

SO SÁNH HAI PHÁC ĐỒ XÁC ĐỊNH LIỀU ĐẦU GONADOTROPIN DỰA TRÊN AMH (ANTI-MULLERIAN HORMONE) HAY AFC (ANTRAL FOLLICLE COUNT) TRONG KÍCH THÍCH BUỒNG TRỨNG THỤ TINH ỒNG NGHIỆM

Vương Thị Ngọc Lan⁽¹⁾, Hồ Mạnh Tường⁽²⁾, Nguyễn Khánh Linh⁽³⁾, Vũ Nhật Khang⁽³⁾, Nguyễn Thị Ngọc Anh⁽²⁾

(1) Bộ môn Phụ Sản, Đại học Y Dược TP.HCM

(2) Trung tâm Nghiên cứu Di truyền và Sức khỏe Sinh sản, Khoa Y, Đại học Quốc gia TP.HCM

(3) IVFAS, bệnh viện An Sinh, TP.HCM

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Gonadotropin đã được sử dụng trong kích thích buồng trứng (KTBT) từ lâu và rộng rãi, tuy nhiên, vẫn chưa có phác đồ xác định liều đầu lý tưởng của gonadotropin cho các bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm (TTON).

Mục tiêu: Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này để so sánh hiệu quả và độ an toàn của hai phương pháp định liều đơn giản, một phương pháp dựa trên Anti-Müllerian Hormone (AMH) và phương pháp còn lại dựa vào số nang noãn thứ cấp đầu chu kỳ (Antral Follicle Count- AFC) để xác định liều đầu FSH tái tổ hợp (rFSH) ở những phụ nữ KTBT trong hỗ trợ sinh sản (HTSS).

Phương pháp: Kích thích buồng trứng được thực hiện bằng phác đồ dài down-regulation. Sau 14 ngày tiêm GnRH đồng vận, các bệnh nhân được phân bố ngẫu nhiên vào phác đồ dựa trên AMH hay AFC để xác định liều đầu rFSH.

Kết quả: Số chu kỳ đạt được đáp ứng mong muốn là tương đương nhau ở cả hai nhóm AMH và AFC (36,1% so với 29%, $p = 0,2$). Tuy vậy, số chu kỳ đáp ứng quá mức lại khác biệt có ý nghĩa thống kê (8,9% ở nhóm AMH so với 17,8% ở nhóm AFC, $p = 0,02$), mặc dù tần suất của hội chứng quá kích buồng trứng (QKBT) là tương đương. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi sử dụng AMH so với AFC về tỉ lệ làm tổ của phôi, tỉ lệ

thai lâm sàng, tỉ lệ đa thai và tỉ lệ sảy thai. Tuy nhiên, sự khác biệt lại có ý nghĩa thống kê rất rõ khi so sánh phân tầng theo các ngưỡng AMH hoặc AFC.

Kết luận: Hai phác đồ định liều rFSH có hiệu quả tương đương, tuy nhiên, ngưỡng giá trị của AMH và AFC sử dụng trong 2 phác đồ cần được xác định lại. Nghiên cứu này cung cấp thông tin hữu ích để từ đó, phát triển các phác đồ xác định liều đầu rFSH cho kích thích buồng trứng dựa trên AMH hoặc AFC.

Từ khóa: follicle stimulating hormone (FSH), kích thích buồng trứng, anti-mullerian hormone (AMH), đếm nang noãn thứ cấp đầu chu kỳ (AFC).

SUMMARY

ANTI-MÜLLERIAN HORMONE (AMH) VS ANTRAL FOLLICLE COUNT (AFC) FOR DEFINING THE STARTING DOSE OF FOLLICLE-STIMULATING HORMONE (FSH) FOR ART

Introduction: Despite widespread use, the optimal starting dose of gonadotropins in controlled ovarian stimulation (COS) protocols has not been clearly established.

Objective: This study was designed to compare the efficacy and safety of two simple dosing algorithms, one based on anti-Müllerian Hormone (AMH) and the other on the antral follicle count (AFC), to determine the starting dose of recombinant follicle-stimulating hormone (r-FSH) for COS in women undergoing assisted reproductive technology (ART).

Methods: Controlled ovarian stimulation was performed using down-regulation protocol. After 14 days of GnRH agonist administration, patients were randomized to a predefined AMH- or AFC-based algorithm for determination of the r-FSH starting dose.

Results: The number of cycles with the desired response was similar when r-FSH dose was determined using AMH or AFC (36.1% vs 29%, $p = 0.2$). However, there was a significant difference between the two groups in the number of cycles with a hyper-response (8.9% in the AMH group vs 17.8% in the AFC group, $p = 0.02$), but the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) was similar. There were no significant differences between groups in outcomes per embryo transfer, including implantation, clinical pregnancy, multiple pregnancy and miscarriage. However, statistically significant differences were evident when the different predefined level subgroups of AMH or AFC were compared.

Conclusion: The two algorithms are equally effective for defining the starting dose of rFSH, however, the cut-offs need to be re-identified. This study provides useful information from which to develop protocols to further validate the use of either AMH or AFC to guide the starting dose of r-FSH in COS protocols.

Keywords: follicle stimulating hormone (FSH), controlled ovarian stimulation, anti-mullerian hormone (AMH), antral follicle count (AFC).

GIỚI THIỆU

Một công đoạn quan trọng trong các kĩ thuật hỗ trợ sinh sản (HTSS) là sử dụng follicle- stimulating hormone (rFSH) để kích thích buồng trứng [13]. Tiêm rFSH mỗi ngày giúp duy trì nồng độ FSH trên ngưỡng, từ đó thu được nhiều nang noãn phát triển và có thể

chọc hút được nhiều noãn [1]. Số noãn chọc hút được trong một chu kì kích thích buồng trứng dao động từ 5-15 noãn và có thể thay đổi theo tuổi [29,38,36,33]. Bên cạnh đó, số lượng noãn trong thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) được xem là một kết cục đánh giá sự thành công về lâm sàng [36] của một chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm.

Một chu kì kích thích buồng trứng thành công là một chu kì có sự cân bằng giữa lợi ích mong đợi và nguy cơ không mong muốn. Đáp ứng quá mức với KTBT có thể gây hủy chu kỳ vì nguy cơ hội chứng quá kích buồng trứng (HCQKBT) kèm với tỉ lệ thụ tinh thấp [27], tỉ lệ phôi trữ ít hơn [20], và tỉ lệ làm tổ thấp hơn [35]. Ngược lại, đáp ứng buồng trứng kém có thể làm tăng nguy cơ hủy chu kỳ và hạn chế cơ hội thành công trong TTTON [15,19,16]. Vì vậy, để tối ưu hóa cơ hội thành công trong KTBT, cần có phương tiện chính xác để dự đoán đáp ứng buồng trứng và điều chỉnh liều thuốc hợp lý trong quá trình kích thích buồng trứng tiếp theo [22].

