

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ BƯỚC ĐẦU CỦA PHÁC ĐỒ KÍCH THÍCH BUỒNG TRỨNG KÉP TRONG THỤ TINH ỒNG NGHIỆM

Nguyễn Ngọc Nhất¹, Đoàn Thị Hằng¹, Nguyễn Thanh Tùng¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá số lượng và chất lượng noãn, phôi thu được của phác đồ kích thích buồng trứng kép trên nhóm bệnh nhân (BN) giảm dự trữ buồng trứng. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả, hồi cứu kết hợp tiến cứu trên 30 cặp vợ chồng điều trị vô sinh do giảm dự trữ buồng trứng tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội. BN được kích thích buồng trứng có kiểm soát pha nang trứng và pha hoàng thể trong cùng chu kỳ kinh nguyệt với tác nhân và liều lượng hormone hướng sinh dục đồng nhất. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn. Đánh giá kết quả thụ tinh, nuôi phôi và chất lượng phôi. Kiểm định ghép cặp được sử dụng để so sánh sự khác biệt các chỉ số giữa hai pha. **Kết quả:** Tổng số noãn và số noãn MII trung bình thu được ở pha hoàng thể cao hơn có ý nghĩa thống kê so với pha nang trứng ($3,73 \pm 2,52$ và $5,07 \pm 2,96$; $3,03 \pm 1,88$ và $4,33 \pm 2,82$). Tỷ lệ noãn thụ tinh của pha nang trứng và pha hoàng thể lần lượt là 85,71% (78/91) và 80,77% (105/130). Số lượng phôi ngày 3 trung bình là $2,53 \pm 1,69$ phôi ở pha nang trứng và $3,47 \pm 2,24$ phôi ở pha hoàng thể, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,051$). Tuy nhiên, số phôi ngày 5 trung bình ở pha hoàng thể lại cao hơn có ý nghĩa thống kê so với pha còn lại ($2,95 \pm 1,94$ và $2,29 \pm 1,52$, $p = 0,038$). **Kết luận:** Số lượng và chất lượng noãn, phôi thu được từ pha hoàng thể có ưu thế so với pha nang trứng. Điều đó cho thấy phác đồ kích thích buồng trứng kép có tiềm năng trong điều trị vô sinh do giảm dự trữ buồng trứng.

* *Từ khóa:* Giảm dự trữ buồng trứng; Đáp ứng buồng trứng kém; Kích thích buồng trứng kép; Kích thích pha hoàng thể.

EVALUATION OF THE PRIMARY OUTCOME OF DOUBLE OVARIAN STIMULATION PROTOCOL IN IN VITRO FERTILIZATION

Summary

Objectives: To evaluate the quantity and quality of oocytes and embryos obtained from reduced ovarian reserve patients treated by the double ovarian stimulation protocol.

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

Người phản hồi: Nguyễn Ngọc Nhất (nguyenngochnhat@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 08/4/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 24/4/2022

Subjects and methods: A descriptive, retrospective, and prospective study concluded 30 infertility couples who have been treated at the Military Institute of Clinical Embryology and Histology. The patients received controlled ovarian stimulation consisting of both follicular and luteal phase ovarian stimulation in the same cycle with identical gonadotropic agents and doses. Intracytoplasmic sperm injection was used for fertilization. Assessment of zygotes, cleavage embryos, and blastocyte embryos. **Results:** The mean number of MII, as well as total oocyte retrieved in the luteal phase stimulation were significantly higher than that in the follicular phase stimulation (3.73 ± 2.52 vs. 5.07 ± 2.96 ; 3.03 ± 1.88 vs. 4.33 ± 2.82). The fertilization rate in the follicular phase and luteal phase were 85.71% (78/91) and 80.77% (105/130), separately. The mean number of embryos at day 3 of embryonic development was 2.53 ± 1.69 in the follicular phase stimulation and 3.47 ± 2.24 in the luteal phase stimulation, there was no significant difference ($p = 0.051$). Conversely, the mean number of blastocysts obtained after the luteal phase stimulation was significantly higher than that in the other phase (2.95 ± 1.94 vs. 2.29 ± 1.52 , $p = 0.038$). **Conclusion:** The quantity and quality of oocytes and embryos obtained in the luteal phase were superior to that of the follicular phase, which showed that the double ovarian stimulation protocol had the potential for infertility treatment of patients with reduced ovarian reserve.

