

HUYẾT TƯƠNG GIÀU TIỂU CẦU TỰ THÂN KHÔNG CẢI THIẾN TỶ LỆ CÓ THAI Ở CHU KỲ CHUYỂN PHÔI NANG ĐÔNG LẠNH

Đỗ Ngọc Lan¹, Dương Đình Hiếu¹, Nguyễn Thanh Tùng¹
Nguyễn Ngọc Diệp¹, Nguyễn Thị Thục Anh¹, Đỗ Tiến Thành²

TÓM TẮT

Mục tiêu: So sánh kết quả có thai, thai lâm sàng, thai diễn tiến, tỷ lệ sảy thai giữa hai nhóm sử dụng liệu pháp huyết tương giàu tiểu cầu tự thân và nhóm chứng ở chu kỳ chuyển phôi nang đông lạnh. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả, hồi cứu 97 bệnh nhân (BN) chuyển phôi nang đông lạnh chất lượng tốt, khá (chuyển ít nhất 1 phôi tốt) tương đương với 97 chu kỳ chuyển phôi. BN được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm. Nhóm nghiên cứu (n = 52 BN) được hỗ trợ huyết tương giàu tiểu cầu tự thân. Trong quá trình chuẩn bị niêm mạc tử cung, BN được theo dõi tỷ lệ có thai, tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ thai diễn tiến, tỷ lệ sảy thai và được so sánh với nhóm chứng (n = 45). **Kết quả:** Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm về tỷ lệ có thai (51,11% so với 55,78%; p = 0,21), tỷ lệ thai lâm sàng (42,22% so với 51,92%; p = 0,91), tỷ lệ thai diễn tiến (40% so với 48,08%; p = 0,64), tỷ lệ sảy thai (2,2% so với 3,8%; p = 1). **Kết luận:** Chuyển phôi nang đông lạnh chất lượng tốt trên nhóm có hỗ trợ huyết tương giàu tiểu cầu tự thân trong chuẩn bị niêm mạc tử cung không khác biệt về tỷ lệ có thai, tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ thai diễn tiến, tỷ lệ sảy thai so với nhóm chứng.

* Từ khóa: Huyết tương giàu tiểu cầu tự thân; Chuyển phôi nang đông lạnh.

AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA DOES NOT IMPROVE PREGNANCY RATE IN FROZEN BLASTOCYST TRANSFER CYCLES

Summary

Objectives: To provide a comparison of the pregnancy rate, clinical pregnancy rate, ongoing pregnancy rate between platelet rich plasma group and control group in frozen blastocyst transfer. **Subjects and methods:** A retrospective, descriptive study on 97 patients in frozen blastocyst transfer (at least one good blastocyst) as 97 cycles,

¹Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y

²Khoa Toán - Tin, Học viện Quân y

Người chịu trách nhiệm: Đỗ Ngọc Lan (landn87@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 01/8/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 15/8/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v47i6.49>

52 patients in the study group received platelet rich plasma intrauterine infusion during hormone replacement therapy. Evaluation of pregnancy rate, embryo implantation rate, ongoing pregnancy rate and live birth rate in 2 groups. **Results:** There was no statistically significant difference between 2 groups in terms of pregnancy rate (51.11% vs 55.78%; $p = 0.21$), clinical pregnancy rate (42.22% vs 51.92%; $p = 0.91$), ongoing pregnancy rate (49% vs 48.08%; $p = 0.64$), miscarriage rate (2.2% vs 3.8%, $p = 1$). **Conclusion:** Frozen blastocyst transfer in group with autologous platelet rich plasma support in endometrium preparation were not different from pregnancy rates, clinical pregnancy rates, ongoing pregnancy rates, miscarriage rates compared to control group.