Mặc dù các nhà nghiên cứu đã khảo sát một số đặc điểm lâm sàng, nội tiết, di truyền và đặc điểm siêu âm [37], người ta vẫn khó xác định yếu tố chỉ điểm đáng tin cậy cho đáp ứng buồng trứng [7,2,8]. Điều này có thể do mỗi bệnh nhân có đáp ứng với KTBT khác nhau và quá trình giảm số lượng nang noãn theo tuổi khác nhau [7]. Thêm vào đó, các test khảo sát dự trữ buồng trứng còn hạn chế trong việc dự đoán đáp ứng quá mức với KTBT [2,8].

Mặc dù các gonadotropin đã được dùng trong các phác đồ KTBT từ hơn 20 năm nay nhưng người ta vẫn chưa có phác đồ xác định liều đầu tốt nhất. Việc xác định liều đầu hiện nay chủ yếu vẫn còn dựa vào kinh nghiệm lâm sàng hơn là các bằng chứng khoa học. Cách tiếp cận này bỏ qua đáp ứng buồng trứng khác nhau giữa các cá thể khác nhau. Bên cạnh đó, một số nhóm nghiên cứu

đưa ra các mô hình định liều đầu FSH trong các phác đồ HTSS.

Trong một nghiên cứu khảo sát về tuổi, chỉ số khối (BMI), độ dài chu kỳ điều trị, tình trạng hút thuốc, số nang noãn thứ cấp đầu chu kỳ (AFC), thể tích buồng trứng, chỉ số Doppler đánh giá tưới máu mô đệm buồng trứng, nồng độ FSH, luteinizing hormone (LH), estradiol, inhibin B và testosterone, người ta nhận thấy hai yếu tố chỉ điểm quan trọng nhất của đáp ứng buồng trứng là AFC và tưới máu mô đệm buồng trứng [29]. Dựa vào kết quả nghiên cứu trên, các tác giả đưa ra một mô hình xác định liều FSH khởi đầu cần thiết để đạt số noãn lý tưởng (được định nghĩa là từ 5-14 noãn) [29,30]. Howles và cs phân tích dữ liệu từ 2280 bệnh nhân được điều trị HTSS bằng mô hình hồi quy bậc thang và sử dụng nồng độ FSH cơ bản, BMI, tuổi và AFC như là các yếu tố chỉ điểm quan trọng nhất cho đáp ứng buồng trứng [13]. Nhóm nghiên cứu CONSORT đã sử dụng 4 biến số này để phát triển thành một công thức giúp xác định liều đầu r-FSH, sau đó áp dụng trong một nghiên cứu thử nghiệm mở, không so sánh trên những phụ nữ dưới 35 tuổi. Kết quả ghi nhận việc sử dụng mô hình này giúp tăng số chu kỳ có số noãn chọc hút phù hợp cao [25]. Mới đây Yovich lại mô tả một công thức khác dựa trên nồng độ FSH, AFC vào ngày 2, AMH, BMI, tuổi và tình trạng hút thuốc, giúp giảm tần suất QKBT [39].

Tuy nhiên, các mô hình xác định liều đầu FSH trên khá phức tạp và cần phải xác định nhiều chỉ số. Fleming và cs (2006) đã đưa ra một các tiếp cận đơn giản hơn, chỉ sử dụng một chỉ số đơn độc như AFC hoặc nồng độ AMH [10]. Đo AFC là một phương pháp thông dụng để xác định dự trữ buồng trứng trước khi bắt đầu điều trị HTSS [12]. Tuy nhiên, phương pháp này có một số hạn chế. AFC đơn độc dường như không có giá trị lâm sàng cao trong dự đoán kết quả thai [2], và

để sử dụng chỉ số này thật hiệu quả, cần có sự thống nhất trong cách đo lường giữa các bác sĩ ở mỗi trung tâm và giữa các trung tâm với nhau [3].

AMH là một chất được các nang noãn tiền hốc và nang noãn nhỏ tiết vào máu. Nồng độ AMH huyết thanh biểu hiện một quần thể nang noãn đang phát triển [18]. Tuy nhiên, ngược lại với AFC, AMH được chứng minh có thể dùng trong tiên đoán tỉ lệ thai lâm sàng [23] và có thể dự đoán đáp ứng buồng trứng với KTBT [28,10,23,24]. Nó được xem như một yếu tố đầy tiềm năng giúp tối ưu hóa chi phí điều trị và giảm nguy cơ lâm sàng ở những phụ nữ điều trị HTSS [18]. Các nghiên cứu so sánh cho thấy cả AMH và AFC đều có thể tiên đoán đáp ứng quá mức [5] và đáp ứng kém với KTBT [4]. Nelson và cs. đã sử dụng chỉ số AMH để hỗ trợ lựa chọn phác đồ KTBT (agonist/ antagonist, có hoặc không kèm FSH, và ở những liều khác nhau) cho kết quả khả quan, nhất là giảm HCQKBT [23].

Lý do chính chúng tôi thực hiện nghiên cứu này là để khảo sát và phát triển một phương pháp đơn giản, hiệu quả và hữu dụng trong lâm sàng giúp cá thể hóa liều đầu FSH trong các chu kỳ HTSS. Vì vậy, chúng tôi so sánh hiệu quả và độ an toàn của hai phương pháp định liều đơn giản này, một dựa trên AMH và phương pháp còn lại dựa trên AFC, để hướng dẫn định liều đầu FSH tái tổ hợp (GONAL-f) trong KTBT ở những bệnh nhân điều trị HTSS.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đây là một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên không mù được tiến hành từ 1/10/2011 đến 31/8/2012. Định lượng FSH cơ bản, đo AFC và AMH vào ngày 2 hay 3 của chu kỳ kinh được tiến hành trong vòng 3 tháng trước khi bắt đầu thực hiện nghiên cứu. Thời điểm kết thúc nghiên cứu được xác định bằng kết quả thử thai âm tính theo quy

trình lâm sàng thường quy (đối với các bệnh nhân không có thai), hoặc thai lâm sàng xác định trên siêu âm từ 6-7 tuần sau khi chuyển phôi (đối với các bệnh nhân có thai).

