

Duostim protokol v managementu a léčbě pacientek s nízkou odpovědí na kontrolovanou ovariální hyperstimulaci

Sergiu Leahomschi

Gennet, s.r.o., Praha

Korespondenční adresa: MUDr. Sergiu Leahomschi, Gennet, s.r.o., Kostelní 9, 170 00 Praha 7, tel.: +420 222 313 118, e-mail: sergiu.leahomschi@gmail.com

Publikováno: 7. 11. 2018 Přijato: 3. 10. 2018 Akceptováno: 22. 10. 2018
Actual Gyn 2018, 10, 35-41 ISSN 1803-9588 © 2018 Aprofema s.r.o.
Článek lze stáhnout z www.actualgyn.com



Citujte tento článek jako: Leahomschi S. Duostim protokol v managementu a léčbě pacientek s nízkou odpovědí na kontrolovanou ovariální hyperstimulaci. Actual Gyn. 2018;10:35-41

DUOSTIM PROTOCOL IN THE MANAGEMENT AND TREATMENT OF PATIENTS WITH POOR OVARIAN RESPONSE

Review article

Abstract

Management of patients with poor ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation (COH) is a challenging and still a controversial issue. Despite the advances in reproductive medicine in the past decades, there is still no consensus regarding fertility treatment of this population group. In terms of improving the clinical outcomes by increasing the cumulative live birth rates per each started IVF cycle, increasing evidence demonstrate the importance of the number of oocytes retrieved after COH, which can be optimized by correct evaluation of the ovarian reserve, also taking into consideration the woman's age. The classic paradigm of folliculogenesis (one cycle = one cohort of follicles responsive to stimulation) has been overtaken by the theory of follicular waves, which opened new therapeutical possibilities for the advanced maternal age patients with low ovarian reserve. This article is a review of the up-to-date information regarding low responsive patients, including more precise classification of these patients by the POSEIDON expert group, and a review of the existing data about the Duostim protocol – a promising instrument for improving the results of the fertility treatment in poor responders.

Key words: IVF, poor responder, folliculogenesis, Duostim, POSEIDON

Přehledový článek

Abstrakt

Management pacientek s nízkou odpovědí na kontrolovanou ovariální hyperstimulaci (KOH) je obtížnou a pořád kontroverzní otázkou. Přestože během posledních několika dekád došlo k výrazným pokrokům v reprodukční medicíně, dosud chybí konsenzus týkající se léčby neplodnosti v této populační skupině. Nově objevující se důkazy jasně hovoří o tom, že pro navýšení úspěšnosti léčení sterility je z hlediska kumulativní úspěšnosti IVF cyklu důležitý počet získaných oocytů, který se dá optimalizovat správným odhadem ovariální rezervy s přihlédnutím k věku pacientky. Léta existující paradigma folikulogeneze (jeden cyklus = jedná kohorta folikulů odpovídajících na stimulaci) byla překonána teorií folikulárních vln, což otevřelo nové terapeutické možnosti u starších pacientek s malou ovariální rezervou. V tomto souhrnném článku jsou uvedené aktuální informace týkající se problematiky pacientek s nízkou reakcí na KOH, včetně přesnější klasifikace těchto pacientek dle expertní skupiny POSEIDON a současné poznatky o Duostim

protokolu – slibným nástrojem pro zlepšení výsledků terapie sterility u žen s nedostatečnou odezvou ovarií na KOH.

Klíčová slova: IVF, poor responder, folikulogeneze, Duostim, POSEIDON

Úvod

Narůstající trend odsouvání mateřství na pokročilejší věk a pokroky v léčbě onkologicky nemocných pacientek přináší nové výzvy oboru reprodukční medicína. V prvním případě je to nárůstem počtů pacientek se sníženou ovariální rezervou, v druhém případě jde o snahu zlepšení kvality života pacientek přeživším onkologickou léčbu umožněním mít potomky z vlastních gamet. Navíc, v obou skupinách se setkáváme s pacientkami nedostatečně reagujícími na KOH (poor responders). Prevalence poor responders je těžko hodnotitelná, odhaduje se prevalence mezi 9 a 24 % (1). Nehledě na vědecké a technologické pokroky, léčba těchto pacientek zůstává velmi diskutovanou otázkou. Dalším faktem je, že populace těchto pacientek není homogenní a jejich prognóza může hodně kolísat dle věku a počtu získaných oocytů v rámci léčby (2). V posledních létech se objevují nové práce, které se zabývají otázkou navýšení úspěšnosti léčení pacientek s nízkou ovariální odpovědí s využitím relativně nového přístupu KOH – Duostim protokolu, zahrnujícím dvě stimulační a dva odběry oocytů v rámci jednoho ovariálního cyklu (jednou ve folikulární fázi a jednou v luteální fázi).