* *Keywords: Autologous platelet rich plasma; Frozen blastocyst transfer.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất lượng phôi và chuẩn bị niêm mạc tử cung là hai yếu tố quan trọng quyết định tỷ lệ thành công của các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh. Đông lạnh phôi bằng kỹ thuật thủy tinh hóa đã cải thiện rõ rệt tỷ lệ phôi sống, tỷ lệ có thai trong các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh [1]. Nhiều phương pháp hỗ trợ chuẩn bị niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh được nghiên cứu. Trong đó, bơm huyết tương giàu tiểu cầu tự thân vào buồng tử cung dần dần được áp dụng rộng rãi ở nhiều trung tâm.

Những nghiên cứu khởi đầu của Chang và CS năm 2015 được thực hiện trên nhóm niêm mạc mỏng cho kết quả ban đầu khả quan [2]. Các nghiên cứu sử dụng huyết tương giàu tiểu cầu tự thân chủ yếu thực hiện đối với các trường hợp niêm mạc tử cung mỏng

hoặc thất bại làm tổ nhiều lần cho kết quả cải thiện tỷ lệ có thai. Nghiên cứu của chúng tôi nhằm: *So sánh tỷ lệ có thai, thai lâm sàng, thai diễn tiến, sảy thai trên nhóm được hỗ trợ bơm huyết tương giàu tiểu cầu tự thân và nhóm chứng trong quá trình chuẩn bị nội mạc tử cung ở các đối tượng không có tiền sử thất bại làm tổ nhiều lần.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

97 chu kỳ chuyển phôi nang đông lạnh được thực hiện tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội từ tháng 01/2021 - 5/2022.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn BN:*

- BN thực hiện chu kỳ chuyển phôi nang đông lạnh tối đa 2 phôi tốt, khá (trong đó ít nhất có 1 phôi nang tốt)

- Hình ảnh chụp tử cung cho thấy vòi trứng bình thường hoặc bơm nước buồng tử cung bình thường.

** Tiêu chuẩn loại trừ:*

- Bất thường tại buồng tử cung - vòi trứng: Dính buồng tử cung, polyp buồng tử cung, ứ dịch lòng tử cung, ứ nước vòi trứng.

- Niêm mạc mỏng < 7 mm và dày > 14 mm ở ngày chuyển phôi, thất bại làm tổ liên tiếp.

- Bệnh lý huyết học: Rối loạn đông máu, hội chứng kháng phospholipid, bệnh máu khó đông.

- Yếu tố miễn dịch.

- Bất thường nhiễm sắc thể đồ.

- Viêm, nhiễm nấm âm đạo.

- Các trường hợp xin noãn, xin phôi.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả, hồi cứu.*

** Các kỹ thuật áp dụng:*

- Phác đồ kích thích buồng trứng và thu nhận noãn:

Kích thích buồng trứng sử dụng phác đồ Antagonist bắt đầu từ ngày 2 hoặc ngày 3 chu kỳ kinh, gây trưởng thành noãn bằng tiêm hCG (Ovitrelle 250 µg, Merck Serono) khi trên hình ảnh siêu âm buồng trứng có ít nhất hai nang kích thước ≥ 17 mm. Sau 36 giờ, tiêm thuốc trưởng thành noãn, noãn được chọc hút qua đường âm đạo dưới hướng dẫn của siêu âm.

- Kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intra-cytoplasmic Sperm Injection -ICSI) và nuôi phôi:

Noãn trưởng thành sẽ được thực hiện ICSI tại thời điểm 39 - 41 giờ sau khi khởi động trưởng thành noãn. Sau 16 - 18 giờ thực hiện kỹ thuật ICSI, những noãn thụ tinh bình thường được nuôi đến giai đoạn phôi nang trong môi trường LP (Life Global) ở tủ Minibenchtop (BT37, Origio).

Phôi nang được phân loại dựa trên đánh giá đồng thuận Alpha của Hiệp hội ESHRE, 2011. Phôi nang đủ tiêu chuẩn được trữ lạnh bằng kỹ thuật thủy tinh hóa sử dụng kit của hãng Kitazato.