DÂN SỐ NGHIÊN CỨU

Tất cả các bệnh nhân điều trị HTSS thỏa các tiêu chuẩn sau sẽ được mời tham gia vào nghiên cứu. Tiêu chuẩn nhận gồm: dưới 40 tuổi ở thời điểm bắt đầu điều trị FSH, có chỉ số khối (BMI) dưới 28 kg/m², có nồng độ FSH cơ bản ≤ 12 IU/L trong vòng 2 tháng trước khi bắt đầu điều trị phác đồ down-regulation, được điều trị bằng phác đồ dài GnRH agonist (bắt đầu từ ngày 21 của chu kỳ kinh trước) và đồng ý tham gia vào nghiên cứu. Các bệnh nhân bị loại khỏi nghiên cứu khi đang tham gia một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng khác hoặc có sử dụng đồng thời LH hoặc hCG/FSH chiết xuất từ nước tiểu trong chu kỳ nghiên cứu.

PHÁC ĐỒ TTON VÀ XÁC ĐỊNH LIỀU ĐẦU rFSH

Bệnh nhân được KTBT bằng phác đồ dài GnRH agonist (bắt đầu từ ngày 21 từ chu kỳ trước). Phác đồ down-regulation được theo dõi theo quy trình thường quy. Khi quá trình down-regulation đạt yêu cầu (nồng độ estradiol huyết thanh < 60 pmol/L), các bệnh nhân được phân chia ngẫu nhiên theo danh sách ngẫu nhiên từ máy tính để xếp vào nhánh dùng AMH hoặc AFC để xác định liều đầu FSH (GONAL-f), sử dụng một công thức định liều dựa theo đồng thuận giữa các nhà nghiên cứu lâm sàng (Bảng 1). Liều đầu tối thiểu và tối đa của rFSH lần lượt là 150 và 375 IU/ngày. Liều đầu của rFSH được cho trong 5 ngày, sau đó người nghiên cứu có thể điều chỉnh liều dựa trên những đánh giá lâm sàng.

Sự phát triển nang noãn được theo dõi bằng siêu âm và nồng độ LH và E2, bắt đầu từ ngày 5 kích thích buồng trứng sau đó mỗi 2-3 ngày phụ thuộc vào kích thước nang

noãn. Tiêu chuẩn tiêm hCG là khi ít nhất có 2 nang noãn lớn nhất đạt 17mm. Chọc hút trứng được tiến hành 36 giờ sau tiêm hCG. Chuyển phôi được thực hiện 2 ngày sau chọc hút trứng. Ở pha hoàng thể, bệnh nhân được dùng progesterone dạng gel (Crinone 8% 90mg, 2 lần 1 ngày).

Bảng 1: Liều FSH tái tổ hợp dựa trên AMH hoặc AFC

Nồng độ AMH (Nhánh 1)	Liều đầu r-FSH (IU)	AFC (trên cả hai buồng trứng) (Nhánh 2)
< 0.7 ng/mL	375	< 6
$0.7-2.1$ ng/mL	225	> 6 to ≤ 15
> 2.1 ng/mL	150	> 15

YẾU TỐ ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ

Kết cục chính là tỉ lệ bệnh nhân có đáp ứng buồng trứng phù hợp, được định nghĩa là 8-12 noãn chọc hút được. Giới hạn này dựa trên các dữ liệu trên 2818 chu kỳ chọc hút noãn năm 2010 tại IVFAS, bệnh viện An Sinh. Giới hạn dưới là 8 noãn được dựa trên quan sát là để có ít nhất 1 phôi dư để trữ lạnh thì số noãn tối thiểu là 8. Nếu số noãn dưới 8, tỉ lệ bệnh nhân có ít nhất 1 phôi trữ chỉ là 5.1%, trong khi nếu số noãn từ 8 trở lên, tỉ lệ bệnh nhân có ít nhất 1 phôi trữ là 50.8% (OR 9.1; khoảng tin cậy 95%, 3.7-16.5).

Kết cục phụ bao gồm: tỉ lệ bệnh nhân đáp ứng kém (≤ 3 noãn); tỉ lệ bệnh nhân đáp ứng quá mức (> 20 noãn); số noãn MII; số noãn chọc hút được; số noãn 2PN; số nang noãn trưởng thành > 14 mm vào ngày tiêm hCG; nồng độ E2 vào ngày hCG; liều rFSH (liều hàng ngày, thời gian điều trị, tổng liều); tỉ lệ thai lâm sàng; tỉ lệ đa thai; tỉ lệ làm tổ (túi thai có tim thai trên tổng số phôi chuyển); tỉ lệ hủy chu kỳ trước khi tiêm hCG do đáp ứng kém hoặc đáp ứng quá mức.

ĐỘ AN TOÀN

Tỉ lệ QKBT vừa và nặng được ghi nhận lại.

Tỉ lệ QKBT trung bình được định nghĩa là đau bụng vừa, buồn nôn $\pm$ nôn, dịch ổ bụng trên siêu âm và kích thước buồng trứng thường từ 8-12 cm. QKBT nặng được định nghĩa là dịch ổ bụng trên lâm sàng (thỉnh thoảng tràn dịch màng phổi), thiếu niệu, cô đặc máu (Hct > 45%), giảm protein máu và kích thước buồng trứng thường > 12 cm.

PHÂN TÍCH THỐNG KÊ

Dựa vào giả định có ít nhất 16% khác biệt về tỉ lệ bệnh nhân thu được 8-12 noãn giữa 2 nhóm AMH và AFC, với 90% năng lực mẫu và giá trị p kiểm định 2 phía là 0,05, số bệnh nhân cần là 120 người mỗi nhóm (tổng cộng 240). Ước tính tỉ lệ bỏ nghiên cứu là 10%, do đó, cỡ mẫu cuối cùng là 140 bệnh nhân mỗi nhóm (tổng cộng là 280). Mục tiêu là có 40/60/40 bệnh nhân cho các phân nhóm AMH hoặc AFC cao/ vừa/ thấp như đã định nghĩa trong công thức định liều. Tuy nhiên, sau khi 280 bệnh nhân đã được phân bố ngẫu nhiên, số bệnh nhân trong các phân nhóm AMH thấp và AFC cao không đạt yêu cầu. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục tuyển thêm bệnh nhân vào nghiên cứu với mục đích đạt được cỡ mẫu yêu cầu cho mỗi phân nhóm. Tuy nhiên, sau khi nhận đủ bệnh nhân cho phân nhóm AFC cao, chúng tôi quyết định dừng thu thập số liệu do số trường hợp có nồng độ AMH < 0.7 ng/mL rất hiếm và hầu hết bệnh nhân với nồng độ AMH trong giới hạn này thường được chọn hướng xin trứng hơn là được KTBT.

