢ NĂNG DỰ BÁO SINH NON CỦA HÌNH THÁI CỔ TỬ CUNG, GENOMICS VÀ YẾU TỐ TIỀN VIÊM Ở THAI PHỤ SONG THAI.

3.3.1. Đặc điểm sản phụ theo kết cục sinh non trước 34 tuần.

3.3.2. Yếu tố dự báo sinh non trước 34 tuần của chiều dài và góc cổ tử cung.

Chiều dài cổ tử cung

Bắt đầu từ mốc đo tuần 18, chiều dài CTC của nhóm sinh non trước 34 tuần ngắn hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không sinh non trước 34 tuần ($p < 0,05$).

Bảng 3.18. Kết quả mô hình hỗn hợp tuyến tính về sự thay đổi chiều dài cổ tử cung với sinh non trước 34 tuần.

Nguồn biến	Giá trị F	p*
Hệ số chặn	3249,1	<0,001
Sinh non (Có/Không)	17,7	<0,001
Thời điểm đo	3,3	0,008
Tương tác Sinh non và thời điểm đo	4,7	0,001

* Linear mixed model.

Chiều dài CTC ở các thời điểm đo khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($F=3,3$, $p < 0,05$). Có sự khác biệt đáng kể về chiều dài CTC giữa nhóm sinh non và không sinh non ($F=17,7$, $p < 0,001$). Có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa sinh non trước 34 tuần và thời điểm đo đối với chiều dài CTC ($F=4,70$, $p=0,001$).

Góc cổ tử cung

Không có sự khác biệt về số đo góc CTC giữa hai nhóm sinh non trước 34 tuần và không sinh non trước 34 tuần ở các thời điểm đo trước tuần 22. Từ tuần 22, góc CTC của nhóm sinh non trước 34 tuần lớn hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không sinh non trước 34 tuần ($p < 0,05$). Sự khác biệt ở tuần 24 lớn hơn so với tuần 22.

Bảng 3.20. Kết quả mô hình hỗn hợp tuyến tính về sự thay đổi góc cổ tử cung và sinh non trước 34 tuần.

Nguồn biến	Giá trị F	p*
Hệ số chặn	2106,0	<0,001
Sinh non (Có/Không)	0,6	0,431
Thời điểm đo	2,4	0,037
Tương tác Sinh non và thời điểm đo	5,3	<0,001

* Linear mixed model.

Góc CTC ở các thời điểm đo khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($F=2,4$, $p<0,05$). Không có sự khác biệt về số đo góc CTC giữa nhóm sinh non và không sinh non trước 34 tuần ($F=0,6$, $p>0,05$). Có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa sinh non trước 34 tuần và thời điểm đo đối với góc CTC ($F=5,3$, $p<0,001$).

Mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ với kết cục sinh non trước 34 tuần tại từng thời điểm đo.

Mô hình hồi quy logistic nhị phân đa biến, hiệu chỉnh bởi biến tuổi. Từ tuần 18 có mối liên quan nghịch giữa chiều dài CTC và sinh non trước 34 tuần, với OR (95%CI) tại các thời điểm tuần 18, 20, 22, 24 lần lượt là 0,826 (0,696-0,980), 0,798 (0,677-0,940), 0,816 (0,717-0,930), và 0,904 (0,820-0,997).

Bảng 3.22. Mô hình GEE về sự thay đổi của chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và tuổi với sinh non trước 34 tuần.

Biến	Beta (95% Wald CI)	OR (95%CI)	p
Chiều dài CTC	-0,127(-0,204- (-0,050))	0,881 (0,816-0,951)	0,001
Góc CTC	0,003 (-0,010-0,016)	1,003 (0,990-1,016)	0,656

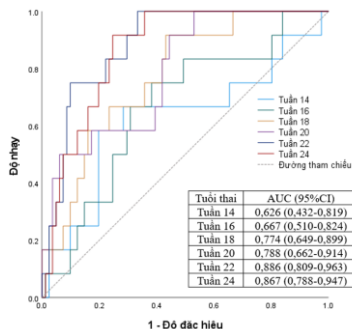
*** Mô hình được hiệu chỉnh bởi tuổi.**

Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa chiều dài CTC và sinh non trước 34 tuần. Mỗi đơn vị tăng của chiều dài CTC liên quan đến giảm khoảng 11,9% odds sinh non ở mức trung bình quần thể (OR = 0,881; 95% CI: 0,816-0,951).

3.3.3. Yếu tố dự báo sinh non trước 34 tuần của mRNA, tiền viêm và hình thái cổ tử cung.

Sự khác biệt về nồng độ tiền viêm và gen theo kết cục sinh non trước 34 tuần.

Không có sự khác biệt về nồng độ yếu tố tiền viêm và nồng độ gen giữa thai phụ sinh non trước 34 tuần và nhóm không sinh non trước 34 tuần.



Biểu đồ 3.8. Giá trị tiên lượng sinh non kết hợp chiều dài cổ tử cung và góc cổ tử cung tại mỗi thời điểm đo.

Từ tuần 22, sự kết hợp giữa chiều dài CTC và góc CTC có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC cho tuần 22 và 24 lần lượt là 0,886 (95%CI: 0,809-0,963) và 0,867 (95%CI: 0,788-0,947).

Sự kết hợp giữa chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và gen Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, APOA4, PSME2 trong tiên lượng sinh non 34 tuần.

Từ tuần 22, sự kết hợp giữa chiều dài CTC, góc CTC và gen Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, APOA4, PSME2 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC cho tuần 22 và 24 lần lượt là 0,892 (95%CI: 0,812-0,972) và 0,890 (95%CI: 0,822-0,958). Gen NAMPT có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC cho tuần 22 và 24 lần lượt là 0,909 (95%CI: 0,850-0,969) và 0,878 (95%CI: 0,802-0,953). Gen APOA1 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC cho tuần 22 và 24 lần lượt là 0,884 (95%CI: 0,805-0,969) và 0,867(95%CI: 0,788-0,947).

Gen APOA4 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC cho tuần 22 và 24 lần lượt là 0,883 (95%CI: 0,797-0,969) và 0,858 (95%CI: 0,772-0,944). Gen PSME2, từ tuần 20 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC lần lượt của tuần 20, 22 và 24 là 0,803 (95%CI: 0,687-0,920); 0,887 (95%CI: 0,810-0,964) và 0,870 (95%CI: 0,794-0,947).

3.3.4. Đặc điểm của sản phụ theo kết cục sinh non trước 37 tuần.

3.3.5. Yếu tố dự báo sinh non trước 37 tuần của chiều dài và góc cổ tử cung.

Chiều dài cổ tử cung

Từ tuần 16, chiều dài CTC của nhóm sinh non trước 37 tuần ngắn hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không sinh non trước 37 tuần ($p < 0,05$). Sự khác biệt có xu hướng tăng mạnh hơn ở các mốc đo cuối.

Bảng 3.26. Kết quả mô hình hỗn hợp tuyến tính về sự thay đổi chiều dài cổ tử cung trong sinh non trước 37 tuần theo 6 thời điểm.

Nguồn biến	Giá trị F	p*
Hệ số chặn	7578,1	<0,001
Sinh non (Có/Không)	15,6	<0,001
Thời điểm đo	1,2	0,336
Tương tác Sinh non và thời điểm đo	3,2	0,009

* Linear mixed model.

Có sự khác biệt đáng kể về chiều dài CTC giữa nhóm sinh non và không sinh non ($F=15,6$, $p<0,001$). Có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa sinh non trước 37 tuần và thời điểm đo đối với chiều dài CTC ($F = 3,2$, $p<0,05$).

Góc cổ tử cung

Từ tuần 20, góc CTC của nhóm sinh non trước 37 tuần lớn hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không sinh non trước 37 tuần ($p < 0,05$). Sự khác biệt có xu hướng tăng mạnh hơn ở các mốc đo cuối.

Bảng 3.28. Kết quả mô hình hỗn hợp tuyến tính về sự thay đổi góc cổ tử cung trong sinh non trước 37 tuần theo 6 thời điểm.

Nguồn biến	Giá trị F	p*
Hệ số chặn	4794,2	<0,001
Sinh non 37 tuần (Có/Không)	4,3	0,042
Thời điểm đo	1,6	0,169
Tương tác Sinh non và thời điểm đo	6,2	<0,001

* Linear mixed model.

Có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa sinh non trước 37 tuần và thời điểm đo đối với góc CTC ($F = 6,2$, $p<0,001$).

Mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ với kết cục sinh non trước 37 tuần tại từng thời điểm đo.

Mô hình hồi quy logistic nhị phân đa biến, hiệu chỉnh bởi biến loại song thai, kiểu thai lần này, điều trị dự phòng sinh non, PSME2. Từ tuần 20 có mối liên quan nghịch giữa chiều dài CTC và sinh non trước 37 tuần, với OR (95%CI) tại các thời điểm tuần 20, 22, 24 lần lượt là 0,882 (0,793-0,980), 0,891 (0,813-0,977), và 0,910 (0,830-0,998). Tại thời điểm tuần 22 và 24 cũng cho thấy góc CTC có liên quan đến sinh non trước 37 tuần, với OR (95%CI) lần lượt là: 1,039 (1,011-1,069), và 1,044 (1,018-1,072).

Bảng 3.30. Mô hình GEE về sự thay đổi của chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung với sinh non trước 37 tuần.

Biến	Beta (95% Wald CI)	OR (95%CI)	p
Chiều dài CTC	-0,080 (-0,133- (-0,027))	0,923 (0,875-0,973)	0,003
Góc CTC	0,014 (0,003-0,026)	1,014 (1,003-1,026)	0,012

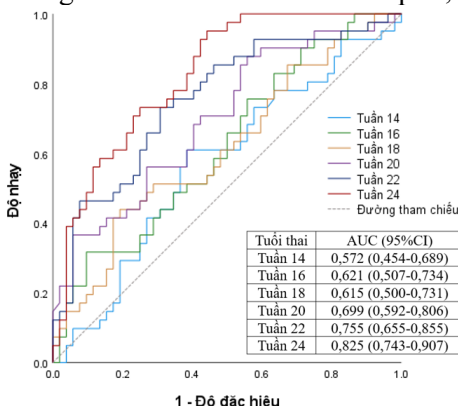
* Mô hình được hiệu chỉnh bởi loại song thai, kiểu thai lần này, điều trị dự phòng sinh non, PSME2.

Mỗi đơn vị tăng của chiều dài CTC liên quan đến giảm khoảng 7,7% odds sinh non ở mức trung bình quần thể (OR=0,923; 95% CI: 0,875-0,973). Trong khi đó, mỗi đơn vị tăng của góc CTC liên quan đến tăng khoảng 1,4% odds sinh non ở mức trung bình quần thể (OR=1,014; 95% CI: 1,003-1,026).

3.3.6. Yếu tố dự báo sinh non trước 37 tuần của mRNA, tiền viêm và hình thái cổ tử cung.

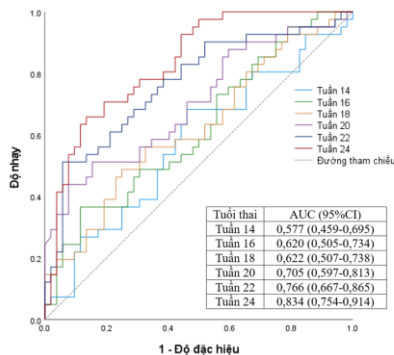
Phân bố nồng độ tiền viêm và gen của sản phụ theo kết cục sinh non trước 37 tuần.

Không có sự khác biệt về nồng độ các yếu tố tiền viêm theo kết cục thai kỳ. Có sự khác biệt nồng độ PSME2 giữa nhóm sinh non trước 37 tuần và nhóm không sinh non trước 37 tuần với $p < 0,05$.



