

Hiệu quả của phác đồ trưởng thành noãn kép trong thụ tinh ống nghiệm ở bệnh nhân có đáp ứng buồng trứng bình thường

Effect of the dual trigger protocol for final follicular maturation for normal responders in IVF cycles

Đoàn Thị Hằng, Trịnh Thế Sơn,
Đỗ Ngọc Lan, Nguyễn Minh Phương

Học viện Quân y

Tóm tắt

Mục tiêu: So sánh kết quả số noãn thu được, số noãn trưởng thành và kết quả phôi giữa hai nhóm gây trưởng thành noãn bằng hCG (Human Chorionic Gonadotropin) đơn thuần và hCG kết hợp GnRH agonist (GnRHa) ở nhóm bệnh nhân đáp ứng buồng trứng bình thường. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu được thực hiện trên 175 bệnh nhân đáp ứng buồng trứng mức độ vừa thực hiện các chu kỳ thụ tinh ống nghiệm tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y được chia làm hai nhóm. **Kết quả:** Số noãn trưởng thành ($7,56 \pm 4,01$ và $6,23 \pm 3,13$, $p=0,015$), số noãn thụ tinh ($5,44 \pm 3,57$ và $4,29 \pm 2,74$, $p=0,018$), số phôi ngày 3 ($4,92 \pm 2,98$ và $3,89 \pm 2,38$, $p=0,012$), số phôi ngày 5 ($3,38 \pm 2,44$ và $2,52 \pm 1,95$, $p=0,011$), số phôi ngày 5 tốt ($1,48 \pm 1,71$ và $0,97 \pm 1,41$, $p=0,030$). **Kết luận:** Sử dụng phác đồ trưởng thành noãn kép làm tăng số lượng noãn trưởng thành, số noãn thụ tinh và số lượng phôi ngày 3, phôi ngày 5 cũng như phôi ngày 5 chất lượng tốt so với sử dụng hCG đơn thuần trên nhóm bệnh nhân đáp ứng buồng trứng bình thường.

Từ khóa: Trưởng thành noãn kép, hCG, đáp ứng buồng trứng bình thường.

Summary

Objective: To compare the results of the number of oocytes, the number of mature oocytes and the number of embryo between the two groups which are hCG (Human Chorionic Gonadotropin) alone group and hCG combined with GnRH agonist (GnRHa) in the group of patients who responded to the application. **Subject and method:** The study was conducted on 175 patients who met the intensity of just performing in vitro fertilization cycles at the Military Institute of clinical Embryology and Histology, Vietnam Military Medical University, divided into two groups. **Result:** Number of mature oocytes (7.56 ± 4.01 and 6.23 ± 3.13 , $p=0.015$), number of fertilized oocytes (5.44 ± 3.57 and 4.29 ± 2.74 , $p=0.018$), number of explosions on day 3 (4.92 ± 2.98 and 3.89 ± 2.38 , $p=0.012$), number of invitations on day 5 (3.38 ± 2.44 and 2.52 ± 1.95 , $p=0.011$), good number born on day 5 (1.48 ± 1.71 and 0.97 ± 1.41 , $p=0.030$). **Conclusion:** Using the dual trigger increases the number of mature oocytes, the number of 2PN embryos and the number of day 3 embryos, blastocysts as well as good quality day 5 embryos compared to using hCG alone in normal ovarian responders.

Keywords: Dual trigger, hCG, normal ovarian response.