Số bệnh nhân có số noãn chọc hút 8-12 ở mỗi nhóm được so sánh bằng test Chi bình phương. Chúng tôi áp dụng đường cong ROC để phân tích các giá trị tiên đoán AMH, AFC để dự đoán tổng liều rFSH và số noãn chọc hút được. Số noãn trung bình được so sánh giữa 3 phân nhóm của AMH và AFC sử dụng test ANOVA để cho thấy sự khác biệt về số noãn, độ nhạy và độ đặc hiệu của các ngưỡng

giá trị khác nhau của AMH và AFC để dự đoán đáp ứng buồng trứng.

KẾT QUẢ

Tổng cộng có 348 bệnh nhân điều trị HTSS được nhận vào nghiên cứu. Đặc điểm bệnh nhân được tóm tắt trong bảng 2. Bệnh nhân trong hai nhóm nói chung về cơ bản khá tương đương nhau ngoại trừ những nhóm bệnh nhân được định liều bằng AMH có nồng độ AMH và AFC thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm được định liều bằng AFC. Các phân nhóm trong nhánh AFC (AFC < 6 [n = 46], 6-15 [n = 77] hay > 15 [n = 51]) đều có nồng độ AMH và AFC cao hơn các phân nhóm trong nhánh AMH (AMH < 0.7 ng/mL [n = 17], 0.7-2.1 ng/mL [n = 62] or > 2.1 ng/mL [n = 94]).

SO SÁNH ĐÁP ỨNG BUỒNG TRỨNG GIỮA 2 CÔNG THỨC ĐỊNH LIỀU DỰA TRÊN AMH VÀ AFC

Số noãn có đáp ứng với KTBT như mong muốn là tương đương ở cả 2 nhóm định liều bằng AMH hoặc AFC (Bảng 3). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm về số chu kỳ đáp ứng quá mức (Bảng 3). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê cũng được ghi nhận khi so sánh các phân nhóm của AMH hoặc AFC.

Trong nhóm dùng công thức định liều dựa trên AMH, có sự tăng có ý nghĩa về tổng liều và liều rFSH hàng ngày, và tăng có ý nghĩa số nang noãn ≥ 14 mm vào ngày tiêm hCG, số noãn, số noãn MII và số phôi khi nồng độ AMH tăng. Số chu kỳ có đáp ứng mong muốn là 5.9% ở phân nhóm AMH < 0.7 ng/mL, 38.7% ở phân nhóm 0.7-2.1 ng/mL và 38.3% ở phân nhóm > 2.1 ng/mL (p=0.02). Số chu kỳ đáp ứng kém thấp hơn có ý nghĩa ở phân nhóm có AMH thấp nhất (p<0.01).

Trong nhóm dùng công thức định liều dựa trên AFC, có sự giảm có ý nghĩa số ngày kích thích buồng trứng cũng như tổng liều và liều rFSH hàng ngày, và tăng có ý nghĩa số

nang noãn $\geq 14\text{mm}$ vào ngày hCG, số noãn, số noãn MII và số phôi khi chỉ số AFC tăng lên. Ngược với AMH, số chu kỳ có đáp ứng mong muốn không khác nhau có ý nghĩa giữa 3 phân nhóm AFC (28.9%, 35.5% và 17.6% trong nhóm AFC <6 , nhóm 6-15 nang và nhóm > 15 nang; $p=0.09$). Phân nhóm AFC <6 có đáp ứng buồng trứng kém và phân nhóm > 15 nang có đáp ứng buồng trứng nhiều hơn có ý nghĩa thống kê.

Bảng 2: Đặc điểm bệnh nhân ($n = 348$).

Đặc điểm (trung vị $\pm$ SD)	AMH ($n = 174$)	AFC ($n = 174$)
Tuổi	32.3 ± 4.0	33.1 ± 4.1
Chỉ số khối cơ thể (kg/m^2)	20.8 ± 2.1	20.8 ± 1.9
FSH (IU/L)	5.7 ± 2.5	5.8 ± 2.4
FTI	0.5 ± 0.4	0.5 ± 0.3
AMH (ng/mL)	2.6 ± 1.7	$3.1 \pm 1.9^*$
AFC	8.9 ± 4.8	$11.2 \pm 6.4^*$

* $p \leq 0.01$ so với nhóm AMH

AFC: số nang noãn thứ cấp; AMH: anti-Müllerian hormone; FSH: follicle-stimulating hormone; FTI: free testosterone index; SD: standard deviation.

Bảng 3: Dữ liệu về đáp ứng buồng trứng

Số chu kỳ (%)	AMH	AFC	p
Đáp ứng buồng trứng ($n = 338$)			
Mong muốn	36.1	29.0	0.2
Kém	10.1	4.7	0.09
Cao	8.9	17.8	0.02
Hủy chu kỳ ($n = 348$)			
Do đáp ứng kém	1.7	1.1	1.0
Do đáp ứng quá mức	0.6	0.6	1.0

SO SÁNH CÁC KẾT CỤC PHỤ GIỮA 2 CÔNG THỨC ĐỊNH LIỀU DỰA TRÊN AMH VÀ AFC

Dữ liệu về kích thích buồng trứng ở các nhóm dùng những phương pháp định liều khác nhau được trình bày trong bảng 4. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm về tỉ lệ làm tổ của phôi, tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ đa thai và tỉ lệ sẩy thai. Trong nhóm AMH, tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ đa thai, tỉ lệ sẩy thai và tỉ lệ làm tổ có khuynh hướng tăng lên theo các phân nhóm có nồng độ AMH tăng dần, nhất là với tỉ lệ thai lâm sàng. Không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các phân nhóm AFC về tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ đa thai, tỉ lệ sẩy thai và tỉ lệ làm tổ.