Biểu đồ 3.14. Giá trị tiên lượng sinh non kết hợp chiều dài cổ tử cung và góc cổ tử cung tại mỗi thời điểm đo.

Tại tuần 24, sự kết hợp giữa chiều dài CTC và góc CTC có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC= 0,825 (95%CI: 0,743-0,907).



Biểu đồ 3.19. Giá trị tiên lượng sinh non kết hợp chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và gen PSME2 tại mỗi thời điểm đo.

Khi có sự phối hợp giữa chiều dài CTC, góc CTC và gen PSME2, tại tuần 24 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC= 0,834 (95%CI: 0,754-0,914).

Sự kết hợp giữa chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và gen Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, APOA4 trong tiên lượng sinh non 37 tuần

Khi có sự phối hợp giữa chiều dài CTC, góc CTC và gen Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, APOA4 tại tuần 24 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC= 0,827 (95%CI: 0,746-0,909). Gen NAMPT, tại tuần 24 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC= 0,827 (95%CI: 0,745-0,909). Gen APOA1, tại tuần 24 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC= 0,825 (95%CI: 0,742-0,907). Gen APOA4, tại tuần 24 có giá trị tiên lượng sinh non tốt với AUC= 0,823 (95%CI: 0,739-0,907).

Chương 4 BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

4.2. THAY ĐỔI HÌNH THÁI HỌC CỔ TỬ CUNG VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI CÁC YẾU TỐ GENOMICS, TIỀN VIÊM.

4.2.1. Sự thay đổi hình thái học cổ tử cung

4.2.1.1. Sự thay đổi chiều dài và góc CTC trên siêu âm quý II ở sản phụ song thai.

Thay đổi về chiều dài CTC

Biểu đồ bách phân vị cho thấy chiều dài CTC tương đối ổn định trong giai đoạn 14–24 tuần, nhưng các bách phân vị thấp có xu hướng

giảm dần theo tuổi thai, phản ánh sự tồn tại của một nhóm nhỏ CTC rút ngắn sớm. Mối tương quan tuyến tính giữa chiều dài CTC và tuổi thai rất yếu và không có ý nghĩa thống kê, cho thấy chiều dài CTC không thay đổi đồng đều giữa các cá thể. Vì vậy, việc theo dõi dọc và xây dựng bách phân vị có giá trị hơn so với chỉ dùng một giá trị trung bình đơn lẻ để nhận diện nhóm nguy cơ cao.

Khi phân tích lặp lại nhiều thời điểm, chiều dài CTC có dao động nhẹ tăng hoặc giảm giữa các mốc thai kỳ, nhưng không có ý nghĩa thống kê. Các biến động này chủ yếu là dao động sinh lý hoặc sai số đo, không phản ánh sự thay đổi cấu trúc thực sự của CTC. Điều này cũng cố nhận định rằng trong quý II, đặc biệt từ 14–24 tuần, chiều dài CTC ở song thai nhìn chung ổn định và chưa có xu hướng rút ngắn rõ rệt.

4.2.1.2. Thay đổi góc cổ tử cung

Biểu đồ bách phân vị cho thấy góc CTC ở phần lớn quần thể tương đối ổn định, nhưng các bách phân vị cao vẫn duy trì ở mức lớn, phản ánh một nhóm nhỏ có góc mở rộng sớm. So với y văn, kết quả này phù hợp với các nghiên cứu cho thấy góc CTC có giá trị dự báo sinh non, đặc biệt khi kết hợp với chiều dài CTC. Nghiên cứu của chúng tôi bổ sung dữ liệu tham chiếu đầu tiên cho quần thể song thai Việt Nam.

Phân tích theo từng cặp thời điểm cho thấy góc CTC có dao động tăng giảm nhẹ nhưng không có xu hướng thay đổi tuyến tính rõ rệt trong giai đoạn 14–24 tuần. Kết quả này khác với một số nghiên cứu trên thai đơn ghi nhận góc CTC tăng dần theo tuổi thai. Ở song thai, dữ liệu về theo dõi dọc góc CTC còn rất ít, vì vậy nghiên cứu này đã góp phần bổ sung khoảng trống quan trọng về động học góc CTC trong quý II.

4.2.1.3. Thay đổi hình ảnh lỗ trong cổ tử cung

Hình thái lỗ trong CTC ở sản phụ song thai trong giai đoạn 14–24 tuần chủ yếu là dạng chữ I, trong khi các dạng chữ Y và chữ V chỉ chiếm tỷ lệ rất thấp. Kết quả này cho thấy phần lớn sản phụ song thai trong quý II chưa xuất hiện hiện tượng mở lỗ trong cổ tử cung (funneling), phù hợp với đặc điểm sinh lý của giai đoạn giữa thai kỳ khi cấu trúc collagen của CTC vẫn được duy trì và áp lực cơ học từ buồng tử cung chưa đủ lớn để gây biến dạng đáng kể. Tuy nhiên, các dạng chữ Y và chữ V được xem là dấu hiệu hình thái học sớm của quá trình mở CTC và có liên quan đến nguy cơ sinh non. Trong nghiên cứu, chúng tôi ghi nhận hai trường hợp xuất hiện hình chữ V từ tuần thai thứ 14, đều kèm theo chiều dài CTC ngắn dưới 25 mm và góc CTC mở rộng. Hai trường hợp này được chỉ định khâu vòng CTC cấp cứu và đều kéo dài thai kỳ thành

công đến ít nhất 30 tuần mà không ghi nhận biến chứng đáng kể. Mặc dù tỷ lệ funneling trong nghiên cứu thấp, đây vẫn là dấu hiệu cảnh báo quan trọng cần được theo dõi chặt chẽ. Do đó, việc đánh giá đồng thời chiều dài CTC, góc CTC và hình thái lỗ trong CTC có ý nghĩa hơn so với chỉ sử dụng chiều dài CTC đơn thuần trong dự báo nguy cơ sinh non. Nghiên cứu của chúng tôi cũng là một trong những nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam theo dõi dọc sự thay đổi hình thái lỗ trong CTC ở song thai, góp phần cung cấp thêm dữ liệu về vai trò của siêu âm CTC trong tiên lượng sinh non và định hướng điều trị cá thể hóa.

4.2.2. Môi liên quan của các mRNA, cytokine tiền viêm với sự thay đổi hình ảnh học cổ tử cung.

Các mRNA trong nghiên cứu có phân bố không đồng đều hơn so với các cytokine, phản ánh đặc điểm thường gặp của cfRNA trong huyết tương. Khi phân tích mối liên quan với hình ảnh học cổ tử cung, các tương quan giữa mRNA, cytokine và chiều dài CTC nhìn chung rất yếu. Hsa-let-7g và PSME2 có xu hướng tương quan nghịch nhẹ với chiều dài CTC, APOA4 có tương quan thuận rất thấp, trong khi IL-1 β , IL-6 và TNF- α không cho thấy mối liên quan rõ ràng. Điều này cho thấy ở thời điểm đo đơn lẻ, các dấu ấn phân tử chưa phản ánh đầy đủ biến đổi hình thái cổ tử cung ở song thai.

Khi phân tích mô hình tuyến tính hỗn hợp, NAMPT và TNF- α cho thấy mối liên quan rõ hơn với sự thay đổi chiều dài CTC theo thời gian, trong đó TNF- α vừa liên quan nghịch với chiều dài CTC vừa có tương tác theo thời gian. Ngược lại, các marker còn lại chưa chứng minh được mối liên quan ổn định. Kết quả này gợi ý NAMPT và TNF- α có thể phản ánh tốt hơn quá trình tái cấu trúc cổ tử cung, nhưng tác động của các marker khác còn yếu hoặc bị che lấp khi đo tại một thời điểm.

Đối với góc CTC, các tương quan với mRNA và cytokine cũng rất yếu và không nhất quán. Chỉ một vài tín hiệu đơn lẻ như APOA4 ở tuần 14 và PSME2 ở tuần 20–22 có ý nghĩa, còn IL-1 β , IL-6 và TNF- α không cho thấy liên quan rõ. Nhìn chung, góc CTC là chỉ số hình thái chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố cơ học hơn là một marker đơn lẻ, do đó các biomarker riêng lẻ khó thể hiện rõ mối liên quan trực tiếp.

4.3. KHẢ NĂNG DỰ BÁO NGUY CƠ SINH NON CỦA HÌNH THÁI CỔ TỬ CUNG VÀ CÁC YẾU TỐ GENOMICS

4.3.1. Các yếu tố liên quan đến sinh non

4.3.1.1. Yếu tố di truyền và sinh non

Kết quả nghiên cứu cho thấy PSME2 là RNA duy nhất có xu hướng tăng ở nhóm sinh non trước 37 tuần so với nhóm sinh đủ tháng, trong khi các RNA khác như Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1 và APOA4 chưa

ghi nhận khác biệt có ý nghĩa. Tuy nhiên, khi xét ngưỡng sinh non trước 34 tuần, sự khác biệt của PSME2 không còn đạt ý nghĩa thống kê, cho thấy các RNA này có thể phản ánh tốt hơn nhóm sinh non muộn hơn là sinh non rất sớm. Điều này cũng phù hợp với tính không đồng nhất về cơ chế bệnh sinh của sinh non, trong đó sinh non muộn thường liên quan nhiều hơn đến các yếu tố cơ học và sinh lý, còn sinh non sớm gắn với viêm và rối loạn chức năng nhau thai rõ hơn.

So sánh với y văn cho thấy kết quả của nghiên cứu phù hợp một phần với các công bố trước đó, khi PSME2 và một số RNA liên quan được ghi nhận có giá trị dự báo sinh non trong các quần thể khác. Tuy nhiên, hiệu quả của các dấu ấn RNA này không hoàn toàn đồng nhất giữa các nghiên cứu, có thể do khác biệt về thời điểm lấy mẫu, quần thể nghiên cứu và kỹ thuật định lượng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tại thời điểm 16 tuần ở thai đôi, các RNA tự do này chưa thể hiện rõ giá trị dự báo sinh non đơn độc, do đó nhiều khả năng cần được đánh giá trong mô hình đa yếu tố kết hợp với các chỉ số hình thái cổ tử cung và yếu tố lâm sàng.

Về mặt lâm sàng, PSME2 là dấu ấn tiềm năng nhưng giá trị đơn độc còn hạn chế. Nghiên cứu này cũng cho thấy cần các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn, thiết kế tiền cứu và phối hợp đa omics để làm rõ hơn vai trò của các RNA tự do trong dự báo sinh non ở thai phụ song thai.

4.3.1.3. Chiều dài cổ tử cung và sinh non

Kết quả nghiên cứu cho thấy chiều dài CTC có giá trị dự báo sinh non rõ hơn khi được theo dõi dọc theo thời gian. Ở ngưỡng sinh non trước 34 tuần, chiều dài CTC chưa khác biệt có ý nghĩa ở các mốc 14 và 16 tuần, nhưng từ tuần 18 trở đi nhóm sinh non có CTC ngắn hơn rõ rệt và chênh lệch tăng dần ở các mốc sau. Điều này gợi ý sinh non rất sớm thường liên quan đến quá trình rút ngắn CTC muộn hơn nhưng nhanh và rõ hơn trong nửa sau quý II. Ngược lại, với sinh non trước 37 tuần, sự khác biệt đã xuất hiện sớm từ tuần 16 và duy trì ở các mốc sau, cho thấy kiểu sinh non này có xu hướng rút ngắn CTC từ từ nhưng kéo dài hơn theo thời gian.