Ngày nhận bài: 03/11/2023, ngày chấp nhận đăng: 27/11/2023

Người phản hồi: Đoàn Thị Hằng, Email: doanthihang@vmmu.edu.vn - Học viện Quân Y

1. Đặt vấn đề

Ở người, sự rụng trứng tự phát xảy ra trước sự gia tăng của cả hai hormone FSH và LH, được cho là gây ra sự trưởng thành trứng cuối cùng. Trong phác đồ kích thích buồng trứng có kiểm soát (COS) thông thường, sự trưởng thành trứng được kích hoạt bằng một liều duy nhất gonadotropin màng đệm ở người (hCG), hCG hoạt động như một chất thay thế cho đỉnh LH nội sinh để tạo ra sự hoàng thể hóa của các tế bào hạt. Tuy nhiên, do quá trình hoàng thể hóa kéo dài nên việc sử dụng hCG để gây trưởng thành noãn sẽ làm tăng nguy cơ quá kích buồng trứng ở các bệnh nhân có nguy cơ cao [1]. Để làm giảm nguy cơ này ở các chu kỳ dùng phác đồ đối vận GnRH (GnRH antagonist), chất đồng vận GnRH (GnRH agonist) đã được đưa vào sử dụng để gây trưởng thành noãn thay cho hCG do có tác dụng làm giải phóng FSH và LH nội sinh với một lượng thấp hơn và thời gian bán hủy ngắn hơn. Trưởng thành noãn bằng GnRH agonist cũng được chứng minh giúp thu được số lượng noãn trưởng thành cao hơn [2]. Tuy vậy, phác đồ này làm giảm tỷ lệ mang thai và tỷ lệ trẻ sinh sống, tăng tỷ lệ sảy thai sớm và cần phải hỗ trợ hoàng thể đáng kể hơn [3].

Từ những ưu và nhược điểm trên, các nhà lâm sàng đã bắt đầu sử dụng phối hợp hCG và chất đồng vận GnRH để gây trưởng thành noãn (trưởng thành noãn kép) với mong muốn cải thiện sự trưởng thành của tế bào noãn đồng thời cung cấp sự hỗ trợ bền vững hơn cho pha hoàng thể [4]. Đã có nhiều nghiên cứu được tiến hành trên những nhóm đối tượng bệnh nhân khác nhau và kết quả cũng còn nhiều ý kiến trái chiều, đặt ra câu hỏi là liệu phác đồ trưởng thành noãn kép có thực sự cải thiện được sự trưởng thành của tế bào noãn so với việc sử dụng hCG đơn thuần hay không. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Đánh giá hiệu quả của phác đồ trưởng thành noãn kép trên nhóm đáp ứng buồng trứng bình thường ở các chu kỳ IVF/ICSI sử dụng phác đồ đối vận GnRH (GnRH antagonist) để kích thích buồng trứng.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Các bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm thực hiện trên nhóm phụ nữ đáp ứng buồng trứng bình thường từ tháng 6/2022 đến tháng 6/2023 được lựa chọn và chia ngẫu nhiên thành hai nhóm:

Nhóm 1: 85 bệnh nhân được sử dụng hCG gây trưởng thành noãn.

Nhóm 2: 90 bệnh nhân được sử dụng hCG kết hợp với GnRH agonist (GnRHa) gây trưởng thành noãn.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân siêu âm vào ngày thứ 2 của chu kỳ kinh có từ 6-20 nang thứ cấp kích thước từ 2-9mm, nồng độ AMH > 1ng/ml, chu kỳ kích thích buồng trứng sử dụng phác đồ GnRH antagonist.

Tiêu chuẩn loại trừ: Lạc nội mạc tử cung, các khối u buồng trứng, tiền sử phẫu thuật vùng chậu, bất thường đường sinh dục và tử cung, bệnh nhân hiến noãn.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả có so sánh.

Cỡ mẫu:

$$n = \frac{[z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta}]^2 [p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)]}{(p_1 - p_2)}$$

Trong đó:

n: Cỡ mẫu tối thiểu cho mỗi nhóm.

$z_{1-\alpha/2}$: Hệ số tin cậy, với độ tin cậy 95% ($\alpha = 0,05$) thì $z_{1-\alpha/2} = 1,96$.

$z_{1-\beta}$: Hệ số lực mẫu, với lực mẫu 80% ($\beta = 0,20$) thì $z_{1-\beta} = 0,84$.

P_1 tỷ lệ có thai lâm sàng ở nhóm 1.

P_2 tỷ lệ thai lâm sàng của nhóm 2.

Căn cứ vào kết quả nghiên cứu của tác giả Haas và cộng sự (2020) [5].

chúng tôi chọn $p_1 = 0,23$, $p_2 = 0,43$.