Bảng 4: Dữ liệu về kết cục phụ

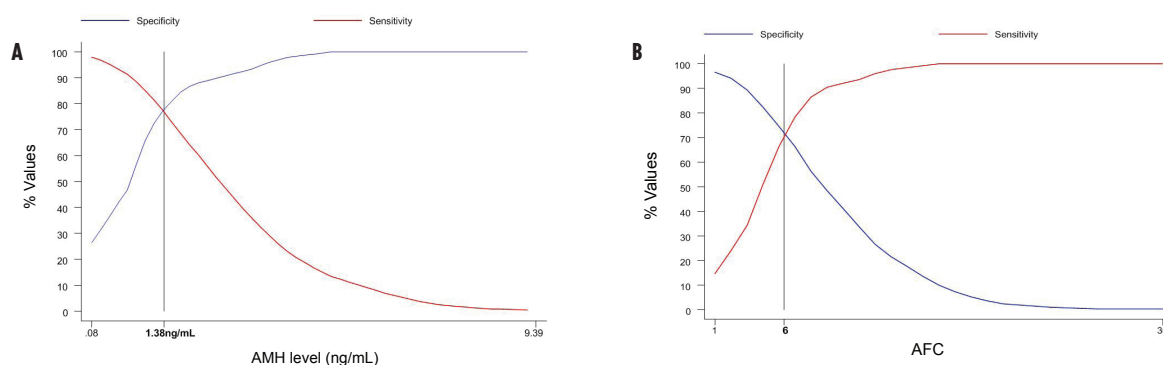
Trung bình ± SD	AMH	AFC	p
Kích thích buồng trứng	(n = 169)	(n = 169)	
Số ngày kích thích buồng trứng	11.8 ± 1.6	11.6 ± 1.3	0.2
Liều trung bình FSH			
Tổng liều (IU)	2694 ± 1053	2872 ± 1188	0.1
Mỗi ngày (IU/ngày)	224 ± 71	243 ± 84	0.03
Số nang ≥14 mm/ngày hCG	8.7 ± 4.3	10.9 ± 5.1	< 0.01
Số noãn chọc hút được	10.8 ± 6.3	13.6 ± 7.3	< 0.01
MII	8.9 ± 5.5	11.1 ± 6.4	< 0.01
Số phôi	6.3 ± 4.1	8.1 ± 4.7	< 0.01
Số phôi chuyển	3.1 ± 1.2	3.0 ± 1.4	0.5
Số phôi trữ	1.7 ± 2.5	2.7 ± 3.3	< 0.01
Kết quả / chuyển phôi (%)	(n = 158)	(n = 145)	
Beta-hCG dương tính	45.6	55.2	0.09
Tỉ lệ thai lâm sàng	38.0	46.9	0.2
Tỉ lệ đa thai	16.5	15.2	0.1
Tỉ lệ sảy thai	7.0	8.3	0.2
Tỉ lệ làm tổ của phôi	20.8	19.3	0.1

AFC: antral follicle count; AMH: anti-Müllerian hormone; hCG: human chorionic gonadotropin; n, number; SD: standard deviation.

SO SÁNH ÍCH LỢI CỦA HAI CÔNG THỨC ĐỊNH LIỀU RFSH DỰA TRÊN AMH VÀ AFC

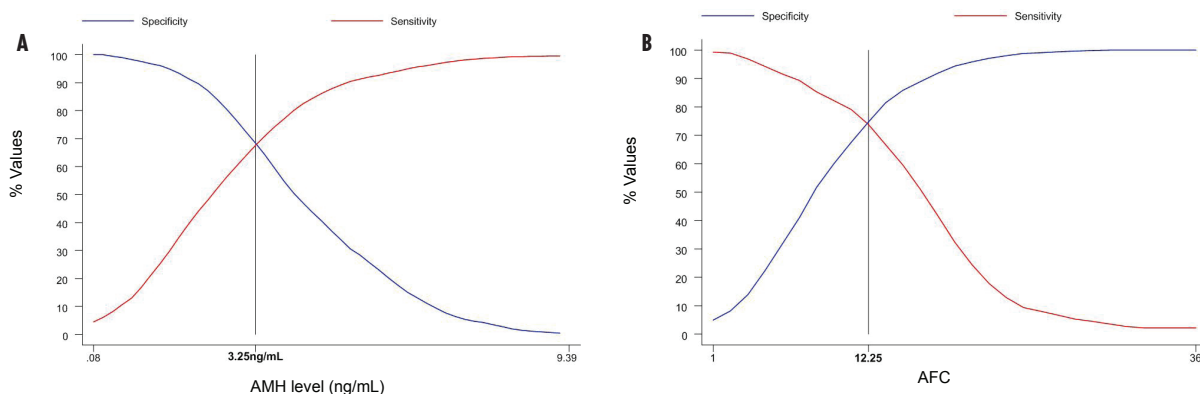
Diện tích dưới đường cong ROC của AMH, AFC và tỉ lệ AMH/AFC (khoảng tin cậy 95%) để dự đoán đáp ứng buồng trứng kém (≤ 3 noãn chọc hút được) lần lượt là 0.88 (0.81-0.95) và 0.71 (0.61-0.8), (tất cả đều có $p < 0.0001$). Các giá trị ngưỡng để dự đoán đáp ứng kém được trình bày ở hình 1.

Hình 1: Giá trị ngưỡng của AMH (A) và AFC (B) trong dự đoán đáp ứng BT kém



Đối với dự đoán đáp ứng buồng trứng quá mức (>20 noãn chọc hút được) diện tích dưới đường cong ROC (CI 95%) là có ý nghĩa thống kê ($p < 0.0001$) đối với AMH (0.76; 0.69-0.83) và AFC (0.81; 0.74-0.88), nhưng không ý nghĩa đối với tỉ lệ AMH/AFC (0.47; 0.39-0.857; $p = 0.6$). Các giá trị ngưỡng kèm theo được trình bày ở hình 2.

Hình 2: Giá trị ngưỡng của AMH (A) và AFC (B) trong dự đoán đáp ứng buồng trứng quá mức



SO SÁNH ĐỘ AN TOÀN CỦA HAI CÔNG THỨC ĐỊNH LIỀU DỰA TRÊN AMH VÀ AFC

Tần suất QKBT không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm nghiên cứu (2/174 [1.1%] trong nhóm AMH so với 8/175 [4.6%] ở nhóm AFC; $p = 0.1$). Trong nhóm AMH có 1 ca QKBT nhẹ và QKBT trung bình. Trong nhóm AFC, 2 ca QKBT nhẹ và 6 ca trung bình.

BÀN LUẬN

Nghiên cứu này cho thấy công thức định liều đầu rFSH dựa trên AMH và AFC có hiệu quả tương đương nhau do không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm về tỉ lệ chu kỳ có đáp ứng mong muốn (8-12 noãn) (với tỉ lệ lần lượt là 36.1% và 29%). Kết quả này tương tự như kết quả của một tổng quan khảo sát giá trị của AMH và AFC trong dự đoán dự trữ buồng trứng, cho thấy khả năng dự đoán đáp ứng buồng trứng của 2 chỉ số trên là tương đương nhau [4].