Các kết quả này cho thấy sinh non trước 34 tuần và trước 37 tuần có quỹ đạo thay đổi CTC khác nhau, phản ánh tính không đồng nhất của cơ chế sinh non trong song thai. Theo dõi dọc CTC vì vậy có giá trị hơn đo đơn điểm, đặc biệt trong phát hiện sớm các trường hợp có nguy cơ cao. Một số trường hợp funneling sớm và rút ngắn nhanh trong nghiên cứu minh họa cho nhóm CTC yếu, nơi tác động cơ học

của song thai kết hợp với tính nhạy cảm của mô CTC có thể làm vượt ngưỡng bù trừ, dẫn đến thay đổi hình thái rõ rệt và sinh non sớm.

4.3.1.4. Góc cổ tử cung và sinh non.

Nghiên cứu cho thấy góc CTC có liên quan với nguy cơ sinh non ở song thai, đặc biệt khi đánh giá diễn biến theo thời gian thay vì chỉ một thời điểm đơn lẻ. Với ngưỡng sinh non trước 34 tuần, khác biệt về góc CTC chỉ trở nên rõ từ tuần 22 và tăng mạnh ở tuần 24; trong khi với ngưỡng trước 37 tuần, khác biệt xuất hiện sớm hơn, từ tuần 20 và tiếp tục tăng dần. Điều này gợi ý góc CTC phản ánh quá trình tái cấu trúc CTC và tác động cơ học của song thai, trong đó những thay đổi hình thái có thể xuất hiện sớm trước khi chiều dài CTC rút ngắn rõ rệt. Vì vậy, góc CTC nên được xem là chỉ số bổ trợ cho chiều dài CTC trong phân tầng nguy cơ sinh non, đặc biệt trong giai đoạn 20–24 tuần, nhằm tăng khả năng phát hiện sớm, cá thể hóa theo dõi và tư vấn cho thai phụ song thai.

4.3.2. Giá trị tiên lượng sinh non của các mô hình phối hợp mRNA và hình thái học cổ tử cung

Kết quả cho thấy mô hình kết hợp chiều dài CTC và góc CTC có giá trị tiên lượng tốt đối với sinh non ở song thai, đặc biệt ở ngưỡng <34 tuần, khi AUC đạt mức rất cao từ tuần 22 và 24. Với ngưỡng <37 tuần, mô hình cho giá trị tốt hơn rõ rệt ở tuần 24. Điều này cho thấy sinh non rất sớm bộc lộ tín hiệu hình thái học CTC rõ hơn và sớm hơn, trong khi sinh non trước 37 tuần cần thời điểm muộn hơn mới thể hiện sự phân tách nguy cơ rõ ràng. Nhìn chung, chiều dài CTC là chỉ số nền tảng, còn góc CTC giúp tăng khả năng phát hiện các bất thường hình thái do tác động cơ học của song thai, từ đó nâng cao giá trị dự báo sinh non so với từng chỉ số đơn lẻ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các mRNA vào mô hình hình ảnh học cổ tử cung chỉ làm tăng nhẹ giá trị tiên lượng, trong đó NAMPT và PSME2 là hai marker nổi bật nhất, đặc biệt ở nhóm sinh non trước 34 tuần. NAMPT cho AUC cao nhất ở tuần 22, còn PSME2 có giá trị dự báo sớm hơn ở tuần 20. Tuy nhiên, ở nhóm sinh non trước 37 tuần, việc tích hợp mRNA vào mô hình hầu như không cải thiện đáng kể so với mô hình chỉ gồm các chỉ số hình ảnh học cổ tử cung.

4.4. ƯU ĐIỂM VÀ HẠN CHẾ CỦA NGHIÊN CỨU.

- Tính mới của đề tài

- + Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam theo dõi dọc và đánh giá đầy đủ sự thay đổi hình thái cổ tử cung trong quý

II bao gồm chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và lỗ trong cổ tử cung ở thai phụ song thai, với các lần siêu âm định kỳ từ 14 đến 24 tuần

+ Đây là một trong những nghiên cứu mang tính khám phá tiên phong đầu tiên trong việc khảo sát các mRNA tiềm năng (PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, Hsa-let-7g) trên đối tượng song thai.

+ Thiết kế nghiên cứu theo dõi dọc hình thái cổ tử cung từ 14 tuần đến 24 tuần, đặc biệt có sự phân tích kết hợp các yếu tố diễn biến hình thái này với các -omics và các cytokine tiền viêm.

Hạn chế của đề tài

+ Cỡ mẫu nghiên cứu còn hạn chế: Do cỡ mẫu còn hạn chế, nghiên cứu này chủ yếu đóng vai trò khám phá và định hướng, xác định các mRNA có triển vọng nhất để làm cơ sở cho các nghiên cứu quy mô lớn hơn sau này, chứ chưa nhằm mục đích khẳng định giá trị chẩn đoán xác định trên lâm sàng. Do vậy, kết quả nghiên cứu mới chỉ ghi nhận có 1 RNA (PSME2) có mối liên quan với sinh non. Đồng thời, do số lượng mẫu chưa cao nên đường bách phân vị các chỉ số hình thái cổ tử cung xây dựng trong nghiên cứu chưa đạt được tính đại diện cao cho quần thể song thai; do đó, chúng tôi chỉ trình bày phân bố bách phân vị của chiều dài và góc cổ tử cung.

+ Nghiên cứu mới chỉ lấy máu tại một thời điểm duy nhất là 16 tuần để đánh giá các yếu tố tiền viêm; đây là giai đoạn còn sớm nên chưa bộc lộ hết vai trò của các yếu tố này trong tiên lượng sinh non, đặc biệt mẫu máu ngoại vi có yếu tố nhiễu cao hơn nhiều so với dịch cổ tử cung.

+ Đề tài khảo sát sự thay đổi hình thái học cổ tử cung trong quý II ở sản phụ song thai trên siêu âm, tuy nhiên trong số các đối tượng này, một số sản phụ có nguy cơ cao cổ tử cung yếu đã được dự phòng bằng khâu vòng cổ tử cung hoặc nội tiết, điều này có thể làm hạn chế diễn biến thay đổi hình thái ghi nhận được, nhất là trên cỡ mẫu 93 trường hợp.

+ Mặc dù nghiên cứu đã thống nhất thực hiện siêu âm bởi một bác sĩ có chứng nhận của FMF để hạn chế sai số đo đạc, nhưng vẫn có thể tồn tại một số sai số nhất định, nhất là khi cỡ mẫu nghiên cứu chưa cao.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu theo dõi dọc hình thái cổ tử cung 93 sản phụ song thai mỗi 2 tuần 1 lần từ 14 đến 24 tuần, xét nghiệm mẫu máu mẹ mRNA và các yếu tố tiền viêm lúc 16 tuần chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

1. Sự thay đổi hình ảnh học cổ tử cung trên siêu âm quý II ở sản phụ song thai

- Chiều dài cổ tử cung ít có sự thay đổi trong quý II, không có sự khác biệt tại tuần 14 giữa nhóm sinh non trước 37 tuần và không sinh non, tuy nhiên từ tuần 16 trở đi ngắn hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm sinh non trước 37 tuần, với chênh lệch trung bình toàn bộ quý II là 3,3 mm ($p < 0,001$). Ở nhóm sinh non trước 37 tuần, chiều dài cổ tử cung giảm từ $36,4 \pm 1,0$ mm tại tuần 14 xuống $32,9 \pm 1,1$ mm tại tuần 24, trong khi nhóm không sinh non lần lượt là $37,2 \pm 0,9$ mm và $39,2 \pm 1,0$ mm. Phân bố theo bách phân vị cho thấy chiều dài cổ tử cung của nhóm sinh non tập trung chủ yếu ở các bách phân vị thấp, đặc biệt rõ tại các mốc 20-24 tuần, xu hướng này rõ rệt hơn ở sinh non trước 34 tuần.

- Góc cổ tử cung biến đổi ít trong quý II, chỉ bắt đầu khác biệt giữa nhóm sinh non trước 37 tuần và không sinh non từ tuần 20, với giá trị lớn hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm sinh non trước 37 tuần ($p = 0,040$ tại tuần 20; $p < 0,001$ tại tuần 24). Tại tuần 24, góc cổ tử cung trung bình của nhóm sinh non là $109,4 \pm 3,3^\circ$, cao hơn rõ rệt so với $87,4 \pm 2,9^\circ$ ở nhóm không sinh non. Phân bố bách phân vị góc cổ tử cung cho thấy nhóm sinh non tập trung ở các bách phân vị cao, rõ rệt hơn ở sinh non trước 34 tuần so với sinh non trước 37 tuần.

- Hình ảnh lỗ trong cổ tử cung ít thay đổi ở tuần tuổi thai từ 14-24 tuần. Nhưng có sự biến đổi nhanh ở nhóm sinh non trước 34 tuần.

- Bước đầu có tìm thấy mối liên quan mRNA với chiều dài cổ tử cung (Hsa-let-7g: $r = -0,104$; PSME2: $r = -0,084$; APOA4: $r = 0,115$) và chưa thấy mối liên quan rõ ràng với góc cổ tử cung, trong khi yếu tố tiền viêm nhìn chung không có tương quan có ý nghĩa, trừ TNF- α có liên quan nghịch với chiều dài cổ tử cung trong mô hình hỗn hợp ($\beta = -0,16$; $p < 0,01$) và có tương tác theo thời gian.

2. Một số yếu tố dự báo nguy cơ sinh non ở sản phụ song thai.

- Chiều dài cổ tử cung liên quan nghịch với sinh non trước 34 và 37 tuần. Tại 37 tuần mỗi 1 mm tăng làm giảm 7,7% odds sinh non

(OR=0,923; p=0,003). Nhóm sinh non có rút ngắn chiều dài cổ tử cung sớm và nhiều hơn, rõ rệt ở sinh non trước 34 tuần.

- Góc cổ tử cung liên quan thuận với sinh non trước 34 và 37 tuần. Tại 37 tuần mỗi 1° tăng làm tăng 1,4% odds sinh non (OR=1,014; p=0,012). Sự gia tăng góc cổ tử cung theo tuổi thai khác biệt có ý nghĩa giữa hai nhóm, rõ hơn ở sinh non trước 34 tuần.

- Kết quả bước đầu ghi nhận PSME2 có mối liên quan độc lập với sinh non. Ở nhóm sinh non trước 37 tuần PSME2 có nồng độ cao có ý nghĩa thống kê (trung vị 2,75 so với 1,00; p = 0,048).

- Bước đầu cho thấy bổ sung mRNA vào mô hình hình thái cổ tử cung làm tăng giá trị tiên lượng sinh non, rõ nhất ở nhóm sinh non trước 34 tuần với NAMPT và PSME2, trong khi với sinh non trước 37 tuần giá trị tiên lượng cao nhất ghi nhận ở mô hình chiều dài CTC + góc CTC + PSME2 tại tuần 24 với AUC 0,834 (95%CI: 0,754–0,914), cao hơn so với khi chỉ sử dụng các chỉ số hình ảnh học cổ tử cung.

KIẾN NGHỊ

- Chiều dài cổ tử cung, góc cổ tử cung và hình ảnh lỗ trong cổ tử cung đo bằng siêu âm ngã âm đạo trong quý II ở thai phụ song thai, với theo dõi lặp lại từ 16-24 tuần có thể phát hiện được đối tượng cổ tử cung yếu. Việc sử dụng phân bố bách phân vị của chiều dài và góc cổ tử cung để phân tầng nguy cơ có thể phát hiện sớm nhóm nguy cơ sinh non <34 tuần.

- Trong dự báo sinh non ở song thai chỉ số hình thái học cổ tử cung (chiều dài, góc và diễn biến thay đổi) có giá trị dự báo tốt nguy cơ sinh non. PSME2 có thể được xem xét kết hợp với các chỉ số hình thái học cổ tử cung trong các mô hình dự báo sinh non, trong khi các cytokine tiền viêm đơn lẻ chưa tìm thấy giá trị dự báo.

- Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nên tiếp tục triển khai các nghiên cứu quy mô lớn, đa trung tâm nhằm đánh giá giá trị tiên lượng của các plasma cell-free RNAs trong nhóm thai phụ song thai, đặc biệt khi kết hợp với các chỉ số hình thái cổ tử cung trên siêu âm. Trong đó, các RNA huyết tương mẹ có thể được sử dụng như một công cụ sàng lọc sớm nhằm dự báo nguy cơ sinh non để từ đó có can thiệp dự phòng ngay ở giai đoạn phù hợp cho từng sản phụ song thai.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

Các công trình khoa học đã công bố.

1. Bùi Văn Hiếu, Phạm Xuân Lộc, Trần Khắc Quang, Trần Ngọc Khánh, Nguyễn Vũ Quốc Huy, Lê Minh Tâm. Mô tả một số yếu tố liên quan đến sinh non trước 34 tuần ở sản phụ song thai quản lý thai tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Tạp chí Y học Việt Nam. 2026;560(2).
2. Bui Van Hieu, Tran Khac Quang, Tran Ngoc Khanh, Pham Xuan Loc, Pham Thi Loc, Le Minh Tam, et al. A study on the association between interleukin-1 β , interleukin-6, and TNF- α levels and cervical morphological changes in the second trimester and preterm birth in twin pregnancies at Hai Phong Medical University Hospital. Journal of Health Sciences. 2025;3(6).
3. Bùi Văn Hiếu, Nguyễn Thị Hoàng Trang, Trần Ngọc Khánh, Bùi Thị Minh Phượng, Trần Khắc Quang, Lê Minh Tâm, Nguyễn Vũ Quốc Huy (2025). Mô tả thay đổi hình ảnh học cổ tử cung trên siêu âm quý II và giá trị dự báo sinh non của sự thay đổi hình ảnh học cổ tử cung ở thai phụ song thai. Tạp chí Y Dược Huế, Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế. Tập 15, Số 7.
4. Bùi Văn Hiếu, Nguyễn Thị Hoàng Trang, Trần Ngọc Khánh, Phạm Xuân Lộc, Lê Minh Tâm, Nguyễn Vũ Quốc Huy. Kết cục thai kỳ của các sản phụ song thai quản lý thai tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Tạp chí Y học Việt Nam. 2026; 561(3).
5. Bùi Văn Hiếu, Trần Khắc Quang, Nguyễn Vũ Quốc Huy, Lê Minh Tâm. Giá trị dự báo sinh non của sự thay đổi hình thái học cổ tử cung trên siêu âm ở sản phụ song thai từ 24–28 tuần tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Tạp chí Phụ Sản. Đã chấp nhận đăng.
6. Bui Van Hieu, Nguyen Thi Hoang Trang, Le Minh Tam, Nguyen Vu Quoc Huy. Maternal plasma cell-free RNAs and sonographic parameters for predicting spontaneous preterm birth in twin pregnancies: A prospective cohort study. Journal of Obstetrics and Gynecology. Accepted for publication.

Các công trình khoa học đang chờ phản biện hoặc chờ đăng

1. Bui Van Hieu, Nguyen Thi Hoang Trang, Tran Ngoc Khanh, Bui Thi Minh Phuong, Tran Khac Quang, Le Minh Tam, Nguyen Vu Quoc Huy. Association between mRNA and pro-inflammatory factors with cervical morphological changes on second-trimester ultrasound in women with twin pregnancies. Hue Journal of Medicine and Pharmacy. Manuscript submitted, under review.
2. Dung Luu Vu, Hieu Bui Van, Huy Nguyen Vu Quoc, Tam Le Minh, Phuong Luong Quynh, Quang Tran Khac, Thuc Pham Van, Tung Dao Van, Thach Nguyen Hoang, Loc Pham Thi. Twelve-Day Latency Between Complete Cervical Dilation and Spontaneous Preterm Labor Onset with Serial Cytokine Profiling and Exploratory Exome Findings: A Case Report. Case Reports in Obstetrics and Gynecology. Manuscript submitted, under review.
3. Nguyen Thi Hoang Trang, Bui Van Hieu, Nguyen Vu Quoc Huy, Le Minh Tam. Distribution of Uterocervical Angle Measurements in Singleton and Twin Pregnancies from 12 to 37 Weeks of Gestation and the Prediction of Preterm Birth: A Five-Year Vietnamese Cohort Study. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. Manuscript submitted, under review.

**HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

BUI VAN HIEU

**STUDY OF SECOND-TRIMESTER CERVICAL
SONOGRAPHIC CHANGES AND SELECTED PREDICTIVE
FACTORS FOR PRETERM BIRTH IN TWIN PREGNANCIES**

SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL DISSERTATION

HUE, 2026

The study was completed at:
HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

Supervisors:

PROF. NGUYEN VU QUOC HUY
PROF. LE MINH TAM

Reviewer 1:

Reviewer 2:

Reviewer 3:

The thesis will be presented to the board of university examiners and reviewers at...

This thesis can be found at:

- National Library of Vietnam.
- Library of Hue University.
- Library of University of Medicine and Pharmacy, Hue University.

**HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

BUI VAN HIEU

**STUDY OF SECOND-TRIMESTER CERVICAL
SONOGRAPHIC CHANGES AND SELECTED PREDICTIVE
FACTORS FOR PRETERM BIRTH IN TWIN PREGNANCIES**

SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL DISSERTATION

SPECIALTY: OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

CODE: 9.72.01.05

Supervisors:

PROF. NGUYEN VU QUOC HUY

PROF. LE MINH TAM

HUE, 2026

1. INTRODUCTION

Preterm birth remains the leading cause of perinatal mortality and morbidity worldwide. According to the World Health Organization (WHO), approximately 15 million infants are born preterm each year. Women with twin pregnancies have a substantially higher risk of preterm birth than those with singleton pregnancies, with the preterm birth rate approaching 60%. Therefore, the early identification of risk factors and the development of predictive models for preterm birth in twin pregnancies are of considerable importance in contemporary obstetric practice.

Previous studies have primarily focused on the assessment of cervical length, which has been well established as a valuable predictor of preterm birth. However, most investigations have evaluated cervical sonographic parameters at isolated time points. Cervical length (CL) and the uterocervical angle (UCA) are dynamic morphological markers that reflect the biomechanical relationship between the lower uterine segment and the cervix, as well as the continuous process of cervical remodeling throughout pregnancy. Nevertheless, longitudinal data describing changes in cervical length, uterocervical angle, and internal cervical os morphology in twin pregnancies remain limited.

In addition to cervical morphological changes, increasing evidence suggests that preterm birth results from complex interactions among inflammatory, immunological, and genetic mechanisms. Several pro-inflammatory cytokines, including interleukin (IL)-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), as well as maternal plasma cell-free RNAs (cfRNAs) such as PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g, have been reported to be associated with preterm birth. However, these findings have been derived predominantly from singleton pregnancies, whereas evidence in twin pregnancies remains limited, particularly regarding the associations between these molecular biomarkers and longitudinal cervical morphological changes, as well as their predictive value when combined with cervical sonographic parameters.

To address these knowledge gaps, we conducted the study entitled “Study Of Second-Trimester Cervical Sonographic Changes And Selected Predictive Factors For Preterm Birth In Twin Pregnancies” with the following objectives:

Objective 1: To determine second-trimester cervical sonographic changes and evaluate their associations with selected genomic markers and pro-inflammatory factors in women with twin pregnancies.

Objective 2: To investigate the predictive value of cervical length, uterocervical angle, and selected genomic markers measured during the second trimester for preterm birth in women with twin pregnancies.

2. SCIENTIFIC SIGNIFICANCE AND CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

The dissertation provides additional evidence on second-trimester cervical sonographic changes in women with twin pregnancies and further clarifies their associations with maternal plasma mRNA biomarkers, pro-inflammatory factors, and the risk of preterm birth. This represents a novel approach by integrating cervical morphological changes with molecular biomarkers for the prediction of preterm birth. The findings demonstrated that both cervical length and the uterocervical angle changed with advancing gestational age and were significantly associated with preterm birth, particularly preterm birth before 34 weeks of gestation. In addition, the study provides preliminary evidence supporting the role of selected mRNA biomarkers, especially PSME2, in preterm birth and suggests that combining these biomarkers with cervical sonographic parameters may improve predictive performance. From a clinical perspective, the dissertation supports the potential application of longitudinal cervical assessment in combination with molecular biomarkers for the early identification of women with twin pregnancies at high risk of preterm birth. This integrated approach may contribute to more effective risk stratification, preventive strategies, and individualized clinical management.

3. DISSERTATION STRUCTURE

The dissertation consists of 137 pages, including 2 pages of Introduction, 28 pages of Literature Review, 29 pages of Materials and Methods, 34 pages of Results, 41 pages of Discussion, 2 pages of Conclusions, and 1 page of Recommendations.

The dissertation contains 45 tables, 16 figures, 1 flowchart, and 18 graphs. A total of 140 references were cited, including 11 references in Vietnamese and 129 references in English.

Chapter 1

LITERATURE REVIEW

1.1. OVERVIEW OF TWIN PREGNANCY

1.1.1. Definition

1.1.2. Classification

1.1.3. Epidemiology

1.2. CERVICAL MORPHOLOGICAL CHANGES IN TWIN PREGNANCY

1.2.1. Cervical sonographic changes during pregnancy

During normal pregnancy, the cervix remains closed until term. Cervical remodeling, characterized by softening, shortening, effacement, and dilatation, occurs during both labor and spontaneous preterm birth. These changes are driven by alterations in collagen, the extracellular matrix, immune activity, and tissue hydration. Because collagen and the extracellular matrix constitute 85–90% of cervical tissue, premature remodeling leads to cervical shortening, internal cervical os changes, and an increased risk of preterm birth.

1.2.2. Methods for assessing cervical sonographic changes

1.3. MECHANISMS OF PRETERM BIRTH: FROM GENETIC ALTERATIONS TO CLINICAL MANIFESTATIONS IN TWIN PREGNANCIES

1.3.1. The role of genetic alterations in initiating the mechanisms of preterm birth

Recent studies suggest that preterm birth results from a complex interaction among genetic, immune, and inflammatory factors. Several circulating cell-free RNAs in maternal plasma, including NAMPT, PSME2, Hsa-let-7g, and APOA4, have been associated with the risk of preterm birth through the regulation of inflammatory responses, immune pathways, and metabolic processes. However, most available studies have been conducted in singleton pregnancies, whereas data regarding twin pregnancies remain limited.

1.3.1.1. Genetic signals activated to promote cytokine production and initiate pathways leading to preterm birth

1.3.1.2. Genetic factors involved in the activation of anti-inflammatory pathways

1.3.1.3. Genetic factors involved in maintaining the structural integrity of cervical connective tissue

1.3.2. The role of cytokine upregulation in the initiation of preterm birth

Pro-inflammatory cytokines, including IL-1 β , IL-6, and TNF- α , participate in prostaglandin synthesis and metalloproteinase activation, leading to cervical softening and shortening, thereby promoting preterm labor. However, findings from studies in twin pregnancies remain inconsistent and appear to depend on the timing of sample collection and the type of biological specimen analyzed.

1.3.3. Genetic background and inflammatory signaling underlying cervical structural changes

1.4. PREVIOUS NATIONAL AND INTERNATIONAL STUDIES

1.4.1. Studies on cervical imaging changes in twin pregnancies

****Changes in CL during pregnancy***

Numerous national and international studies have demonstrated that CL in twin pregnancies tends to decrease progressively with advancing gestational age, particularly during the second trimester. However, some investigations have reported a non-linear pattern, with a slight increase at certain time points before subsequent shortening. Overall, the relationship between CL and gestational age in twin pregnancies remains incompletely understood, and longitudinal studies are still limited.