Thay số vào công thức tính được cỡ mẫu cho mỗi nhóm $n = 82,7$. Chúng tôi lấy cỡ mẫu cho nhóm 1 là 85, nhóm 2 là 90 bệnh nhân.

2.2.2. Các bước tiến hành nghiên cứu

Phác đồ kích thích buồng trứng:

Kích thích buồng trứng bằng phác đồ GnRH antagonist sử dụng recombinant Follicle Stimulating Hormone (rFSH) (Gonal F với liều 150-275IU, Merck Serono S.p.A-Italy). Sau khi tiêm đến ngày 6 được bổ sung GnRH α (Cetrotide®, 250 μ g, Merck Serono) và duy trì tới ngày trigger (ngày gây trưởng thành noãn). Bệnh nhân được trưởng thành noãn khi có 2 nang kích thước từ 18mm hoặc 3 nang kích thước từ 17mm trở lên. Nhóm dual trigger sử dụng phối hợp Ovitrelle®, 250 μ g, Merck Serono và Diphereline®, 0,2mg, Ipsen Pharma Biotech đều sử dụng đường tiêm dưới da. Nhóm hCG đơn thuần sử dụng Ovitrelle®, 250 μ g, Merck Serono tiêm dưới da. Sau 36h, tiến hành chọc hút noãn đối với tất cả bệnh nhân dưới hướng dẫn của siêu âm đầu dò âm đạo.

Đánh giá chất lượng noãn, quy trình ICSI và nuôi phôi:

Noãn được đánh giá sự trưởng thành dựa vào sự xuất hiện của thể cực. Noãn trưởng thành (MII) được xác định bằng sự hiện diện của thể cực thứ nhất. Noãn ở giai đoạn túi mầm (MI, GV), noãn thoái hóa (TH).

Noãn trưởng thành sẽ được thực hiện ICSI (Intra-cytoplasmic Sperm Injection - tiêm tinh trùng vào bào tương noãn) tại thời điểm 39-41 giờ sau khi khởi động trưởng thành noãn.

Sau 16-18 giờ thực hiện kỹ thuật ICSI, đánh giá sự thụ tinh với sự hiện diện của các thể cực và 2 tiền nhân. Những noãn thụ tinh bình thường được nuôi đến giai đoạn phôi ngày 5 trong môi trường LP (Life Global) ở tủ Minibenchtop (BT37, Origio).

Phôi ngày 5 được phân loại dựa trên đánh giá đồng thuận Alpha của hiệp hội ESHRE 2011. Phôi ngày 5 tốt là phôi có độ giãn nở ≥ 3 và phân loại ICM và TE là: AA, AB, BA. Phôi ngày 5 khá là phôi có độ giãn nở ≥ 3 với phân loại ICM và TE là: BB.

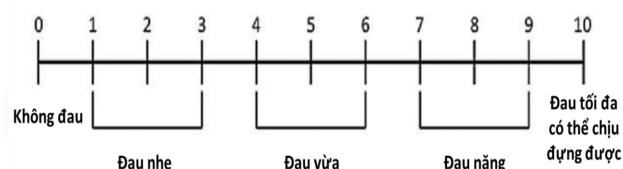
Quá kích buồng trứng

Hội chứng quá kích buồng trứng bao gồm quá kích buồng trứng sớm và muộn. Các chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm đều đông lạnh phôi toàn bộ nên chúng tôi chỉ khảo sát các triệu chứng và mức độ

quá kích buồng trứng ở thời điểm sau chọc hút noãn 2 ngày và 7 ngày.

Bảng 1. Phân loại hội chứng quá kích buồng trứng theo Bahia và cộng sự [6]

Phân loại	Kích thước buồng trứng trên siêu âm	Triệu chứng
Nhẹ	8cm	đau tức bụng, khó chịu
Vừa	12cm, dịch ổ bụng nhiều	mức nhẹ + chướng bụng, buồn nôn, nôn, tiêu chảy
Nặng	> 12cm, dịch ổ bụng, dịch màng phổi	mờ vừa + khó thở, thiếu niệu



Hình 1. Thang đánh giá đau bằng số (NRS) [7]

2.2.3. Các chỉ tiêu đánh giá

Số nang thứ cấp siêu âm ngày 2 chu kỳ kinh (nang AFC)

AMH (ng/ml).