Bảng 1: Phân loại chất lượng phôi nang tốt, khá theo đồng thuận Alpha (2011).

Phân loại	Mô tả
Tốt	Phôi có độ giãn nở ≥ 3 ; Phân loại ICM và TE là: AA, AB, BA
Khá	Phôi có độ giãn nở ≥ 3 ; Phân loại ICM và TE là: BB, CA

- Chuẩn bị niêm mạc tử cung và hỗ trợ hoàng thể trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh:

Sử dụng liệu pháp thay thế hormon bằng estradiol (Progynova; Bayer Schering Pharma, Pháp) bắt đầu vào ngày thứ 2

hoặc thứ 3 của chu kỳ kinh nguyệt sau ít nhất 2 chu kỳ chọc trứng, với liều 6 - 8 mg/ngày. Vào ngày chuyển dạng nội mạc tử cung (độ dày nội mạc tử cung ≥ 7 mm): Cả 2 nhóm đều sử dụng progesterone 800mg đặt âm đạo (Cyclogest hoặc Utrogestan) và dydrogesterone 20 mg (Duphaston) trước 5 ngày chuyển phôi. Đối với nhóm nghiên cứu, hỗ trợ bơm huyết tương giàu tiểu cầu tự thân vào buồng tử cung vào ngày chuyển dạng niêm mạc tử cung.

Sau chuyển phôi, duy trì oestradiol và progesterone trong 2 tuần. Sau 2 tuần chuyển phôi, BN xét nghiệm β hCG, có thai khi β hCG ≥ 25 mIU/mL, duy trì progesterone đến khi tuổi thai đạt 12 tuần. Sau 4 tuần chuyển phôi, BN được siêu âm xác định tim thai và theo dõi thai diễn tiến ở tuần 12.

- Quy trình chuẩn bị huyết tương giàu tiểu cầu tự thân:

Huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) được tách theo các bước tại box an toàn sinh học cấp II (theo quy trình của GeneWorld); gồm:

Bước 1: Lấy 8,5 mL máu bằng kim nối với ống chân không, vô trùng.

Bước 2: Ly tâm tách huyết tương - bạch cầu - hồng cầu, máy EBA-20, 2.000 vòng/phút trong 10 phút.

Bước 3: Hút dịch màu vàng (4 - 6 mL) bên trên cho vào ống PLASMA. Ly tâm tách huyết tương giàu tiểu cầu

(PRP) và huyết tương nghèo tiểu cầu (PPP), tốc độ 3.500 vòng/phút trong 5 phút được 2 - 3 mL huyết tương nghèo tiểu cầu phía trên và 2 - 3 mL huyết tương giàu tiểu cầu phía dưới.

Bước 4: Hút phần huyết tương nghèo tiểu cầu để lại 3mL huyết tương giàu tiểu cầu ở đáy, chuyển sang ống có chất hoạt hóa CaCl_2 , trộn đều 2 - 5 phút thấy khối đông đặc. Dùng pipet xoay đến khi khối đông đặc tách khỏi thành ống. Sau 5 - 15 phút, khối đông đặc co, hút bỏ khối này được 0,5 mL huyết tương giàu tiểu cầu.

- Quy trình bơm huyết tương vào buồng tử cung:

BN nằm tư thế sản khoa, đặt mỏ vịt, vệ sinh vùng âm đạo, cổ tử cung. Bơm 0,5mL dung dịch PRP vào buồng tử cung qua catheter Gynetic vào ngày chuyển dạng niêm mạc tử cung. Rút catheter, tháo mỏ vịt.

* Các chỉ tiêu chính đánh giá:

Tỷ lệ có thai, tỷ lệ có thai lâm sàng, tỷ lệ thai diễn tiến, tỷ lệ sảy thai ở 2 nhóm.