****Changes in cervical angle during pregnancy***

The UCA is an emerging ultrasound parameter that has attracted increasing interest in preterm birth prediction. However, studies evaluating this marker in twin pregnancies remain scarce. Several investigations in both singleton and twin pregnancies have suggested that the UCA increases with gestational age and is larger among women who subsequently experience preterm birth. Nevertheless, findings remain inconsistent across studies, and the clinical significance of the UCA in twin pregnancies requires further clarification.

****Changes in the internal cervical os during pregnancy***

The morphology of the internal cervical os, particularly funneling patterns such as V-shaped and U-shaped configurations, has been associated with a short cervix and an increased risk of preterm birth. However, the predictive value of this finding alone is limited and is generally considered more informative when combined with CL measurements or other clinical parameters.

1.4.2. Studies on predictors of preterm birth risk

****Genetic factors and preterm birth***

Studies investigating circulating cell-free RNA biomarkers, including PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g, have shown that some of these transcripts are associated with preterm birth and may improve predictive performance when combined with clinical variables. Nevertheless, most available studies have been conducted in singleton pregnancies, while evidence in twin pregnancies remains limited.

****Pro-inflammatory factors and preterm birth***

Pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, and TNF- α are believed to contribute to preterm birth through inflammatory pathways and cervical remodeling. Several studies have reported associations between cytokine concentrations and gestational age at delivery. However, findings remain inconsistent and appear to depend on the timing of sample collection and the biological specimens analyzed. Evidence regarding these associations in twin pregnancies is still scarce.

****Cervical morphology and preterm birth***

CL is the most extensively studied cervical parameter and has demonstrated predictive value for preterm birth in twin pregnancies, particularly in women with a short cervix. The UCA has also emerged as a potentially useful predictor, although available data remain limited. Cervical funneling is considered an additional sonographic sign suggestive of increased preterm birth risk; however, its predictive performance alone is relatively poor. Therefore, integrating multiple imaging and biological markers may enhance the prediction of preterm birth risk.

Chapter 2

SUBJECTS AND METHODS

2.1. STUDY POPULATION.

2.1.1. Study population

The study was conducted in women with twin pregnancies who underwent transvaginal ultrasound assessment of cervical sonographic parameters, including cervical length, uterocervical angle, and internal cervical os morphology, every two weeks from 14 to 24 weeks of gestation. Maternal blood samples were collected at 16 weeks of

gestation for quantification of the mRNA biomarkers PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g, as well as the pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α . All participants were subsequently followed until the end of pregnancy between September 2023 and August 2025.

Inclusion criteria

- Twin pregnancies in which both fetuses remained alive until the end of pregnancy.
- Availability of transvaginal ultrasound assessments of cervical sonographic parameters (cervical length, uterocervical angle, and internal cervical os morphology) performed every two weeks from 14 to 24 weeks of gestation at Hai Phong Medical University Hospital.
- Availability of maternal blood test results for PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, Hsa-let-7g, and the pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α at 16 weeks of gestation.
- Attendance at all scheduled follow-up visits.
- Pregnancy ending in either spontaneous labor or term delivery.
- Written informed consent to participate in the study.

Exclusion criteria

- History of cervical surgery (e.g., cervical conization).
- Intrauterine death of at least one fetus during follow-up.
- Iatrogenic preterm delivery without spontaneous labor due to obstetric indications, including placenta previa, preeclampsia, or monochorionic twin complications.
- Current or previous medical conditions, infections, or medications that could affect pro-inflammatory cytokine measurements, including systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, active infection, corticosteroid therapy, or vaginal infection.
- Loss to follow-up during the study period.

2.1.2. Study setting and duration

- The study was conducted at the Department of Obstetrics and Gynecology, Hai Phong University of Medicine and Pharmacy Hospital, from September 2023 to August 2025.
- Quantification of plasma cell-free RNA (cfRNA) biomarkers was performed at Gene Solutions Joint Stock Company.
- Measurement of pro-inflammatory cytokines was carried out at the Central Laboratory, Hai Phong University of Medicine and Pharmacy.

2.2. METHOD OF STUDY.

2.2.1. Study design and methods.

Study design

- Prospective cohort study.

Sample size

The sample size was calculated using the formula for estimating a correlation coefficient:

$$n = \left(\frac{Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}}{\frac{1}{2} \log_e \frac{1+r}{1-r}} \right)^2 + 3$$

Where:

r: correlation coefficient between CL and gestational age. Based on the study by Fujita (2002), $r = 0.43$ was used.

α : type I error, set at 0.05; therefore, $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$.

β : type II error, set at 0.20, corresponding to a statistical power of 80%; therefore, $Z_{1-\beta} = 0.842$.

The calculated minimum sample size was 41 participants. To enhance the robustness of the study, a design effect of 2 was applied, resulting in a minimum required sample size of 82 participants. In practice, 93 women meeting the eligibility criteria were enrolled.

Sampling method

Convenience sampling was used to recruit eligible participants until the required sample size was reached.

2.2.2. Study procedures.

2.2.2.1. Procedures for objective 1

Step 1: At 14 weeks of gestation, eligible women with twin pregnancies were enrolled after informed consent. Transvaginal ultrasound was performed to assess cervical length (CL), uterocervical angle (UCA), and internal cervical os morphology (I, Y, V, or U).

Step 2: Participants underwent serial transvaginal ultrasound every 2 weeks from 14 to 24 weeks, with longitudinal follow-up until delivery.

Step 3: At 16 weeks, maternal blood samples were collected for plasma cfRNA analysis (PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g) using droplet digital PCR and pro-inflammatory cytokine assays (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) using ELISA.

Step 4: Women at risk of preterm birth received standard clinical management according to current guidelines.

Step 5: Follow-up was completed at delivery, and all data were collected for statistical analysis.

2.2.3. Research tools

- A standardized case report form was designed for data collection.
- A Voluson S8 XG ultrasound system equipped with a 7–9 MHz transvaginal probe was used for cervical imaging assessment.
- A Droplet Digital PCR (ddPCR) platform, including the QX AutoDG Droplet Generator and QX600 Droplet Reader, was used for quantitative analysis of PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g mRNA expression.
- An ELISA system was used for quantitative measurement of the pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α .
- Obstetric cardiotocography monitoring was used to detect and assess uterine contractions in the diagnosis of threatened preterm labor.
- Preventive interventions for preterm birth included vaginal progesterone therapy and cervical cerclage.

2.3. STUDY ETHICS

The study was approved by the Institutional Review Board for Biomedical Research of Hue University of Medicine and Pharmacy under Decision No. H2023/461. Approval was also obtained from the Scientific Committee of Hai Phong University Hospital (Decision No. 192/QĐ-BVHP) and the Scientific Committee of Hai Phong University of Medicine and Pharmacy (Decision No. 314/QĐ-YDHP).

Chapter 3 STUDY RESULTS

The study included 93 women with twin pregnancies who met the eligibility criteria and were prospectively followed at two-week intervals from 14 to 24 weeks of gestation at Hai Phong University of Medicine and Pharmacy Hospital. The study focused on evaluating the longitudinal changes in cervical sonographic parameters assessed by transvaginal ultrasound, including CL, UCA, and internal cervical os morphology. In addition, molecular biomarkers, including circulating cell-free RNAs (PSME2, NAMPT, APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g) and pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, and TNF- α), were measured at 16 weeks of gestation to investigate their predictive value.

The primary outcomes were preterm birth before 34 weeks and before 37 weeks of gestation. Based on these outcomes, potential predictors of preterm birth were evaluated with the aim of improving risk stratification and optimizing the management of twin pregnancies.

3.1. General characteristics of the study population

3.2. Cervical morphological changes and their associations with genomics and pro-inflammatory factors in twin pregnancies

The mean CL remained relatively stable between 14 and 24 weeks of gestation, ranging from 36.1 to 37.2 mm, without a clear decreasing trend over time. However, the minimum CL progressively decreased with advancing gestational age, particularly after 20 weeks.

Table 3.4. Distribution of CL according to the 5th, 10th, 25th, 50th, 75th, 90th, and 95th percentiles at each assessment time point (n = 93)

Gestational age	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
14 weeks	28.5	29.9	32.1	36.6	41.1	45.2	46.3
16 weeks	27.6	28.3	32.7	36.0	39.6	42.9	44.9
18 weeks	29.2	30.6	34.1	37.5	40.2	43.5	45.7
20 weeks	28.1	29.7	32.5	36.2	39.9	43.3	45.2
22 weeks	22.6	29.4	32.7	37.0	41.4	43.9	46.4
24 weeks	23.6	27.1	32.2	37.2	42.0	45.5	47.0
Overall (558 ultrasound examinations)	27.5	29.5	32.8	36.9	40.5	44.0	46.0

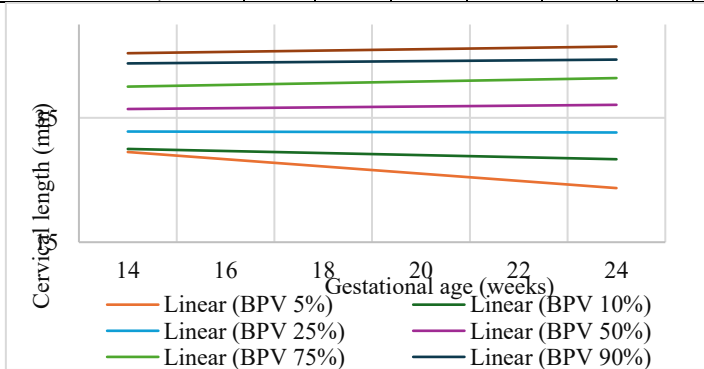


Figure 3.2. Percentile distribution of cervical length by gestational age

The percentile distribution of cervical length across gestational ages showed that the median cervical length remained relatively stable at approximately 36–37 mm between 14 and 24 weeks of gestation. In

contrast, the lower percentiles gradually declined with advancing gestation, particularly after 20 weeks, indicating greater cervical shortening among women in the lower end of the distribution.

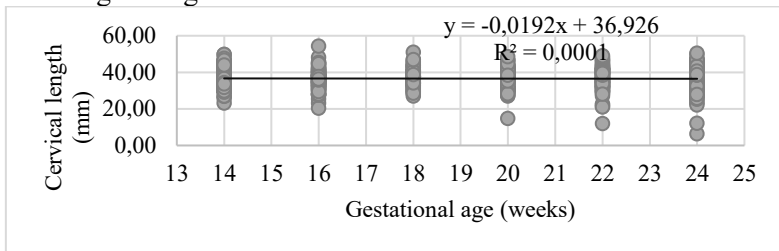


Figure 3.3. Correlation between CL and gestational age

Gestational age and CL showed a very weak negative correlation ($r^2 = 0.0001$), which was not statistically significant ($p > 0.05$).

3.2.2. Characteristics of UCA in the study population

The mean UCA ranged from approximately 96° to 103° between 14 and 24 weeks of gestation, with no clear increasing or decreasing trend over time. However, the range was wide at all time points, as reflected by the large difference between the minimum and maximum values and the relatively high standard deviation.