Tổng số noãn.

Số noãn MII.

Số 2PN.

Số phôi ngày 3.

Số phôi ngày 5 tốt.

Số phôi ngày 5 trung bình.

Số phôi ngày 5 kém.

Dấu hiệu quá kích buồng trứng.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý bằng chương trình STATA 14.0. 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 $p < 0,05$.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm chung của hai nhóm đối tượng nghiên cứu

Bảng 2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của hai nhóm đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm \ Nhóm	Dual trigger (n = 85)	hCG trigger (n = 90)	p
Tuổi (năm)	34,22 ± 4,73	35,14 ± 4,81	0,204
BMI (kg/m ²)	22,04 ± 4,97	21,41 ± 3,32	0,327
Loại vô sinh			
Nguyên phát (loại I)	27/85 (31,76%)	22/90 (24,44%)	0,281
Thứ phát (loại II)	58/85 (68,24%)	68/90 (75,56%)	
Thời gian vô sinh (năm)	4,33 ± 3,37	4,27 ± 2,87	0,894
AFC (nang)	11,84 ± 3,84	10,91 ± 4,14	0,129
AMH (ng/ml)	2,38 ± 1,25	2,31 ± 1,72	0,768
Prolactin	409,88 ± 374,85	431,89 ± 443,39	0,724
FSH (IU/l)	5,92 ± 1,51	6,62 ± 3,86	0,121
LH (IU/l)	5,27 ± 1,96	5,35 ± 1,69	0,781
Estradiol (E2) (pg/ml)	33,39 ± 16,07	34,31 ± 11,39	0,659

Sự khác biệt về đặc điểm lâm sàng, số nang AFC trên siêu âm ở ngày 2 chu kỳ kinh nguyệt cũng như các chỉ số nội tiết tố giữa hai nhóm đối tượng nghiên cứu là không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3. Đặc điểm về quá trình kích thích buồng trứng của hai nhóm đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm \ Nhóm	Dual trigger (n = 85)	hCG trigger (n = 90)	p
Tổng liều FSH (IU)	2387,65 ± 441,16	2453,63 ± 499,16	0,357
Số ngày KTB (ngày)	9,74 ± 0,99	9,72 ± 1,06	0,903
Số nang ≥ 14mm ngày trigger	9,52 ± 3,59	9,17 ± 3,71	0,553
Nồng độ E2 ngày trigger	2934,04 ± 1327,59	2973,73 ± 1942,75	0,876
Tỷ lệ quá kích buồng trứng (%)	2/85 (2,35)	2/90 (2,22)	0,954

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tổng liều FSH được sử dụng, số ngày kích thích buồng trứng, số nang ≥ 14mm và nồng độ estradiol ngày trigger giữa hai nhóm nghiên cứu. Tỷ lệ quá kích buồng trứng giữa hai nhóm cũng không có sự khác biệt, trong đó chúng tôi ghi nhận 2 trường hợp quá kích buồng trứng mức độ nhẹ ở nhóm trưởng thành noãn kép, 1 trường hợp mức độ nhẹ và 1 trường hợp mức độ vừa ở nhóm trưởng thành noãn bằng hCG đơn thuần.

3.2. Đặc điểm về kết quả noãn, phôi thu được của hai nhóm nghiên cứu

Bảng 4. Đặc điểm về kết quả noãn, phôi

Đặc điểm \ Nhóm	Dual trigger (n = 85)	hCG trigger (n = 90)	p
Tổng số noãn (noãn)	9,29 ± 4,54	8,01 ± 3,82	0,044
Số noãn MII (noãn)	7,56 ± 4,01	6,23 ± 3,13	0,015
Số 2PN	5,44 ± 3,57	4,29 ± 2,74	0,018
Tỷ lệ thụ tinh (%)	72,21 ± 21,55	70,92 ± 25,55	0,721