Fyziologie folikulogeneze

Folikulogeneze je extrémně dynamickým a komplexním fyziologickým dějem. Klasická teorie folikulogeneze u homo sapiens (*teorie jednorázové selekce*) mluví o jedné kohortě antrálních folikulů rostoucích během folikulární fáze ovariálního cyklu, ze které se následně vyselektuje dominantní (Graafův) folikul. Tato teorie je během poslední dekády doplněna o další dvě teorie: *teorie kontinuální selekce a teorie vlnové selekce*. Důkazy, vedoucí ke vzniku těchto dvou teorií, byly nejdříve nalezeny u velkých savců (3-8), následně potvrzeny i u homo sapiens (9,10). Podle teorie vlnové selekce během jednoho ovariálního cyklu dochází postupně k selekci 2 – 3 kohort antrálních folikulů, zatímco dle teorie kontinuální selekce dochází k růstu a atrezii folikulů kontinuálně během celého ovariálního cyklu. Teorie vlnové selekce antrálních folikulů rozlišuje velké a malé vlny, přičemž jen ty velké jsou ovulační (11,12).

Dynamika antrálních folikulů se zdá být druhově specifická a pozitivně koreluje s délkou menstruačního cyklu, tj. při kratších interovulačních intervalech jsou obvykle detekovatelné dvě selekční vlny, zatímco při delších interovulačních intervalech můžeme identifikovat tři selekční vlny (10,11).

Přestože bylo identifikováno několik regulátorů (včetně FSH, progesteronu a některých zánětlivých cytokinů) hrajících důležitou úlohu v homeostáze folikulárních vln, přesný mechanismus vedoucí k folikulární selekci v jednotlivých vlnách nebyl zatím objasněn. Hladina FSH blokuje atrezii antrálních folikulů vznikajících v dalších vlnách (13), vysoká hladina progesteronu produkovaného žlutým tělískem v luteální fázi hraje důležitou úlohu v regulaci vzniku velkých a malých folikulárních vln (inhibicí hypofýzy mecha-

nizmem negativní zpětné vazby – tím pádem během malých folikulárních vln nedochází k finální maturaci folikulu (14). Nicméně byl prokázán růst folikulů při podání gonadotropinů v luteální fázi cyklu (15-17). Z klinické perspektivy, tyto nové poznatky týkající se folikulární selekce ve vlnách otevírají nové možnosti z hlediska zvýšení efektivity IVF a postupně k vývoji dvou nových strategií KOH – random start protokolu a Duostim protokolu (18). Z důvodu prostorového omezení tohoto sdělení níže budou uvedena existující data týkající se duostim protokolů.

Problematika pacientek nedostatečně reagujících na KOH (poor ovarian response – POR)

Cílem IVF cyklu je porod zdravého dítěte. Z tohoto hlediska pokroky v kryoprezervaci embryí vedly k radikálním změnám, aktuálním měřítkem úspěšnosti IVF cyklu je de facto kumulativní míra živorodnosti (cumulative live birth rate - CLBR) na jeden IVF cyklus, tj. na jednu zahájenou KOH (19). Ovariální rezerva a věk ženy jsou momentálně nejdůležitějšími prediktory CLBR. Bylo navrženo několik prediktorů ovariální rezervy (kromě věku ženy) – AMH, FSH a počet antrálních folikulů (antral follicular count – AFC). Věk ženy je nejlepším prediktorem kompetence oocytů, než indikátorem reakce ovarií na KOH, i přestože věk ženy a ovariální rezerva jsou na sobě silně závislé, věk ženy je silnějším prediktorem klinického výsledku, hlavně z hlediska genetické a reprodukční kompetence oocytů. Proto plánování léčby každé pacientky má brát ohled na její věk a správné posouzení její ovariální rezervy.