* Phương pháp xử lý số liệu:

Số liệu nghiên cứu được xử lý bằng chương trình SPSS 22.0. Giá trị của các trị số được trình bày dưới dạng số trung bình \pm độ lệch chuẩn. Kiểm định 2 trung bình bằng test t-student. So sánh kết quả nghiên cứu bằng nghiệm pháp χ^2 . Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của hai nhóm BN

Bảng 2: Đặc điểm BN trong nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Nhóm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$)	p
Tuổi vợ	31,89 ± 0,68	32,25 ± 0,67	0,70
BMI (kg/m ²)	21,20 ± 0,37	21,13 ± 0,33	0,90
Số năm vô sinh	3,31 ± 2,49	3,85 ± 2,99	0,35

(p được tính theo so sánh hai trung bình Independent - Samples T-Test)

Ở bảng 2, tuổi trung bình ở nhóm nhóm chứng là 31,89 ± 0,68; ở nhóm nghiên cứu là 32,25 ± 0,67, không có sự khác biệt giữa 2 nhóm (p = 0,70). Chỉ số BMI ở nhóm nghiên cứu là 21,13 ± 0,33, ở nhóm chứng là 21,20 ± 0,37, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p = 0,90. Số năm vô sinh trung bình ở nhóm chứng là 3,31 ± 2,49 và ở nhóm nghiên cứu là 3,85 ± 2,99. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p = 0,35).

Bảng 3: So sánh số lượng noãn, phôi ở 2 nhóm.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Nhóm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$)	p
Số noãn chọc hút	13,13 ± 5,54	14,13 ± 7,79	0,47
Noãn MII	11 ± 5,16	11,83 ± 6,6	0,16
Số noãn thụ tinh	10,78 ± 6,59	10,73 ± 6,65	0,70
Phôi nang	6,02 ± 3,04	5,82 ± 3,42	0,78

(p được tính theo so sánh hai trung bình Independent - Samples T-Test và χ^2)

Bảng 3 so sánh tổng số noãn thu được, số noãn trưởng thành MII, noãn thụ tinh và phôi nang giữa 2 nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

2. Kết quả có thai ở 2 nhóm nghiên cứu

Bảng 4: Kết quả có thai giữa 2 nhóm.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm chứng n = 45	Nhóm nghiên cứu n = 52	p
Có thai	23 (51,11%)	29 (55,78%)	0,21
Thai lâm sàng	19 (42,22%)	27 (51,92%)	0,91
Thai diễn tiến	18 (40%)	25 (48,08%)	0,64
Sảy thai	1 (2,2%)	2 (3,8%)	1,00

(p được tính theo kiểm định χ^2)

Kết quả có thai ở nhóm chứng là 23 (51,11%), ở nhóm nghiên cứu là 29 (55,78%), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,21$. Kết quả thai lâm sàng ở nhóm chứng và nhóm nghiên cứu lần lượt là 42,22%, 51,92%; sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,91$). Kết quả thai diễn tiến ở nhóm chứng và nhóm nghiên cứu lần lượt là 18 và 25 trường hợp, sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,64$. Có 1 trường hợp sảy thai ở nhóm chứng và 2 trường hợp sảy thai ở nhóm nghiên cứu, không khác biệt giữa 2 nhóm ($p = 1$).

BÀN LUẬN

Xu thế chuyển phôi nang ngày càng được áp dụng rộng rãi tại các trung tâm hỗ trợ sinh sản trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Nghiên cứu của Holden và CS thực hiện năm 2018 cho thấy cải thiện tỷ lệ trẻ sinh sống 49% so với phôi phân cắt với tỷ lệ chênh lệch $OR = 1,49$, 95%CI, tỷ lệ sảy thai giảm 7% ($OR = 0,93$; 95%CI) [4].