Đặc điểm \ Nhóm	Dual trigger (n = 85)	hCG trigger (n = 90)	p
Số phôi N3	4,92 ± 2,98	3,89 ± 2,38	0,012
Số phôi N5	3,38 ± 2,44	2,52 ± 1,95	0,011
Số phôi tốt N5	1,48 ± 1,71	0,97 ± 1,41	0,030
Số phôi trung bình N5	1,08 ± 1,26	1,02 ± 1,06	0,732
Số phôi kém N5	0,81 ± 0,81	0,56 ± 0,82	0,039

Bảng 4 cho thấy tổng số noãn thu được, số noãn MII, số noãn thụ tinh (2PN) và số phôi ngày 3, phôi ngày 5 cũng như phôi ngày 5 chất lượng tốt và kém ở nhóm gây trưởng thành noãn bằng phác đồ trưởng thành noãn kép đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm gây trưởng thành noãn bằng hCG đơn thuần. Tỷ lệ thụ tinh và số phôi ngày 5 chất lượng trung bình giữa 2 nhóm là không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 175 bệnh nhân đáp ứng buồng trứng bình thường được chia thành 2 nhóm sử dụng phác đồ trưởng thành noãn kép và trưởng thành noãn bằng hCG đơn thuần với sự tương đồng về đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng cũng như đặc điểm về quá trình kích thích buồng trứng. Kết quả cho thấy nhóm đối tượng trưởng thành noãn kép đem lại hiệu quả tốt hơn về mặt số lượng noãn và phôi thu được, trong khi không có sự khác biệt về tỷ lệ quá kích buồng trứng giữa hai nhóm. Việc chọn những bệnh nhân có đáp ứng buồng trứng bình thường làm đối tượng cho nghiên cứu này là có ý nghĩa vì đây là nhóm đối tượng chiếm tỷ lệ cao nhất trong các chu kỳ kích thích buồng trứng. Mặc dù những phụ nữ có đáp ứng bình thường được kỳ vọng sẽ có nhiều tế bào noãn chất lượng tốt; tuy nhiên, việc cải thiện kết quả tổng số lượng noãn cũng như noãn trưởng thành có thể giúp cải thiện kết quả chung cho bệnh nhân bằng cách tăng số lượng và chất lượng phôi thu được; có đủ số lượng phôi để đông lạnh, điều này sẽ tránh lặp lại toàn bộ chu kỳ IVF trong tương lai nếu cần.

Đã có nhiều nghiên cứu cũng cho thấy hiệu quả mà phác đồ trưởng thành noãn kép mang lại trong việc cải thiện số lượng noãn, phôi và kết quả có thai

ở các chu kỳ IVF/ICSI chuyển phôi tươi trên nhóm phụ nữ đáp ứng buồng trứng bình thường. Nghiên cứu hồi cứu của Lin MH và cộng sự năm 2013 tiến hành trên 376 bệnh nhân đáp ứng buồng trứng bình thường ghi nhận tổng số noãn thu được, số noãn MII, tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ thai lâm sàng và thai sinh sống đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm trưởng thành noãn kép so với nhóm trưởng thành noãn bằng hCG đơn thuần [8]. Albeitawi S và cộng sự (2022) cũng ghi nhận kết quả noãn phôi tương tự nhưng không ghi nhận sự khác biệt về kết quả có thai giữa hai nhóm [9]. Tỷ lệ quá kích buồng trứng giữa hai nhóm trong nghiên cứu của tác giả này cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [9], tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Bên cạnh đó, cũng có nhiều tác giả ghi nhận những kết quả trái ngược với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Kim CH và cộng sự (2014) trong một thử nghiệm lâm sàng đối chứng ngẫu nhiên bao gồm 120 bệnh nhân cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tổng số noãn thu được, số noãn MII, noãn thụ tinh và số phôi chất lượng tốt giữa hai nhóm trưởng thành noãn kép và trưởng thành noãn bằng hCG đơn thuần [10].