* *Keywords: Reduced ovarian reserve; Diminished ovarian reserve; Poor ovarian response; Double ovarian stimulation; Luteal phase stimulation.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kích thích buồng trứng là phương pháp kích thích sự phát triển của nang trứng sau giai đoạn chiều mộ thứ cấp. Điều này thường được thực hiện bằng cách tăng nồng độ hormone kích thích nang trứng (FSH) trong huyết thanh tạo môi trường thuận lợi cho các nang nhạy cảm và phụ thuộc vào hormone này tiếp tục phát triển [1]. Bên cạnh những phác đồ kích thích buồng trứng

có kiểm soát truyền thống, những năm gần đây có một số giải pháp mới với tiềm năng cải thiện kết quả điều trị, trong đó có phác đồ kích thích buồng trứng kép trong một chu kỳ kinh nguyệt [2].

Kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy: Quá trình chiều mộ thứ cấp của nang trứng xảy ra theo từng đợt sóng phát triển diễn ra liên tục kế tiếp nhau. Trong mỗi chu kỳ kinh nguyệt không

chỉ có duy nhất một đợt sóng chiều mộ thứ cấp trong pha nang trứng, mà còn có nhóm nang tiếp tục được chiều mộ trong pha hoàng thể để hoàn thành quá trình hình thành nang trứng. Đây là cơ sở để đề ra các chiến lược kích thích buồng trứng mới như kích thích buồng trứng pha hoàng thể và kích thích buồng trứng kép. Với kỳ vọng thu được số lượng noãn, phôi trong thời gian ngắn, phác đồ kích thích buồng trứng kép được áp dụng trên nhóm BN giảm dự trữ buồng trứng và nhóm BN cần được bảo tồn khả năng sinh sản trước khi điều trị ung thư [3]. Trên thực tế lâm sàng, một số nghiên cứu cho thấy số lượng và chất lượng noãn, phôi thu được trong pha hoàng thể tương đương với pha nang trứng. Tuy nhiên, vẫn còn nhiều tranh luận xung quanh hiệu quả và tính an toàn của phác đồ này [4, 5].

Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá hiệu quả thu noãn, phôi của phác đồ kích thích buồng trứng kép trên nhóm BN giảm dự trữ buồng trứng.* Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên được công bố tại Việt Nam về phác đồ này.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 02/2021 - 02/2022 trên 30 cặp

vợ chồng đang điều trị vô sinh tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* Vợ giảm dự trữ buồng trứng theo phân loại POSEIDON (AMH <1,2 ng/mL và/hoặc AFC < 5 nang), đồng ý tham gia nghiên cứu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* Bất thường giải phẫu tử cung, lạc nội mạc tử cung, tăng prolactin máu, chồng vô tinh, không thu được noãn sau lần kích trứng đầu tiên.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Các bước tiến hành:*

Kích thích buồng trứng pha nang trứng: Kích thích buồng trứng bằng phác đồ GnRH đối vận, sử dụng FSH tái tổ hợp liều 225 IU/ngày tiêm dưới da, bổ sung LH 75 IU/ngày từ ngày 2 chu kỳ kinh. GnRH đối vận 0,25 mg/ngày tiêm dưới da, từ ngày 6 tiêm FSH. Theo dõi sự phát triển nang trứng trên siêu âm ngã âm đạo, khi có từ 2 nang trứng kích thước ≥ 17 mm tiến hành định lượng estradiol, sau đó gây trưởng thành noãn bằng GnRH đồng vận và chọc hút noãn sau 36 giờ.