Table 3.8. Distribution of UCA according to the 5th, 10th, 25th, 50th, 75th, 90th, and 95th percentiles at each measurement time point (n = 93)

Gestational age	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
14 weeks	56.4	65.8	81.0	93.2	108.9	128.5	153.9
16 weeks	65.5	71.1	84.2	100.3	116.7	123.1	143.4
18 weeks	70.7	78.2	91.3	102.5	116.4	125.4	131.7
20 weeks	68.5	74.9	90.6	100.2	115.2	131.8	136.9
22 weeks	66.5	72.2	85.0	99.0	113.3	128.3	131.1
24 weeks	62.0	68.2	75.5	95.0	116.0	130.1	138.1
Overall (558 ultrasound examinations)	65.4	71.2	85.4	97.6	114.4	127.4	138.4

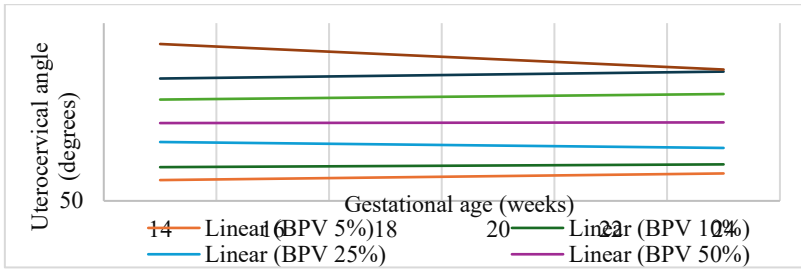


Figure 3.5. Percentile distribution of the uterocervical angle by gestational age

At the lower percentiles (5th–10th), the uterocervical angle increased slightly from 14 to 18 weeks and then gradually decreased toward 24 weeks of gestation. In contrast, the higher percentiles (90th–95th) consistently remained above 125° and showed considerable variability across the measurement time points.

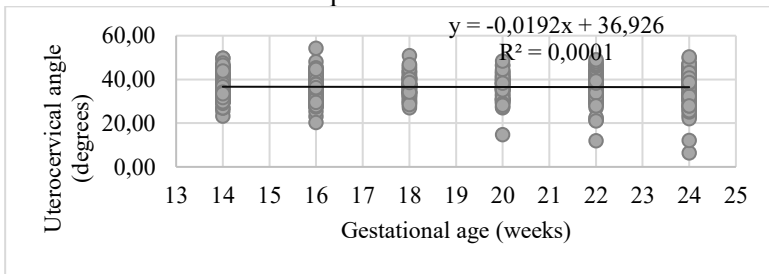


Figure 3.6. Correlation between UCA and gestational age

Gestational age and UCA showed no meaningful correlation ($r^2 = 0.0001$), and this correlation was not statistically significant ($p > 0.05$).

3.2.3. Distribution of internal cervical os morphology according to gestational age

Table 3.10. Distribution of internal cervical os morphology by gestational age

Gestational age	I-shaped n (%)	Y-shaped n (%)	V-shaped n (%)	Total
14 weeks	91 (97.8)	0	2 (2.2)	93 (100)
16 weeks	88 (94.6)	5 (5.4)	0	93 (100)
18 weeks	92 (98.9)	1 (1.1)	0	93 (100)
20 weeks	91 (97.8)	2 (2.2)	0	93 (100)
22 weeks	88 (94.6)	5 (5.4)	0	93 (100)
24 weeks	84 (90.3)	9 (9.7)	0	93 (100)

The morphology of the internal cervical os remained largely unchanged between 14 and 20 weeks of gestation. Morphological changes began to increase from 22 weeks onward.

3.2.4. Association of mRNA expression and inflammatory markers with cervical morphology

Table 3.12. Correlation between gene expression levels, inflammatory markers, and CL at different measurement time points

Week	Hsa-let-7g r (p)	NAMPT r (p)	APOA1 r (p)	APOA4 r (p)	PSME2 r (p)	IL-1 β r (p)	IL-6 r (p)	TNF- α r (p)
14	-0.238 (0.022)	-0.143 (0.173)	0.218 (0.485)	0.218 (0.036)	-0.164 (0.117)	0.042 (0.686)	0.048 (0.650)	-0.092 (0.380)
16	-0.125 (0.233)	-0.169 (0.105)	-0.043 (0.683)	0.202 (0.052)	-0.122 (0.243)	0.076 (0.468)	-0.037 (0.722)	-0.051 (0.626)
18	0.003 (0.980)	-0.081 (0.441)	-0.091 (0.385)	0.138 (0.186)	-0.034 (0.747)	0.020 (0.848)	-0.083 (0.429)	-0.071 (0.497)
20	0.031 (0.765)	-0.053 (0.614)	-0.156 (0.134)	0.071 (0.501)	0.106 (0.313)	0.011 (0.919)	-0.059 (0.573)	0.027 (0.800)
22	-0.081 (0.440)	0.012 (0.908)	-0.064 (0.540)	-0.059 (0.577)	-0.049 (0.639)	0.049 (0.639)	-0.004 (0.971)	0.139 (0.182)
24	-0.204 (0.050)	-0.053 (0.614)	0.0029 (0.779)	0.097 (0.354)	-0.200 (0.055)	-0.052 (0.624)	0.019 (0.857)	0.094 (0.371)
Overall	-0.104 (0.014)	-0.069 (0.106)	-0.045 (0.291)	0.115 (0.007)	-0.084 (0.047)	0.020 (0.644)	-0.009 (0.840)	0.005 (0.907)

There was an inverse correlation between Hsa-let-7g and CL at 14 weeks, and a positive correlation between APOA4 and CL at 14 weeks; however, these correlations were weak. No statistically significant correlation was found between CL and the other genes or inflammatory markers at the remaining time points. Overall, Hsa-let-7g and PSME2 showed a statistically significant but very weak inverse correlation with CL, with correlation coefficients of -0.104 and -0.084, respectively, whereas APOA4 showed a weak positive correlation with CL ($r = 0.115$).

Table 3.14. Linear mixed-effects model of the association between gene expression levels, inflammatory markers, and longitudinal changes in CL

Marker	Variable	Univariate model β (95% CI)	p value	Multivariable model β (95% CI)	p value
Hsa-let-7g	Hsa-let-7g	-0.73 (-2.11 to 0.65)	0.301	-0.57 (-1.89 to 0.74)	0.392
	Hsa-let-7g $\times$ time	0.06 (-0.33 to 0.44)	0.773	0.05 (-0.31 to 0.41)	0.796
NAMPT	NAMPT	-0.48 (-0.78 to -0.18)	0.002	-0.56 (-0.83 to -0.28)	<0.001
	NAMPT $\times$ time	0.10 (0.02 to 0.19)	0.019	0.10 (0.03 to 0.18)	0.010
APOA1	APOA1	0.03 (-0.02 to 0.07)	0.279	0.02 (-0.03 to 0.06)	0.395
	APOA1 $\times$ time	-0.00 (-0.01 to 0.01)	0.894	-0.00 (-0.01 to 0.01)	0.887
APOA4	APOA4	-0.03 (-0.07 to 0.01)	0.107	-0.02 (-0.05 to 0.02)	0.307
	APOA4 $\times$ time	0.01 (-0.00 to 0.02)	0.242	0.01 (-0.00 to 0.02)	0.214
PSME2	PSME2	-0.00 (-0.01 to 0.00)	0.107	-0.00 (-0.01 to 0.00)	0.091
	PSME2 $\times$ time	-0.00 (-0.00 to 0.00)	0.107	0.00 (-0.00 to 0.00)	0.077
IL-1 β	IL-1 β	0.01 (-0.01 to 0.03)	0.457	0.01 (-0.01 to 0.02)	0.612
	IL-1 β $\times$ time	-0.00 (-0.01 to 0.00)	0.693	-0.00 (-0.01 to 0.00)	0.662
IL-6	IL-6	-0.01 (-0.07 to 0.05)	0.771	-0.03 (-0.09 to 0.03)	0.286
	IL-6 $\times$ time	-0.00 (-0.02 to 0.02)	0.969	-0.00 (-0.02 to 0.02)	0.969
TNF- α	TNF- α	-0.16 (-0.28 to -0.04)	0.009	-0.16 (-0.27 to -0.05)	0.006
	TNF- α $\times$ time	0.05 (0.01 to 0.08)	0.005	0.05 (0.02 to 0.08)	0.002

NAMPT was inversely associated with longitudinal changes in CL in both the univariate model ($\beta = -0.48$, 95% CI: -0.78 to -0.18, $p < 0.05$) and the multivariable model ($\beta = -0.56$, 95% CI: -0.83 to -0.28, $p < 0.05$). The interaction between NAMPT and time was statistically significant in both models, with β values of 0.10 (0.02 to 0.19) and

0.10 (0.03 to 0.18), respectively, suggesting that NAMPT influenced CL over time and tended to increase CL.

TNF- α was inversely associated with longitudinal changes in CL, with β values in the univariate and adjusted models of -0.16 (-0.28 to -0.04) and -0.16 (-0.27 to -0.05), respectively. The interaction between TNF- α and time was also statistically significant in both models, with β values of 0.05 (0.01 to 0.08) and 0.05 (0.02 to 0.08), respectively, indicating that the effect of TNF- α varied over time and gradually diminished in magnitude. No association was found between the other genes or inflammatory markers and longitudinal changes in CL.

3.3. Predictive value of cervical morphology, genomics, and pro-inflammatory factors for preterm birth in twin pregnancies

3.3.1. Characteristics of participants according to preterm birth before 34 weeks

3.3.2. Predictive value of CL and UCA for preterm birth before 34 weeks

Cervical length

There were no significant differences in CL between women with and without preterm birth before 34 weeks at 14 and 16 weeks of gestation. However, beginning at 18 weeks, CL was significantly shorter in the preterm birth group than in the non-preterm birth group ($p < 0.05$).

Table 3.18. Linear mixed model results for changes in CL and preterm birth before 34 weeks.

Source of variation	F value	p*
Intercept	3249.1	<0.001
Preterm birth (Yes/No)	17.7	<0.001
Measurement time point	3.3	0.008
Interaction between preterm birth and measurement time point	4.7	0.001

** Linear mixed model.*

CL differed significantly across gestational-age measurement points ($F = 3.3$, $p < 0.05$). A significant difference in CL was observed between women with and without preterm birth before 34 weeks ($F = 17.7$, $p < 0.001$). There was also a significant interaction between preterm birth before 34 weeks and measurement time point with respect to CL ($F = 4.7$, $p = 0.001$).

Uterocervical angle

No significant differences in UCA were observed between women with and without preterm birth before 34 weeks before 22 weeks of gestation. From 22 weeks onward, UCA was significantly greater in the preterm birth group than in the non-preterm birth group ($p < 0.05$). The magnitude of the difference at 24 weeks was greater than that observed at 22 weeks.

Table 3.20. Linear mixed model results for changes in UCA and preterm birth before 34 weeks.

Source of variation	F value	p*
Intercept	2106.0	<0.001
Preterm birth (Yes/No)	0.6	0.431
Measurement time point	2.4	0.037
Interaction between preterm birth and measurement time point	5.3	<0.001

* *Linear mixed model.*

UCA varied significantly across measurement time points ($F = 2.4$, $p < 0.05$). No overall difference in UCA was observed between women with and without preterm birth before 34 weeks ($F = 0.6$, $p > 0.05$). However, a significant interaction was found between preterm birth before 34 weeks and measurement time point with respect to UCA ($F = 5.3$, $p < 0.001$).

Association between risk factors and preterm birth before 34 weeks at each ultrasound assessment.

From 18 weeks onward, CL was inversely associated with preterm birth before 34 weeks. The ORs (95% CI) at 18, 20, 22, and 24 weeks were 0.826 (0.696–0.980), 0.798 (0.677–0.940), 0.816 (0.717–0.930), and 0.904 (0.820–0.997), respectively.

Table 3.22. Generalized estimating equation (GEE) model of CL, UCA, and maternal age in relation to preterm birth before 34 weeks.

Variable	Beta (95% Wald CI)	OR (95% CI)	p
CL	-0.127 (-0.204 to -0.050)	0.881 (0.816–0.951)	0.001
UCA	0.003 (-0.010 to 0.016)	1.003 (0.990–1.016)	0.656

* *Model adjusted for maternal age.*

A statistically significant association was observed between CL and preterm birth before 34 weeks. Each one-unit increase in CL was associated with an approximately 11.9% reduction in the odds of preterm birth at the population-average level (OR = 0.881; 95% CI: 0.816–0.951).