Několik studií se zabývalo počtem získaných oocytů potřebných pro zvýšení úspěšnosti v IVF cyklech s transferem čerstvých embryí (20-23) – napříč těmito studiemi průměrný optimální počet oocytů byl 10 – 15. Dle Boloňských kritérií, nízká ovariální reakce na KOH (poor responder) je definována ziskem 3 či méně oocytů během jednoho cyklu KOH (24). Nicméně, při dobře fungujícím kryoprezervačním programu, čím vyšší počet oocytů získáme, tím větší CLBR budeme mít na jeden započatý IVF cyklus, sečteme-li transfery čerstvých embryí s transfery kryoprezervovaných embryí (25-27). Tím pádem se krystalizuje nová skupina pacientek se ziskem 4 – 9 oocytů/cyklu, která je definována jako skupina se „suboptimální“ reakcí na KOH (**Tab. 1**).

Přesnější klasifikace pacientek s malou ovariální rezervou nebo s neobvyklou reakcí na KOH posunuje koncept *nízké odpovědi* ke konceptu *špatné prognózy* a (jak se

Tab. 1 Skupiny pacientek dle reakce ovarií na KOH (28)

N ^o	Skupina	Počet získaných oocytů
1	Nízká reakce dle Boloňských kritérií	3 a méně
2	Suboptimální reakce	4 - 9
3	Normální reakce	10 - 15
4	Hyperreakce	15 a více

uvidí z níže uvedeného textu) zahrnuje nejen počet získaných oocytů, ale i míru aneuploidie a ovariální senzitivity vůči exogenním gonadotropinům.

Poor responders a úspěšnost IVF

Počet oocytů není jediným faktorem ovlivňujícím CLBR, dalším silným prediktorem z hlediska úspěšnosti IVF cyklu je podíl chromozomálně aneuploidních embryí, který je spojen s věkem ženy. Procento aneuploidních embryí je závislé na věku a pohybuje se od 25 do 30 % u žen mladších 35 let až do 90 % u žen starších 42 let (29,30). Nicméně, transferujeme-li euploidní blastocystu, její míra implantace není závislá na věku ženy (31), a pravděpodobně ani na její morfologické kvalitě (32). Odhady počtů MII oocytů potřebných pro získání jednoho euploidního blastocysty jsou uvedené v **Tab. 2** (data nezahrnují případy, na kterých se podílí i androglogický faktor sterility). Proto nelze predikovat úspěšnost léčby jen na základě počtu získaných oocytů, reálně pacientky se stejným počtem získaných oocytů mohou mít diametrálně odlišné úspěšnosti z důvodu odlišných mír aneuploidie.

Revize Boloňských kritérií provedená expertní pracovní skupinou POSEIDON (**P**atient-**O**riented **S**trategies **E**ncompassing **I**ndividualize**D** **O**ocyte **N**umber) má za cíl zlepšení diagnostického procesu a managementu paci-

Tab. 2 Odhad počtů oocytů potřebných k získání aspoň jednoho euploidního blastocysty (33)

Věk	Míra euploidie oocytů	Počet oocytů potřebných k získání aspoň jednoho euploidního blastocysty
< 35 let	≈ 25 %	≈ 4
35-37 let	≈ 20 %	≈ 5
38-40 let	≈ 15 %	≈ 7
41-42 let	≈ 10 %	≈ 10
> 42 let	≈ 5 %	≈ 20

entek s POR. Výsledkem by měla být optimalizace počtů získaných oocytů potřebných pro vznik aspoň jednoho euploidního embrya u pacientek s různou ovariální odpovědí na gonadotropiny (34). Pro lepší volbu léčebné strategie byly touto pracovní skupinou definované čtyři skupiny pacientek s POR (**Tab. 3**).