Kích thích buồng trứng pha hoàng thể: Sau chọc noãn 5 ngày, siêu âm đếm nang thứ cấp và cho thuốc kích thích phát triển nang trứng với cùng chủng loại, hàm lượng như lần đầu. Theo dõi sự phát triển nang trứng trên siêu âm ngả âm đạo, khi có từ 2 nang trứng kích thước ≥ 17 mm tiến hành định lượng estradiol, sau đó gây trưởng thành noãn bằng GnRH đồng vận và chọc hút noãn sau 36 giờ.

Chọc hút và đánh giá chất lượng noãn: Chọc hút noãn sau khi tiêm thuốc gây trưởng thành noãn 36 giờ, sử dụng kim chọc noãn 16 - 20G dưới hướng dẫn của đầu dò âm đạo. Trong quá trình này, BN thường được gây mê đường tĩnh mạch.

Đánh giá thụ tinh và nuôi phôi: Sau khi tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intra Cytoplasmic Sperm Injection - ICSI), sự thụ tinh được đánh giá sau 16 - 18 giờ bởi sự xuất hiện của 2 tiền nhân. Phôi được nuôi trong môi trường nuôi cấy đặc biệt có đầy đủ dưỡng chất, nhiệt độ và PH thích hợp.

Đánh giá chất lượng phôi ngày 3 (N3) và phôi ngày 5 (N5): Phôi N3 được đánh giá theo phân độ của đồng thuận Alpha 2011 dựa trên số lượng phôi bào, độ đồng đều của phôi bào, tỷ

lệ mảnh vỡ bào tương và sự xuất hiện của phôi bào đa nhân. Phôi N5 được phân loại theo tiêu chuẩn Gardner dựa trên đặc điểm của xoang phôi túi, lá nuôi và nụ phôi.

* *Các chỉ tiêu nghiên cứu:* Các kết quả chính được đo lường là số lượng noãn thu được, số lượng noãn thụ tinh bình thường, số lượng phôi N3 và phôi N5, cũng như chất lượng của các phôi này.

* *Xử lý số liệu:* Số liệu được phân tích bằng STATA 16.0. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn và tỷ lệ phần trăm. Sử dụng T-test ghép cặp và Wilcoxon Signed-rank test ghép cặp để kiểm định sự khác nhau của 2 giá trị trung bình giữa pha nang trứng và pha hoàng thể, giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: Tuổi trung bình của phụ nữ giảm dự trữ buồng trứng là $35,73 \pm 4,94$, trong đó BN trẻ nhất 22 tuổi và lớn nhất 43 tuổi. Các đặc điểm khác như chiều cao, cân nặng và chỉ số khối cơ thể đều nằm trong giới hạn bình thường.

Bảng 1: Đặc điểm noãn thu được ở pha nang trứng và pha hoàng thể.

Số noãn thu được	Pha nang trứng n (%)	Pha hoàng thể n (%)	Tổng
MII	91 (81,25)	130 (85,53)	221
MI	3 (2,68)	4 (2,63)	7
GV	15 (13,39)	9 (5,92)	24
Thối hóa	3 (2,68)	9 (5,92)	12
Tổng	112	152	264

Nhận thấy tổng số noãn pha hoàng thể nhiều hơn pha nang trứng, kiểm định ghép cặp cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,033$. Tương tự, số noãn MII thu được ở pha hoàng thể cũng nhiều hơn có ý nghĩa thống kê so với pha nang trứng với $p = 0,009$ (Bảng 2).

Bảng 2: So sánh hiệu quả thu noãn và tỷ lệ thụ tinh giữa hai pha.

Số noãn thu được	Pha nang trứng	Pha hoàng thể	p
Tổng	3,73 ± 2,52	5,07 ± 2,96	0,033
MII	3,03 ± 1,88	4,33 ± 2,82	0,009
Số noãn thụ tinh	2,60 ± 1,79	3,5 ± 2,22	0,078

Tỷ lệ noãn MII thu được từ pha nang trứng và pha hoàng thể thụ tinh sau khi tiêm ICSI lần lượt là 85,71% (78/91) và 80,77% (105/130).