Tối ưu hóa môi trường tử cung góp phần quan trọng trong quá trình chuẩn bị niêm mạc tử cung để chuyển phôi đông lạnh. Các chu kỳ chuyển phôi

đông lạnh trong nghiên cứu này đều sử dụng liệu pháp hormon thay thế, nhóm nghiên cứu bơm huyết tương giàu tiểu cầu tự thân vào buồng tử cung vào ngày chuyển dạng. Huyết tương giàu tiểu cầu đã ứng dụng trong y học ở nhiều lĩnh vực khác nhau. Tiểu cầu là tế bào không nhân, tách từ mẫu tiểu cầu có 3 khoang là nơi dự trữ của hạt α , hạt đậm đặc và lysosomes, quan trọng nhất là những chất trong hạt α . Các hạt α ở tiểu cầu có nhiều yếu tố tăng trưởng, với hơn 60 hoạt chất sinh học khác nhau tham gia cơ chế sửa

chữa mô như hóa ứng động, tăng sinh tế bào, biệt hóa, tân tạo mạch, hình thành màng ngoại bào, tham gia miễn dịch, kháng viêm và tái tạo mô. PRP có độ tập trung tiểu cầu lớn và giải phóng lượng lớn các yếu tố tăng trưởng tự thân [3].

Nghiên cứu của Tandulwadkar và CS (2017) cho thấy bơm huyết tương giàu tiểu cầu vào buồng tử cung thúc đẩy quá trình tạo mạch máu. Sử dụng huyết tương giàu tiểu cầu trước chuyển phôi đông lạnh giúp gia tăng số lượng mạch máu được quan sát bằng siêu âm Doppler. Kết quả cho thấy độ dày và tỷ lệ thai lâm sàng tăng đáng kể [5]. Các nghiên cứu trên thế giới cũng như Việt Nam chủ yếu tập trung vào đối tượng niêm mạc mỏng và thất bại làm tổ nhiều lần. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn 2 nhóm ngẫu nhiên và đều không có tiền sử niêm mạc mỏng và thất bại làm tổ. Sau khi loại bỏ các yếu tố nhiễu về đặc điểm chung của 2 nhóm BN, noãn, phôi kết quả có thai giữa 2 nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), tỷ lệ có thai lâm sàng và thai diễn tiến không khác biệt ở 2 nhóm ($p > 0,05$). Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu của Ensieh S. và CS (2020) thực hiện ở 85 BN có tiền sử thất bại làm tổ với độ dày niêm mạc ≥ 7 mm cho kết quả không khác biệt về độ dày

niêm mạc và tỷ lệ có thai ở hai nhóm [6]. Huyết tương giàu tiểu cầu tự thân là phương pháp hỗ trợ an toàn, hiệu quả đối với những trường hợp niêm mạc tử cung mỏng và thất bại làm tổ nhiều lần. Tuy nhiên, hiệu quả đối với các trường hợp niêm mạc tử cung bình thường chưa thực sự rõ ràng.

KẾT LUẬN

Chuyển phôi nang đông lạnh chất lượng tốt trên nhóm có hỗ trợ huyết tương giàu tiểu cầu tự thân trong chuẩn bị niêm mạc tử cung không khác biệt về tỷ lệ có thai, tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ thai diễn tiến, tỷ lệ sảy thai so với nhóm chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ching-Chien Chang et al (2008). Two successful pregnancies obtained following oocyte vitrification and embryo re-vitrification; 16(3):346-349.
2. Yajie Chang et al. (2015). Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization; 8(1):1286.
3. Maryam Eftekhari et al. (2018). Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial; 57(6):810-813.

4. Emily C. Holden et al. (2018). Improved outcomes after blastocyst-stage frozen-thawed embryo transfers compared with cleavage stage: A society for assisted reproductive technologies clinical outcomes reporting system study; 110(1):89-94. e2.
5. Sunita R. Tandulwadkar et al. (2017). Autologous intrauterine platelet-rich plasma instillation for suboptimal endometrium in frozen embryo transfer cycles: A pilot study; 10(3):208.
6. Ensieh S. Tehraninejad et al. (2021). Autologous platelet - rich plasma infusion does not improve pregnancy outcomes in frozen embryo transfer cycles in women with history of repeated implantation failure without thin endometrium; 47(1):147-151.