Během posledních 30 let bylo navrženo několik strategií pro zlepšení výsledků léčby u pacientek s POR, nicméně dosud nedošlo k žádnému konsenzu v této oblasti (1,35-39). Nejčastěji používanou strategií je navýšení dávek gonadotropinů, která ale nevede k signifikantnímu navýšení počtu odebraných oocytů (40,41), protože gonadotropiny podporují růst folikulů citlivých na stimulaci a nevedou ke vzniku folikulů de novo (40,42,43).

Normogonadotropní pacientky s dostatečnou ovariální rezervou, ale s neočekávanou nízkou nebo suboptimální odpovědí na KOH (skupina POSEIDON 1 a 2, viz **Tab. 3**), tvoří zhruba 15 % IVF populace a k získání adekvátního počtu oocytů (> 3) potřebují vyšší dávky gonadotropinů (> 3 000 IU) a delší dobu stimulace (> 10 dní) (44). Jedná se o sníženou odpověď ovarií na FSH, což může být vy-

Tab. 3 Skupiny pacientek s POR – s nízkou nebo suboptimální ovariální reakcí na KOH (33,34)

Skupina	1	2	3	4
Věk (let)	< 35	> 35	< 35	> 35
AFC (n)	≥ 5	≥ 5	< 5	< 5
AMH (ng/mL)	≥ 1,2	≥ 1,2	< 1,2	< 1,2

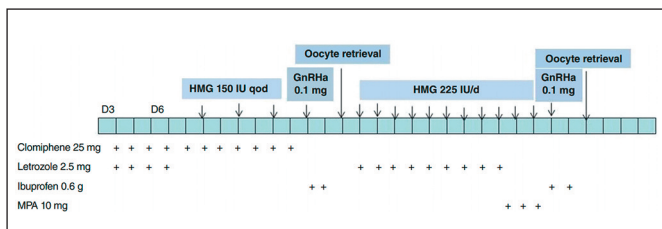
světleno hyposenzitivitou granulózových buněk vůči standardním dávkám gonadotropinů danou buď polymorfizmy FSH receptoru (45) a/nebo méně bioaktivními izoformami LH (46). V této skupině pacientek včasným odhalením snížené odpovědi (do 5. – 8. dne KOH), zvýšením dávek FSH a přidáním LH můžeme dosáhnout většího zisku oocytů, protože LH aktivita může vylepšit hladiny endogenních androgenů (47) a navýšit počet FSH receptorů v granulózových buňkách (48,49), což pravděpodobně vede k zesílení ovariální odpovědi na FSH (48,50). Dalšími příčinami snížené odpovědi mohou být nedostatečné (podprahové) dávky FSH nebo asynchronní růst folikulů. V případě asynchronního růstu můžeme využít perorální estrogény, kombinovanou orální kontracepci nebo gestageny k synchronizaci folikulů v rámci folikulární vlny, nebo alternativně downregulaci v rámci dlouhého agonistického protokolu (51-57).

Normogonadotropní nebo hypergonadotropní pacientky s malou ovariální rezervou (skupina POSEIDON 3 a 4, viz **Tab. 3**) nemohou profitovat jen z navýšení dávek gonadotropinů vzhledem k tomu, že vysoké dávky FSH nemohou kompenzovat absenci folikulů. U těchto pacientek se doporučuje stimulace antagonistickými protokoly s dávkami FSH do 300 - 375 IU denně v kombinaci s LH, což u starších žen (skupina POSEIDON 4) může vést k vyššímu počtu rostoucích folikulů v synergii s IGF1 (insulin-like growth factor 1) (58-62). Pokud ovšem u těchto pacientek chceme získat větší počet oocytů za účelem dosažení většího CLBR, musíme provést dvě KOH v rámci jednoho ovariálního cyklu s využitím i malých folikulárních vln – Duostim protokol (33).

Duostim protokol

První zkušenosti s dvojí stimulací ukázaly, že KOH ve folikulární a v luteální fázi stejného ovariálního cyklu vede k zisku oocytů se stejným vývojovým potenciálem (14). Ke stimulaci v tomto protokolu (Shanghai protokol) byl použit klomifen citrát 25 mg/den, letrozol 2,5 mg/den a 150 - 225 IU/den humánního menopauzálního gonadotropinu, v rámci studie zahrnující 38 pacientek s nízkou ovariální odpovědí dle Boloňských kritérií. V obou fázích stimulace byla indukce maturace oocytů provedena GnRH agonistou (triptorelin), po které následovalo podání ibuprofenu 0,6 mg v den indukce maturace a následující den z důvodu prevence předčasné ovulace. V případě potřeby delší stimulace v luteální fázi bylo podáno 10 mg medroxyprogesteron acetátu denně od 12. dne luteální KOH k oddálení menzes a k zamezení odběru oocytů za menstruačního krvácení pro prevenci infekčních komplikací (viz **Obr. 1**).