Bảng 3: Số lượng và chất lượng phôi ngày 3.

Số phôi N3	Pha nang trứng	Pha hoàng thể	p
Phôi tốt	0,57 ± 1,01	0,87 ± 1,14	0,242
Phôi trung bình	1,43 ± 1,22	2,33 ± 1,67	0,006
Phôi xấu	0,53 ± 0,89	0,27 ± 0,64	0,067
Tổng	2,53 ± 1,69	3,47 ± 2,24	0,051

Bảng 3 cho thấy giá trị trung bình của tổng số phôi N3, số phôi tốt, số phôi trung bình của pha hoàng thể cao hơn pha nang trứng. Tuy nhiên, khi kiểm định

ghép cặp thì sự khác biệt về tổng số phôi thu được, số phôi tốt giữa hai pha không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ngược lại, số lượng phôi chất lượng trung bình của pha hoàng thể nhiều hơn có ý nghĩa thống kê so với pha nang trứng ($2,33 \pm 1,67$ và $1,43 \pm 1,22$, $p = 0,006$).

Bảng 4: Số lượng và chất lượng phôi ngày 5.

Số phôi N5	Pha nang trứng	Pha hoàng thể	p
Phôi tốt	$1,00 \pm 0,95$	$1,24 \pm 1,09$	0,145
Phôi trung bình	$0,90 \pm 0,77$	$1,19 \pm 0,98$	0,068
Phôi xấu	$0,38 \pm 0,67$	$0,52 \pm 0,98$	0,306
Tổng	$2,29 \pm 1,52$	$2,95 \pm 1,94$	0,038

Trong 30 BN giảm dự trữ buồng trứng, có 21 BN có phôi N5. Giá trị trung bình của số phôi N5 thu được, số phôi tốt, số phôi trung bình và số phôi kém trong pha hoàng thể đều cao hơn so với pha nang trứng. Tuy nhiên, khi kiểm định ghép cặp cho thấy chỉ có tổng số phôi N5 cao hơn có ý nghĩa thống kê ($2,95 \pm 1,94$ và $2,29 \pm 1,52$, $p = 0,038$).

BÀN LUẬN

Thời gian là yếu tố quan trọng đối với khả năng sinh sản của người phụ nữ, đặc biệt ở những BN giảm dự trữ buồng trứng. Khi dự trữ buồng trứng còn dưới ngưỡng 25.000 nang trứng nguyên thủy thì tốc độ thoái hóa nang trứng diễn ra nhanh chóng [6]. Do vậy, điều trị vô sinh ở nhóm BN này là vấn đề khó khăn bởi số lượng noãn thu được thấp. Năm 2014, Kuang và CS đã báo cáo một phác đồ mới mang lại nhiều cơ hội hơn để thu noãn trong một tháng với tên gọi phác đồ kích thích buồng trứng kép hay “phác đồ Thượng Hải”. Theo phác đồ này, lần

kích thích buồng trứng đầu tiên được gọi là kích thích pha nang trứng, trong khi kích thích pha hoàng thể được bắt đầu vào ngày tiếp theo của lần thu noãn đầu tiên [2]. Tiếp sau đó, có nhiều nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu hóa phác đồ bằng cách thay đổi tác nhân kích thích, liều lượng thuốc kích thích và khoảng thời gian giữa hai pha. Nhiều loại hormone hướng sinh dục (gonadotropin) khác nhau đã được sử dụng với liều dao động từ 150 - 300 IU/ngày, tùy thuộc vào nồng độ hormone kích thích nang cơ bản (FSH), số lượng nang trứng thứ cấp (AFC) và tuổi mẹ. Tác nhân gây