3.3.3. Predictors of preterm birth before 34 weeks: mRNA markers, pro-inflammatory factors, and cervical morphology

Differences in pro-inflammatory cytokines and gene expression levels according to preterm birth before 34 weeks.

There were no statistically significant differences in the concentrations of pro-inflammatory cytokines or gene expression levels between women who delivered before 34 weeks and those who did not deliver before 34 weeks.

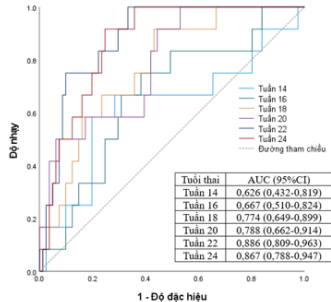


Figure 3.8. Predictive performance of the combined cervical length and uterocervical angle for preterm birth at each assessment time point.

From 22 weeks of gestation, the combination of cervical length and uterocervical angle demonstrated good predictive performance for preterm birth, with AUCs of 0.886 (95% CI: 0.809–0.963) at 22 weeks and 0.867 (95% CI: 0.788–0.947) at 24 weeks.

Combination of cervical length, uterocervical angle, and Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, APOA4, or PSME2 for predicting preterm birth before 34 weeks.

From 22 weeks of gestation, combining cervical length, uterocervical angle, and the Hsa-let-7g biomarker demonstrated good predictive performance for preterm birth before 34 weeks, with AUCs of 0.892 (95% CI: 0.812–0.972) at 22 weeks and 0.890 (95% CI: 0.822–0.958) at 24 weeks. The NAMPT model achieved the highest predictive performance, with AUCs of 0.909 (95% CI: 0.850–0.969) at 22 weeks and 0.878 (95% CI: 0.802–0.953) at 24 weeks. The APOA1 model yielded AUCs of 0.884 (95% CI: 0.805–0.969) and 0.867 (95% CI: 0.788–0.947), while the APOA4 model showed AUCs of 0.883 (95% CI: 0.797–0.969) and 0.858 (95% CI: 0.772–0.944) at 22 and 24 weeks, respectively. The PSME2 model demonstrated good predictive performance from 20 weeks onward, with AUCs of 0.803

(95% CI: 0.687–0.920) at 20 weeks, 0.887 (95% CI: 0.810–0.964) at 22 weeks, and 0.870 (95% CI: 0.794–0.947) at 24 weeks.

3.3.4. Characteristics of participants according to preterm birth before 37 weeks

3.3.5. Predictive value of CL and UCA for preterm birth before 37 weeks

Cervical length

From 16 weeks onward, CL in the preterm birth group was significantly shorter than that in the non-preterm birth group ($p < 0.05$). The difference tended to increase markedly at later measurement time points.

Table 3.26. Linear mixed model results for changes in CL and preterm birth before 37 weeks across six time points.

Source of variation	F value	p*
Intercept	7578.1	<0.001
Preterm birth (Yes/No)	15.6	<0.001
Measurement time point	1.2	0.336
Interaction between preterm birth and measurement time point	3.2	0.009

* *Linear mixed model.*

A significant difference in CL was observed between the preterm birth and non-preterm birth groups ($F = 15.6$, $p < 0.001$). There was a statistically significant interaction between preterm birth before 37 weeks and measurement time point in relation to CL ($F = 3.2$, $p < 0.05$).

Utrocervical angle

From 20 weeks onward, UCA in the preterm birth group was significantly greater than that in the non-preterm birth group ($p < 0.05$). The difference tended to increase markedly at later time points.

Table 3.28. Linear mixed model results for changes in UCA and preterm birth before 37 weeks across six time points.

Source of variation	F value	p*
Intercept	4794.2	<0.001
Preterm birth before 37 weeks (Yes/No)	4.3	0.042
Measurement time point	1.6	0.169
Interaction between preterm birth and measurement time point	6.2	<0.001

* *Linear mixed model.*

There was a significant interaction between preterm birth before 37 weeks and measurement time point in relation to UCA ($F = 6.2$, $p < 0.001$).

Associations between risk factors and preterm birth before 37 weeks at each assessment time point.

From 20 weeks onward, CL was inversely associated with preterm birth before 37 weeks, with ORs (95% CI) at 20, 22, and 24 weeks of 0.882 (0.793–0.980), 0.891 (0.813–0.977), and 0.910 (0.830–0.998), respectively. At 22 and 24 weeks, UCA was also associated with preterm birth before 37 weeks, with ORs (95% CI) of 1.039 (1.011–1.069) and 1.044 (1.018–1.072), respectively.

Table 3.30. GEE model of CL, UCA, and preterm birth before 37 weeks.

Variable	Beta (95% Wald CI)	OR (95% CI)	p
CL	-0.080 (-0.133 to -0.027)	0.923 (0.875–0.973)	0.003
UCA	0.014 (0.003–0.026)	1.014 (1.003–1.026)	0.012

** Model adjusted for twin type, current pregnancy type, preterm birth prevention treatment, and PSME2.*

Each one-unit increase in CL was associated with an approximately 7.7% decrease in the odds of preterm birth at the population-average level (OR = 0.923; 95% CI: 0.875–0.973). In contrast, each one-unit increase in UCA was associated with an approximately 1.4% increase in the odds of preterm birth at the population-average level (OR = 1.014; 95% CI: 1.003–1.026).

3.3.6. Predictors of preterm birth before 37 weeks: mRNA markers, inflammatory factors, and cervical morphology

Distribution of inflammatory marker and gene expression levels according to preterm birth before 37 weeks.

There was no significant difference in the concentrations of inflammatory markers according to pregnancy outcome. There was a significant difference in PSME2 concentrations between women who delivered before 37 weeks and those who delivered at or after 37 weeks ($p < 0.05$).

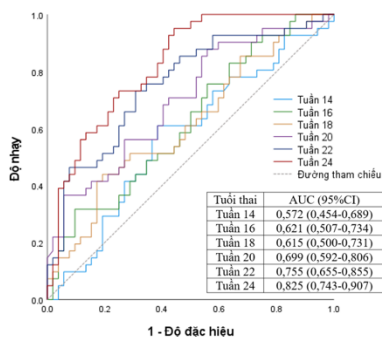


Figure 3.14. Predictive performance of the combined cervical length and uterocervical angle model for preterm birth at each assessment time point.

At 24 weeks of gestation, the combination of cervical length (CL) and uterocervical angle (UCA) demonstrated good predictive performance for preterm birth, with an AUC of 0.825 (95% CI: 0.743–0.907).

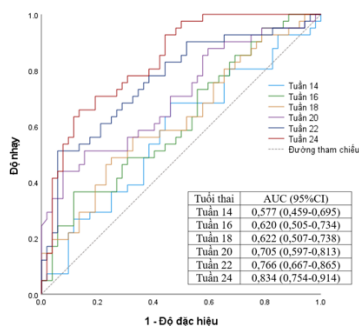


Figure 3.19. Predictive performance of the combination of CL, UCA, and PSME2 gene expression for preterm birth before 37 weeks at each assessment time point.

When CL, UCA, and PSME2 gene expression were combined, the model demonstrated very good predictive performance for preterm birth before 37 weeks at 24 weeks of gestation, with an AUC of 0.834 (95% CI: 0.754–0.914).

Combination of cervical length, uterocervical angle, and Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, and APOA4 for the prediction of preterm birth before 37 weeks

At 24 weeks of gestation, the combination of cervical length, uterocervical angle, and Hsa-let-7g demonstrated good predictive performance for preterm birth before 37 weeks, with an AUC of 0.827 (95% CI: 0.746–0.909). Similar predictive performance was observed for the combinations including NAMPT (AUC = 0.827; 95% CI: 0.745–0.909), APOA1 (AUC = 0.825; 95% CI: 0.742–0.907), and APOA4 (AUC = 0.823; 95% CI: 0.739–0.907).

Chapter 4

DISCUSSION

4.1. General characteristics of the study population

4.2. Cervical morphological changes and their associations with genomics and pro-inflammatory factors

4.2.1. Cervical morphological changes

4.2.1.1. Changes in CL during the second trimester in twin pregnancies

The percentile curves demonstrated that CL remained relatively stable between 14 and 24 weeks of gestation. However, the lower percentiles gradually decreased with advancing gestational age, reflecting the presence of a small subgroup of women experiencing early cervical shortening. The linear correlation between CL and gestational age was very weak and not statistically significant, suggesting that CL does not change uniformly across individuals. Therefore, longitudinal monitoring and the establishment of gestational age-specific percentile charts may provide greater clinical value than relying solely on a single mean measurement for identifying high-risk pregnancies.

Repeated-measures analysis showed slight increases and decreases in CL across different gestational age intervals; however, these variations were not statistically significant. Such fluctuations are likely attributable to physiological variation or measurement error rather than true structural changes of the cervix. These findings further support the notion that CL in twin pregnancies remains generally stable during the second trimester, particularly between 14 and 24 weeks of gestation, without a clear trend toward progressive shortening.

4.2.1.2. Changes in UCA during the second trimester in twin pregnancies

The percentile curves showed that the UCA remained relatively stable in most of the study population. Nevertheless, the upper percentiles consistently remained elevated, reflecting a small subgroup with early UCA widening. Compared with the existing literature, our findings are consistent with studies suggesting that UCA may have predictive value for preterm birth, particularly when combined with CL measurements. Furthermore, this study provides the first reference data on UCA distribution in a Vietnamese twin-pregnancy population.

Pairwise comparisons between gestational age intervals demonstrated slight fluctuations in UCA; however, no clear linear trend was observed between 14 and 24 weeks of gestation. This finding differs from several studies conducted in singleton pregnancies, which reported a progressive increase in UCA with advancing gestational age. Data regarding longitudinal assessment of UCA in twin pregnancies remain limited; therefore, our study contributes important evidence regarding the dynamic changes of UCA during the second trimester in twin gestations.

4.2.1.3. Changes in internal cervical os morphology during the second trimester in twin pregnancies

The internal cervical os was predominantly I-shaped between 14 and 24 weeks of gestation, accounting for 90.3%–98.9% of examinations, whereas Y-shaped and V-shaped configurations were uncommon. These findings indicate that most women with twin pregnancies had not yet developed cervical funneling during the second trimester. Nevertheless, Y-shaped and V-shaped configurations are recognized as early sonographic signs of cervical opening and are associated with an increased risk of preterm birth. In our study, two women developed a V-shaped funnel as early as 14 weeks of gestation, accompanied by a short cervix (<25 mm) and an enlarged uterocervical angle. Following emergency cervical cerclage, both pregnancies were successfully prolonged beyond 30 weeks. Although funneling was uncommon, it remains an important warning sign requiring close surveillance. Our findings suggest that combining CL, uterocervical angle, and internal cervical os morphology may improve the identification of women at risk of preterm birth compared

with CL assessment alone. This study also provides one of the first longitudinal datasets in Vietnam describing changes in internal cervical os morphology in twin pregnancies.

4.2.2. Association of mRNA and pro-inflammatory cytokines with cervical sonographic changes

The mRNA markers showed a more skewed distribution than the pro-inflammatory cytokines. Correlations between mRNA, cytokines, and CL were generally very weak. Hsa-let-7g and PSME2 showed slight inverse correlations with CL, APOA4 showed a weak positive correlation, whereas IL-1 β , IL-6, and TNF- α showed no significant associations, suggesting that single-time-point molecular measurements do not adequately reflect cervical morphological changes. In the linear mixed-effects model, NAMPT and TNF- α were associated with longitudinal changes in CL, with TNF- α demonstrating a significant time interaction. These findings suggest that NAMPT and TNF- α may better reflect cervical remodeling than the other biomarkers. Associations between biomarkers and uterocervical angle were also weak and inconsistent. Only isolated associations were observed for APOA4 at 14 weeks and PSME2 at 20–22 weeks, whereas the pro-inflammatory cytokines showed no significant relationships. Overall, uterocervical angle appears to be influenced mainly by multiple mechanical factors rather than individual molecular biomarkers.