Trong nghiên cứu này, số chu kỳ điều trị có đáp ứng buồng trứng mong muốn (8 đến 12 noãn) là khoảng 30%. Chúng tôi khá nghiêm ngặt trong việc đưa ra tiêu chuẩn để định nghĩa đáp ứng buồng trứng mong muốn dựa vào kinh nghiệm lâm sàng của chúng tôi với mục đích các chu kỳ điều trị có phôi trữ mà không tăng nguy cơ QKBT. Các nghiên cứu khác sử dụng giới hạn rộng

hơn, chẳng hạn 5-14 noãn [29], giới hạn dưới là 5 noãn cũng giống với kết quả của Broer [4]. Các nghiên cứu trước đây khảo sát giá trị của AMH trong dự đoán đáp ứng buồng trứng có giới hạn dưới của đáp ứng buồng trứng mong đợi là 4-6 noãn [4], dưới giá trị 8 trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, các nhà nghiên cứu đều thống nhất là rất khó tiên đoán được đáp ứng buồng trứng, dẫn đến khó xác định khoảng đáp ứng buồng trứng lý tưởng, nhất là ở những dân số khác nhau như các bệnh nhân châu Á như trong nghiên cứu của chúng tôi.

Số chu kỳ có đáp ứng buồng trứng quá mức cao hơn có ý nghĩa ở nhóm AFC so với nhóm AMH (17.8% so với 8.9%; $p = 0.02$). Điều này có thể do sự khác biệt về đặc điểm cơ bản giữa 2 nhóm, dù đã được phân bố ngẫu nhiên. Đặc biệt, nồng độ AMH và chỉ số AFC trung bình cao hơn có ý nghĩa ở nhóm AFC so với nhóm AMH. Nồng độ AMH được xem là một

chất chỉ điểm tiềm năng cho các trường hợp tăng nguy cơ QKBT, với những bệnh nhân bị QKBT có nồng độ AMH cao hơn 6 lần so với nhóm chứng cùng độ tuổi và cân nặng [21]. Ngoài ra, tất cả các chu kỳ bị hủy vì nguy cơ QKBT xảy ra ở những phụ nữ có nồng độ AMH > 7 ng/mL [11,17].

Sự khác nhau về AMH và AFC giữa 2 nhóm sử dụng công thức định liều khác nhau dường như cũng là nguyên nhân cho số nang noãn ≥ 14 mm, số noãn chọc hút được, số II, số phôi và số phôi trữ cao hơn ở nhóm AFC so với nhóm AMH. Việc điều chỉnh liều rFSH trong quá trình KTBT dường như không gây tác động trên kết quả đáp ứng buồng trứng.

Một yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến kết quả của nghiên cứu này là các giá trị ngưỡng được chọn trong mỗi công thức định liều. Khi so sánh các kết cục giữa 3 phân nhóm của nồng độ AMH, hơn 70% ở những người có nồng độ AMH thấp nhất (<0.7 ng/mL) có đáp ứng buồng trứng kém và ngay cả khi tăng liều rFSH đến 375 IU vẫn khó để bù lại đáp ứng kém đó. Kết quả này cũng phù hợp với một báo cáo trước đây rằng những bệnh nhân có nồng độ AMH < 0.7 ng/mL có đáp ứng với KTBT kém và tỉ lệ thai lâm sàng thấp hơn mặc dù được dùng liều rFSH cao hơn những người có nồng độ AMH cao hơn [23]. Các giá trị ngưỡng của AMH nằm trong giới hạn từ 0.5-1.1 ng/mL đã được dùng trong các nghiên cứu trước đây để dự đoán đáp ứng buồng trứng [4,9].

Giá trị ngưỡng của AMH trong nghiên cứu này được dựa trên các nghiên cứu trước đây, thực hiện trên dân số người Anh [24]. Tuy nhiên, nồng độ AMH được ghi nhận thay đổi theo chủng tộc [32], và chưa có dữ liệu chuyên biệt của châu Á. Đáp ứng buồng trứng ở những phụ nữ gốc châu Á có thể thấp hơn những phụ nữ thuộc chủng tộc da trắng, theo số liệu được phân tích từ hơn 20,000 chu kỳ của Hội Hỗ trợ Sinh Sản (Society for

Assisted Reproductive Technology, SART) [31]. Ngưỡng AMH để dự đoán đáp ứng kém trong nghiên cứu này là 1.38 ng/mL, cao hơn đáng kể so với ngưỡng AMH dùng cho phân nhóm đáp ứng buồng trứng thấp nhất (< 0.7 ng/mL) để được nhận liều rFSH cao nhất. Vì vậy, các bệnh nhân có nồng độ AMH từ 0.7-1.38 ng/mL đã được cho liều thấp hơn cần thiết và có thể sẽ có kết quả cải thiện hơn nếu liều rFSH được sử dụng cao hơn.

So sánh số chu kỳ có đáp ứng mong đợi giữa 3 phân nhóm của AFC không cho thấy bất cứ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê nào, cho thấy rằng các giá trị ngưỡng được chọn trong công thức của nhánh AFC phù hợp hơn nhánh AMH. Ngoài ra, giá trị dự đoán đáp ứng kém của AFC trong nghiên cứu này là 6 nang noãn, khớp với định nghĩa của phân nhóm AFC thấp nhất để dùng liều FSH cao nhất. Điều này cũng phù hợp với các giá trị ngưỡng của AFC (5-7 nang) dùng trong các nghiên cứu trước đây để dự đoán đáp ứng kém [4]. Ngược lại, tỉ lệ đáp ứng quá mức trong phân nhóm AFC > 15 khá cao (37.3%) cho thấy những bệnh nhân này vẫn có đáp ứng cao ngay cả được sử dụng liều đầu là 150 IU. Có lẽ nên cân nhắc sử dụng liều thấp hơn ở những bệnh nhân này. Ngoài ra, ngưỡng AFC để dự đoán đáp ứng quá mức trong nghiên cứu này là 12.25. Vì vậy, khi dùng ngưỡng AFC >15 để nhận liều đầu rFSH là 150 IU, có một tỉ lệ những bệnh nhân có AFC từ 12.25 đến 15 thực tế đã nhận liều cao hơn mức cần thiết (225 IU thay vì 150 IU)

Để tăng tỉ lệ chu kỳ có đáp ứng buồng trứng mong đợi ở cả 2 nhóm sử dụng công thức định liều khác nhau, cần điều chỉnh các giá trị ngưỡng giúp xác định liều đầu. Nên tính đến khả năng cần giảm liều đầu rFSH ở những bệnh nhân có AMH hoặc AFC cao để giảm tỉ lệ đáp ứng quá mức. Các giải pháp để tăng liều đầu rFSH ở nhóm AMH hoặc AFC thấp nhất có thể không hiệu quả vì đường

như dự trữ buồng trứng cơ bản ở những bệnh nhân này đã rất thấp.