trường thành noãn chủ yếu được sử dụng là GnRH-a, tỷ lệ phôi chất lượng tốt cao hơn, do có thể cải thiện sự đồng bộ của sự phát triển nang trứng.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy số lượng và chất lượng noãn thu được từ pha hoàng thể cao hơn có ý nghĩa thống kê so với pha nang trứng. Tỷ lệ thụ tinh của noãn MII trong hai pha lần lượt là 85,71% (78/91) và 80,77% (105/130). Đồng thời số lượng phôi ngày 5 trong pha hoàng thể cao hơn có ý nghĩa thống kê. Thêm vào đó, chất lượng của những phôi thu được từ pha này cũng cao hơn. Nguyên nhân có thể do nồng độ estrogen và progesterone cao trong pha hoàng thể dẫn đến sự phát triển nang trứng đồng bộ hơn và thúc đẩy sự gia tăng của các thụ thể FSH trong tế bào hạt. Các nghiên cứu trên động vật đã báo cáo nồng độ estrogen và progesterone cao ở giai đoạn hoàng thể có thể dẫn đến sự gia tăng các yếu tố tạo mạch, do đó thúc đẩy sự nhạy cảm của tế bào hạt với FSH [7]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đương với kết quả nghiên cứu của Luo và CS (2020) về số lượng và chất lượng noãn thu được ở pha hoàng thể có phần tốt hơn so với pha nang trứng [8]. Do vậy, phác đồ kích thích buồng trứng kép cho phép tối ưu hóa sản lượng noãn thu được trong một chu kỳ kinh nguyệt, có tiềm năng tăng hiệu quả

thành công của thụ tinh ống nghiệm đối với BN giảm dự trữ buồng trứng.

Tuy nhiên, thời gian kích thích buồng trứng trong pha hoàng thể kéo dài hơn có ý nghĩa so với pha nang trứng ($11,67 \pm 1,56$ so với $9,87 \pm 1,01$, $p < 0,05$). Các nghiên cứu trước đó cũng báo cáo đặc điểm này gây ra trở ngại về kinh phí cho BN, dẫn đến tỷ lệ nhất định hủy chu kỳ [3]. Ngoài ra, do niêm mạc tử cung tiếp xúc với một lượng lớn estrogen và progesterone trong suốt quá trình kích thích buồng trứng nên trứng phôi toàn bộ là bắt buộc khi sử dụng phác đồ này [9].

KẾT LUẬN

Số lượng và chất lượng noãn, phôi thu được từ pha hoàng thể có ưu thế so với pha nang trứng. Điều đó cho thấy phác đồ kích thích buồng trứng kép có tiềm năng trong điều trị vô sinh do giảm dự trữ buồng trứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fauser B.C., Van Heusden A.M. (1997). Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences. *Endocr Rev*; 18(1): 71-106.
2. Kuang Y., Chen Q., Hong Q., et al. (2014). Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online*; 29(6): 684-691.

3. Vaiarelli A., Cimadomo D., Trabucco E., et al. (2018). Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) to maximize the number of oocytes retrieved from poor prognosis patients: a multicenter experience and SWOT analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*; 9: 317.
4. Liu C., Jiang H., Zhang W., et al. (2017). Double ovarian stimulation during the follicular and luteal phase in women ≥ 38 years: a retrospective case-control study. *Reprod Biomed Online*; 35(6): 678-684.
5. Bourdon M., Santulli P., Maignien C., et al. (2020). The ovarian response after follicular versus luteal phase stimulation with a double stimulation strategy. *Reprod Sci*; 27(1): 204-210.
6. Faddy M.J., Gosden R.G., Gougeon A., et al. (1992). Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*; 7(10): 1342-1346.
7. Macchiarelli G., Jiang J.Y., Nottola S.A., et al. (2006). Morphological patterns of angiogenesis in ovarian follicle capillary networks. A scanning electron microscopy study of corrosion cast. *Microsc Res Tech*; 69(6): 459-468.
8. Luo Y., Sun L., Dong M., et al. (2020). The best execution of the DuoStim strategy (double stimulation in the follicular and luteal phase of the same ovarian cycle) in patients who are poor ovarian responders. *Reprod Biol Endocrinol*; 18: 102.
9. Polat M., Mumusoglu S., Yarali Ozbek I., et al. (2021). Double or dual stimulation in poor ovarian responders: where do we stand?. *Ther Adv Reprod Health*; 15: 26334941211024172.