4.3. Predictive performance of cervical morphology and genomics for preterm birth

4.3.1. Some factors associated with preterm birth

4.3.1.1. Genetic factors and preterm birth

The results showed that PSME2 was the only RNA that tended to be increased in women with preterm birth before 37 weeks, whereas Hsa-let-7g, NAMPT, APOA1, and APOA4 showed no significant differences. The association of PSME2 was no longer significant for preterm birth before 34 weeks, suggesting that these RNAs may be more closely related to late preterm birth than to very early preterm birth. Our findings are partly consistent with previous studies reporting a predictive role of PSME2 and related RNAs for preterm birth, although results have varied across populations and study designs. In this cohort of twin pregnancies at 16 weeks of gestation, circulating RNAs did not demonstrate clear standalone predictive

value and may be more useful when combined with cervical morphological parameters and clinical factors. Clinically, PSME2 appears to be a promising biomarker, but its independent predictive value remains limited. Larger prospective studies with multi-omics approaches are needed to clarify the role of circulating RNAs in predicting preterm birth in twin pregnancies.

4.3.1.2. Pro-inflammatory factors and preterm birth

4.3.1.3. CL and preterm birth

The results demonstrated that CL had greater predictive value when assessed longitudinally. For preterm birth before 34 weeks, CL became significantly shorter from 18 weeks onward, with the difference increasing at later gestational ages. In contrast, for preterm birth before 37 weeks, significant differences appeared earlier, from 16 weeks, suggesting distinct cervical shortening trajectories. These findings indicate that preterm birth before 34 and before 37 weeks may involve different mechanisms of cervical remodeling in twin pregnancies. Therefore, serial cervical assessment provides more clinically useful information than a single measurement for identifying women at high risk. Cases of early funneling and rapid cervical shortening further support the presence of a subgroup with cervical insufficiency, in whom increased mechanical stress from twin gestation may accelerate cervical remodeling and lead to preterm birth.

4.3.1.4. Uterocervical angle and preterm birth

The study showed that cervical angle was associated with preterm birth in twin pregnancies, particularly when its trajectory over time was considered rather than a single measurement. For preterm birth before 34 weeks, a significant difference in cervical angle only became apparent from 22 weeks and increased markedly at 24 weeks; whereas for preterm birth before 37 weeks, the difference appeared earlier, from 20 weeks, and continued to increase. This suggests that cervical angle reflects cervical remodeling and the mechanical effects of twin gestation, with morphological changes appearing before CL shortens clearly. Therefore, cervical angle should be considered a complementary parameter to CL in risk stratification for preterm birth, especially between 20 and 24 weeks of gestation, to improve early detection, individualized surveillance, and counseling in twin pregnancies.

4.3.2. Predictive value of combined mRNA and cervical sonographic models for preterm birth

The results showed that the combined model of CL and cervical angle had good predictive value for preterm birth in twin pregnancies, especially for the <34-week threshold, where AUC values were very high from 22 and 24 weeks. For the <37-week threshold, the model performed better at 24 weeks. This indicates that very early preterm birth shows clearer and earlier cervical morphological signals, whereas preterm birth before 37 weeks requires a later time point to show clear risk discrimination. Overall, CL is the fundamental parameter, while cervical angle improves detection of morphological abnormalities caused by mechanical stress in twin gestation, thereby enhancing predictive performance beyond either parameter alone.

The study showed that adding mRNA markers to cervical sonographic parameters only modestly improved predictive performance. NAMPT and PSME2 were the most promising markers, particularly for preterm birth before 34 weeks, whereas APOA1, APOA4, and Hsa-let-7g did not demonstrate consistent predictive value. In contrast, for preterm birth before 37 weeks, incorporating mRNA markers provided little additional benefit over the sonographic model alone. These findings suggest that NAMPT and PSME2 may reflect early inflammatory and cervical remodeling processes before sonographic changes become apparent. Overall, combining selected mRNA markers with CL and uterocervical angle may improve the prediction of early preterm birth in twin pregnancies, although the incremental benefit remains modest and requires validation in larger studies.

4.4. Strengths and limitations of the study

Strengths

This is one of the first longitudinal studies in Vietnam to comprehensively evaluate second-trimester cervical morphology in twin pregnancies, including CL, uterocervical angle, and internal cervical os morphology using serial transvaginal ultrasound from 14–24 weeks of gestation. It is also among the first exploratory studies to investigate maternal plasma cell-free RNAs in twin pregnancies. The longitudinal design enabled integration of dynamic cervical changes with genomics and pro-inflammatory cytokines to investigate their associations with preterm birth.

Limitations

The relatively small sample size makes this an exploratory, hypothesis-generating study rather than a confirmatory one. Consequently, only PSME2 showed a significant association with preterm birth, and the cervical percentile distributions should be interpreted with caution. Maternal blood samples were collected only once at 16 weeks of gestation, which may not fully capture the dynamic inflammatory processes underlying spontaneous preterm birth. Peripheral blood biomarkers are also subject to greater biological variability than cervicovaginal samples. Preventive interventions, including cervical cerclage and progesterone therapy, may have altered the natural course of cervical remodeling and influenced the longitudinal findings. Although all ultrasound examinations were performed by a single FMF-certified examiner, some intra-observer measurement variability was unavoidable.

CONCLUSIONS

Based on the longitudinal follow-up of cervical morphology in 93 women with twin pregnancies, assessed every two weeks from 14 to 24 weeks of gestation, together with maternal blood testing for mRNA and pro-inflammatory markers at 16 weeks, we drew the following conclusions:

1. Changes in cervical sonographic characteristics during the second trimester in twin pregnancies

- CL remained relatively stable overall but became significantly shorter in women who subsequently delivered preterm from 16 weeks onward, with greater shortening in those delivering before 34 weeks. Women with preterm birth were concentrated in the lower CL percentiles, particularly at 20–24 weeks.

- The UCA showed minimal overall change but became significantly larger in the preterm group from 20 weeks onward, with women delivering preterm clustered in the higher UCA percentiles.

- Internal cervical os morphology remained predominantly unchanged during the second trimester, although morphological changes occurred more frequently in women who delivered before 34 weeks.

- Preliminary analyses showed weak associations between several mRNA markers and CL, while TNF- α was independently associated

with longitudinal cervical shortening. No consistent association was found between biomarkers and UCA.

2. Predictors of preterm birth in women with twin pregnancies

- Spontaneous conception, chorionicity, and prophylactic treatment for preterm birth were associated with delivery before 37 weeks.

- Maternal IL-1 β , IL-6, and TNF- α levels at 16 weeks were not significantly associated with preterm birth.

- PSME2 was the only genomic marker significantly associated with preterm birth before 37 weeks.

- CL was independently associated with preterm birth before both 34 and 37 weeks, whereas UCA independently predicted preterm birth before 37 weeks.

- Combining cervical sonographic parameters with selected mRNA markers modestly improved prediction, with NAMPT and PSME2 providing the greatest incremental value. The best model for predicting preterm birth before 37 weeks combined CL, UCA, and PSME2 (AUC = 0.834).

RECOMMENDATIONS

- Transvaginal ultrasound assessment of CL, UCA, and internal cervical os morphology during the second trimester in twin pregnancies, with serial follow-up from 16 to 24 weeks, may help identify women with cervical insufficiency. The use of percentile distributions for CL and UCA may facilitate risk stratification and early detection of women at high risk of preterm birth before 34 weeks.

- In predicting preterm birth in twin pregnancies, cervical morphological parameters (CL, UCA, and their longitudinal changes) demonstrate good predictive performance. PSME2 may be considered for incorporation into prediction models alongside cervical morphological parameters, whereas individual pro-inflammatory cytokines did not demonstrate predictive utility.

- Future large-scale, multicenter studies should be conducted to further evaluate the prognostic value of plasma cell-free RNAs in women with twin pregnancies, particularly when combined with cervical sonographic markers. Maternal plasma RNAs may serve as an early screening tool for identifying women at increased risk of preterm birth, thereby enabling timely and individualized preventive interventions.

LIST OF PUBLICATIONS RELATED TO THE DISSERTATION

Published Papers

1. Bui Van Hieu, Pham Xuan Loc, Tran Khac Quang, Tran Ngoc Khanh, Nguyen Vu Quoc Huy, Le Minh Tam. Factors associated with preterm birth before 34 weeks in women with twin pregnancies managed at Hai Phong Medical University Hospital. Vietnam Medical Journal. 2026;560(2).
2. Bui Van Hieu, Tran Khac Quang, Tran Ngoc Khanh, Pham Xuan Loc, Pham Thi Loc, Le Minh Tam, et al. Association between interleukin-1 β , interleukin-6, and TNF- α levels, second-trimester cervical morphological changes, and preterm birth in twin pregnancies at Hai Phong Medical University Hospital. Journal of Health Sciences. 2025;3(6).
3. Bui Van Hieu, Nguyen Thi Hoang Trang, Tran Ngoc Khanh, Bui Thi Minh Phuong, Tran Khac Quang, Le Minh Tam, Nguyen Vu Quoc Huy. Second-trimester sonographic cervical morphological changes and their predictive value for preterm birth in women with twin pregnancies. Hue Journal of Medicine and Pharmacy. 2025;15(7).
4. Bui Van Hieu, Nguyen Thi Hoang Trang, Tran Ngoc Khanh, Pham Xuan Loc, Le Minh Tam, Nguyen Vu Quoc Huy. Pregnancy outcomes among women with twin pregnancies managed at Hai Phong Medical University Hospital. Vietnam Medical Journal. 2026;561(3).
5. Bui Van Hieu, Tran Khac Quang, Nguyen Vu Quoc Huy, Le Minh Tam. Predictive value of longitudinal sonographic cervical morphological changes for preterm birth in women with twin pregnancies at Hai Phong Medical University Hospital. Vietnam Journal of Obstetrics and Gynecology. Accepted for publication.
6. Bui Van Hieu, Nguyen Thi Hoang Trang, Le Minh Tam, Nguyen Vu Quoc Huy. Maternal plasma cell-free RNAs and sonographic parameters for predicting spontaneous preterm birth in twin pregnancies: A prospective cohort study. Journal of Obstetrics and Gynaecology. Accepted for publication.

Manuscripts Under Review or Awaiting Publication

1. Bui Van Hieu, Nguyen Thi Hoang Trang, Tran Ngoc Khanh, Bui Thi Minh Phuong, Tran Khac Quang, Le Minh Tam, Nguyen Vu Quoc Huy. Association between mRNA and pro-inflammatory factors with cervical morphological changes on second-trimester ultrasound in women with twin pregnancies. Hue Journal of Medicine and Pharmacy. Manuscript submitted, under review.
2. Dung Luu Vu, Hieu Bui Van, Huy Nguyen Vu Quoc, Tam Le Minh, Phuong Luong Quynh, Quang Tran Khac, Thuc Pham Van, Tung Dao Van, Thach Nguyen Hoang, Loc Pham Thi. Twelve-Day Latency Between Complete Cervical Dilation and Spontaneous Preterm Labor Onset with Serial Cytokine Profiling and Exploratory Exome Findings: A Case Report. Case Reports in Obstetrics and Gynecology. Manuscript submitted, under review.
3. Nguyen Thi Hoang Trang, Bui Van Hieu, Nguyen Vu Quoc Huy, Le Minh Tam. Distribution of Uterocervical Angle Measurements in Singleton and Twin Pregnancies from 12 to 37 Weeks of Gestation and the Prediction of Preterm Birth: A Five-Year Vietnamese Cohort Study. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. Manuscript submitted, under review.