Dữ liệu từ nghiên cứu trên cho thấy AMH có thể thay thế AFC hoặc FSH như là yếu tố dự đoán đáp ứng buồng trứng kém [8]. Điều thú vị là, khi sử dụng cùng tiêu chuẩn ≤ 3 noãn chọc hút được, giá trị ngưỡng của đáp ứng kém ở bệnh nhân Việt Nam cao hơn các dân tộc khác (1.38 ng/mL so với 0.5-1.1 ng/mL) [2]. Ngược lại, AFC dường như là một yếu tố dự đoán đáp ứng quá mức tốt hơn AMH. Một lần nữa, giá trị ngưỡng ở người Việt Nam cũng khác với những báo cáo trước đây ở các chủng tộc khác (<4 so với <10) [2]. Điều này có thể do cách định nghĩa khác nhau về đáp ứng quá mức. Tỷ lệ AMH/AFC kém chính xác hơn AMH hay AFC đơn độc trong dự đoán đáp ứng buồng trứng kém hay quá mức.

Với một số khác biệt nhỏ, cả AMH và AFC dường như đều có thể dự đoán đáp ứng buồng trứng và giúp xác định liều đầu rFSH. Vì vậy, để áp dụng vào lâm sàng, chúng ta có thể xét thêm các yếu tố khác để lựa chọn. Các lợi điểm của AMH bao gồm ổn định trong chu kỳ [6,17,11] và có thể thực hiện vào bất cứ ngày khám nào của bệnh nhân [4]. Ngược lại, AFC cần phải được thực hiện vào đầu pha nang noãn, bởi một người siêu âm có kỹ năng [4,26] và kỹ thuật đo phải được chuẩn hóa [3].

Nghiên cứu này là một trong những nghiên cứu đầu tiên so sánh hai công thức định liều đầu rFSH cho KTBT dựa trên AMH hay AFC. Cả hai công thức đều có giá trị sử dụng trong lâm sàng nhưng cần xác định lại các giá trị ngưỡng thích hợp. Ngoài ra, cần có những khuyến cáo riêng cho từng chủng tộc và KTBT tiếp cận theo từng bệnh nhân vẫn là một mục tiêu quan trọng nhất [8].

Cần có thêm các dữ liệu trước khi sử dụng rộng rãi AMH hoặc AFC để xác định liều đầu rFSH ở các trung tâm TTTN. Thêm vào đó, cần xét cả hiệu quả kinh tế trong điều trị [34]. Tuy nhiên, nghiên cứu này đã cung cấp các thông

tin hữu ích để phát triển các phác đồ định liều đầu rFSH dựa trên AMH hay AFC nhằm cải thiện kết quả ở bệnh nhân điều trị HTSS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baird, D.T., 1987. A model for follicular selection and ovulation: lessons from superovulation. *J. Steroid Biochem.* 27, 15-23.
2. Broekmans, F.J., Kwee, J., Hendriks, D.J., Mol, B.W., Lambalk, C.B., 2006. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum. Reprod. Update* 12 (6), 685-718.
3. Broekmans, F.J., de Ziegler, D., Howles, C.M., Gougeon, A., Trew, G., Olivennes, F., 2010. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil. Steril.* 94 (3), 1044-1051.
4. Broer, S.L., Mol, B.W.J., Hendriks, D., Broekmans, F.J.M., 2009. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil. Steril.* 91 (3), 705-714.
5. Broer, S.L., Dölleman, M., Opmeer, B.C., Fauser, B.C., Mol, B.W., Broekmans, F.J., 2011. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 17 (1), 46-54.
6. Cook, C.L., Siow, Y., Taylor, S., Fallat, M.E., 2000. Serum mullerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil. Steril.* 73, 859-861.
7. Faddy, M.J., 2000. Follicle dynamics during ovarian aging. *Mol. Cell Endocrinol.* 163, 43-48.
8. Fauser, B.C.J.M., Diedrich, K., Devroey, P., Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group 2007., 2008. Predictors of ovarian response: progress towards individualized treatment in ovarian induction and stimulation. *Hum. Reprod. Update* 14 (1), 1-14.
9. Ferraretti, A.P., La Marca, A., Fauser, B.C.J.M., Tarlatzis, B., Nargund, G., Gianaroli, L., on behalf of the ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition, 2011. ESHRE consensus on the definition of 'poor

response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum. Reprod.* 26 (7), 1616–1624.

10. Fleming, R., Deshpande, N., Traynor, I., Yates, R.W., 2006. Dynamics of FSH-induced follicular growth in subfertile women: relationship with age, insulin resistance, oocyte yield and anti-Müllerian hormone. *Hum. Reprod.* 21, 1436–1441.

11. Hehenkamp, W.J., Looman, C.W., Themmen, A.P., de Jong, F.H., Te Velde, E.R., Broekmans, F.J., 2006. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial variation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 4057–4063.

12. Hendriks, D.J., Mol, B.W., Bancsi, L.F., te Velde E.R., Broekmans, F.J., 2005. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil. Steril.* 83, 291–301.

13. Howles, C.M., Ezcurra, D., Homburg, R., 2012. Ovarian stimulation protocols in assisted reproductive technology: an update. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 7, 319–330.

14. Howles, C.M., Saunders, H., Alam, V., Engrand, P., 2006. Predictive factors and a corresponding treatment algorithm for controlled ovarian stimulation in patients treated with recombinant human follicle stimulating hormone (follicitropin alfa) during assisted reproduction technology (ART) procedures. An analysis of 1378 patients. *Curr. Med. Res. Opin.* 22, 907–918.

15. Jenkins, J.M., Davies, D.W., Devonport, H., Anthony, F.W., Gadd, S.C., Watson, R.H., Masson, G.M., 1991. Comparison of 'poor' responders with 'good' responders using a standard buserelin/human menopausal gonadotrophin regime for in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 6, 918–921.