Có một số giả thuyết đã được đưa ra để giải thích cho tính hiệu quả mà phác đồ trưởng thành noãn kép đem lại. Khi sử dụng phối hợp chất đồng vận GnRH sẽ gây ra sự gia tăng FSH và LH, bắt chước chu kỳ tự nhiên và điều này có thể có lợi cho việc trưởng thành noãn. Các nang trứng trưởng thành cần thiết phải gia tăng các thụ thể LH để chuẩn bị cho sự rụng trứng và quá trình hoàng thể hóa sau đó của tế bào hạt sau sự gia tăng LH. FSH rất quan

trọng cho sự hình thành các vị trí thụ thể LH trong tế bào hạt; đồng thời cũng hỗ trợ quá trình giảm phân và mở rộng của tế bào cumulus. Điều này có thể giải thích cho việc cải thiện tổng số lượng noãn thu được cũng như noãn MII khi bổ sung GnRH agonist để gây trưởng thành noãn. Tuy nhiên, sự khác biệt trong các kết quả nghiên cứu có thể là do sự không đồng nhất trong quy trình kích thích buồng trứng và trưởng thành noãn được sử dụng, bao gồm cả sự khác biệt về đối tượng tham gia nghiên cứu hoặc cỡ mẫu nhỏ.

Hạn chế trong nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu hồi cứu với cỡ mẫu còn nhỏ, cũng như chưa đánh giá đến kết quả có thai do chiến lược đông phôi toàn bộ nên số chu kỳ IVF/ICSI chuyển phôi tươi ở nhóm đối tượng đáp ứng buồng trứng bình thường là rất ít. Mặc dù vậy, chúng tôi đã quan sát thấy xu hướng cải thiện chất lượng noãn phôi ở nhóm trưởng thành noãn kép, điều này khuyến khích các nghiên cứu tiến cứu với quy mô lớn hơn và quy trình chặt chẽ hơn trong tương lai tiếp tục tiến hành để xác nhận kết quả này.

5. Kết luận

Sử dụng phác đồ trưởng thành noãn kép làm tăng số lượng noãn thu được, số noãn trưởng thành, số noãn thụ tinh và số lượng phôi ngày 3, phôi ngày 5 cũng như phôi ngày 5 chất lượng tốt so với sử dụng hCG đơn thuần trên nhóm bệnh nhân đáp ứng buồng trứng bình thường.

Tài liệu tham khảo

1. Castillo JC, Humaidan P, Bernabéu R (2014) *Pharmaceutical options for triggering of final oocyte maturation in ART*. Biomed Res Int 580171.
2. Humaidan P, Bredkjaer HE, Bungum L (2005) *GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: A prospective randomized study*. Hum Reprod 20(5): 1213–1220.
3. Haahr T, Roque M, Esteves SC (2017) *GnRH Agonist Trigger and LH Activity Luteal Phase Support versus hCG trigger and conventional luteal phase support in fresh embryo transfer IVF/ICSI Cycles-a systematic prisma review and meta-analysis*. Front Endocrinol (Lausanne) 8: 116.
4. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC (2008) *Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with a reduced dose of human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of in vitro fertilization*. Fertil Steril 90(1): 231-233.
5. Haas J, Bassil R, Samara N (2020) *GnRH agonist and hCG (dual trigger) versus hCG trigger for final follicular maturation: A double-blinded, randomized controlled study*. Hum Reprod 35(7): 1648-1654.
6. Namavar Jahromi B, Parsanezhad ME, Shomali Z (2018) *Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management*. Iran J Med Sci 43(3): 248-260.
7. Breivik H, Borchgrevink PC, Allen SM (2008) *Assessment of pain*. Br J Anaesth 101(1): 17-24.
8. Lin MH, Wu FSY, Lee RKK (2013) *Dual trigger with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for normal responders in GnRH-antagonist cycles*. Fertil Steril 100(5): 1296-1302.
9. Albeitawi S, Marar EA, Reshoud FA (2022) *Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves oocyte yield in normal responders on GnRH-antagonist cycles*. JBRA Assist Reprod 26(1): 28-32.
10. Kim CH, Ahn JW, You RM (2014) *Combined administration of gonadotropin-releasing hormone agonist with human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in GnRH antagonist cycles for in vitro fertilization*. J Reprod Med 59(1-2): 63-68.