16. Kailasam, C., Keay, S.D., Wilson, P., Ford, W.C.L., Jenkins, J.M. 2004. Defining poor ovarian response during IVF cycles, in women aged <40 years, and its relationship with treatment outcome. *Hum. Reprod.* 19 (7), 1544–1547.

17. La Marca, A., Guilini, S., Tirelli, A., Bertucci, E., Marsella, T., Xella, S., Volpe, A., 2007. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum. Reprod.* 22, 766–771.

18. La Marca, A., Sighinolfi, G., Radi, D., Argento, C., Baraldi, E., Carducci Artenisio, A., Stabile, G., Volpe, A., 2010. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum. Reprod. Update* 16 (2), 113–130.

19. Lashen, H., Ledger, W., Lopez-Bernal, A., Barlow, D. 1999. Poor responders to ovulation induction: is proceeding to in-vitro fertilisation worthwhile?. *Hum. Reprod.* 14 (4), 964–969.

20. Meniru, G.I., Craft, I.L., 1997. Utilization of retrieved oocytes as an index of the efficiency of superovulation strategies for in-vitro fertilization treatment. *Hum. Reprod.* 12 (10), 2129–2132.

21. Nakhuda, G.S., Chu, M.C., Wang, J.G., Sauer, M.V., Lobo R.A., 2006. Elevated serum mullerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 85, 1541–1543.

22. Nardo, L.G., Fleming, R., Howles, C.M., Bosch, E., Hamamah, S., Ubaldi, F.M., Hugues, J-N., Balen, A.H., Nelson, S.M., 2011. Conventional ovarian stimulation no longer exists: welcome to the age of individualized ovarian stimulation. *Reprod. Biomed. Online* 23, 141–148.

23. Nelson, S.M., Yates, R.W., Fleming, R., 2007. Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles implications for individualization of therapy. *Hum. Reprod.* 22, 2414–2421.

24. Nelson, S.M., Yates, R.W., Lyall, H., Jamieson, M., Traynor, I., Gaudoin, M., Mitchell, P., Ambrose, P., Fleming, R., 2009. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum. Reprod.* 24 (4), 867–875.

- 25.** Oliiviennes, F., Howles, C.M., Borini, A., Germond, M., Trew, G., Wiklund, M., Zegers-Hochschild, F., Saunders, H., Alam, V., 2009. Individualizing FSH dose for assisted reproduction using a novel algorithm: the CONSORT study. *Reprod. Biomed. Online* 18 (2), 195-204.
- 26.** Pache, T.D., Wladimiroff, J.W., de Jong, F.H., Hop, W.C., Fauser, B.C.J.M., 1990. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertil. Steril.* 20, 270-275.
- 27.** Pellicer, A., Ruiz, A., Castellvi, R.M., Calatayud, C., Ruiz, M., Tarin, J.J., Miró, F., Bonilla-Musoles F., 1989. Is the retrieval of high numbers of oocytes desirable in subjects treated with gonadotrophin-releasing hormone analogues (GnRHa) and gonadotrophins? *Hum. Reprod.* 4 (5), 536-540.
- 28.** Penarrubia, J., Fabregues, F., Manau, D., Casals, G., Casamitjana, R., Carmona, F., Vanrell, J.A., Balasch, J., 2005. Basal and stimulation day 5 anti- Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum. Reprod.* 18, 2275-2282.
- 29.** Popovic-Todorovic, B., Loft, A., Lindhard, A., Bangsboll, S., Andersson, A.M., Nyboe Anderson, A., 2003a. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standard' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum. Reprod.* 18 (4), 781-787.
- 30.** Popovic-Todorovic, B., Loft, A., Bredkjaer, H.E., Bangsboll, S., Nielsen, I.K., Andersen A.N., 2003b. A prospective randomized clinical trial comparing an individual dose of recombinant FSH based on predictive factors versus a 'standard' dose of 150 IU/day in 'standard' subjects undergoing IVF/ICSI treatment. *Hum. Reprod.* 18 (11), 2275-2282.
- 31.** Purcell, K., Schembri, M., Frazier, L.M., Rall, M.J., Shen, S., Croughan, M., Grainger, D.A., Fujimoto, V.Y., 2007. Asian ethnicity is associated with reduced pregnancy outcomes after assisted reproductive technology. *Fertil. Steril.* 87 (2): 297-302.
- 32.** Seifer, D.B., Golub, E.T., Lambert-Messerlian, G., Benning, L., Anastos, K., Watts, D.H., Cohen, M.H., Karim, R., Young, M.A., Minkoff, H., Greenblatt, R.M., 2009. Variations in serum müllerian inhibiting substance between white, black, and Hispanic women. *Fertil. Steril* 92 (5), 1674-1678.
- 33.** Sunkara, S.K., Rittenberg, V., Raine-Fenning, N., Bhattacharya, S., Zamora, J., Coomarasamy, A., 2011. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum. Reprod.* 26 (7), 1768-1774.
- 34.** Usta, T., Oral, E., 2012. Is the measurement of anti-Müllerian hormone essential? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 24 (3), 151-157.
- 35.** van der Gaast, M.H., Beckers, N.G., Beier-Hellwig, K., Beier, H.M., Macklon, N.S., Fauser, B.C., 2002. Ovarian stimulation for IVF and endometrial receptivity - the missing link. *Reprod. Biomed. Online* 5 Suppl 1 (3), 36-43.
- 36.** van der Gaast, M.H., Eijkemans, M.J., van der Net, J.B., de Boer, E.J., Burger, C.W., van Leeuwen, F.E., Fauser, B.C.J.M., Macklon, N.S., 2006. Optimum number of oocytes for a successful first IVF treatment cycle. *Reprod. Biomed. Online* 13 (4), 476-480.
- 37.** van Santbrink, E.J., Eijkemans, M.J., Laven, J.S., Fauser, B.C., 2005. Patient-tailored conventional ovulation induction algorithms in anovulatory infertility. *Trends Endocrinol. Metab.* 16 (8), 381-389.
- 38.** Yih, M.C., Spandorfer, S.D., Rosenwaks, Z., 2005. Egg production predicts a doubling of in vitro fertilization pregnancy rates even within defined age and ovarian reserve categories. *Fertil. Steril.* 83 (1), 24-29.
- 39.** Yovich, J., Stanger, J., Hinchliffe, P., 2012. Targeted gonadotrophin stimulation using the PIVET algorithm markedly reduces the risk of OHSS. *Reprod. Biomed. Online* 24 (3), 281-292.