V roce 2016 byla publikována další studie zabývající se Duostim protokolem u 51 pacientek se špatnou prognózou, ve které se získaná embrya testovala pomocí preimplantačního genetického screeningu aneuploidie



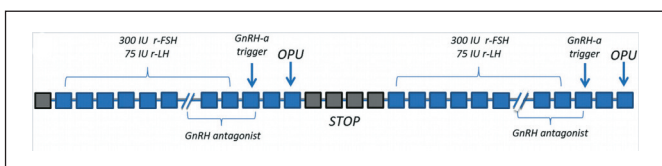
Obr. 1 Shanghai protokol (14)

GnRH_a – agonista gonadotropin uvolňujícího hormonu, *HMG* – humánní menopauzální gonadotropin, *MPA* – medroxyprogesteron acetát, *qod* – ob den

(PGT-A) (63). Výsledky této studie ukázaly, že použití Duostim protokolu v populaci pacientek se špatnou prognózou zvyšuje pravděpodobnost zisku aspoň jedné euploidní blastocysty ze 42 na téměř 70 %. V této studii byl ke stimulaci použit konvenční antagonistický protokol v obou fázích cyklu, podobně jako v jedné další studii (64): FSH 300 IU/den spolu s LH 75 IU/den, GnRH antagonist k prevenci předčasné ovulace a indukce maturace oocytů GnRH agonistou (buserelin) (viz **Obr. 2**). Podrobná komparativní analýza stimulace ve folikulární a luteální fázi cyklu nenašla signifikantní rozdíly mezi délkami stimulace, počty získaných MII oocytů, počty oplozených oocytů, počty blastocyst a mírami euploidie (počet euploidních blastocyst vztážený na počet oplozených oocytů). Navíc nebyly nalezeny signifikantní kvalitativní odlišnosti blastocyst pocházejících z obou fází KOH.

Aktuálně se dokončuje prospektivní multicentrická studie 3 400 MII oocytů (1 700 z folikulární fáze a 1 700 z luteální fáze), jejímž cílem je poukázat na jejich stejný vývojový potenciál (33). Předběžná analýza výsledků 1 723 MII oocytů (763 z folikulární fáze a 960 z luteální fáze) ukazuje na podobný vývojový potenciál (z hlediska fertilizace, blastulace a míry euploidie) oocytů pocházejících z KOH ve folikulární a luteální fázi. Předběžné výsledky navíc poukazují na trend získávání vyššího počtu oocytů v luteální fázi cyklu (65). Z hlediska bezpečnosti nedošlo k navýšení počtu komplikací po odběrech oocytů.

Z existujících dat vyplývá, že KOH může být odpojena od fáze ovariálního cyklu, protože vysoké hladiny progesteronu neovlivňují maturaci folikulů, odběr oocytů a jejich vývojový potenciál (14,63). Rovněž není vyšší výskyt vrozených vývojových vad v těhotenstvích z oocytů po KOH v luteální fázi cyklu (66). Duostim protokol může snížit negativní emoční impakt léčby u pacientek bez zisku embryí po KOH ve folikulární fázi tím, že se mohou získat kvalitní embrya po KOH v luteální fázi stejného cyklu (67). Pacientky s indikací Duostim protokolu v rámci IVF cyklu



Obr. 2 Duostim protokol (63)

r-FSH – rekombinantní folikulostimulační hormon, *r-LH* – rekombinantní luteinizační hormon, *OPU* – odběr oocytů, *GnRH_a* – agonista gonadotropin uvolňujícího hormonu

by měly splňovat aspoň dva z následujících parametrů (68):

1. AMH < 1,5 ng/mL,
2. AFC ≤ 6,
3. zisk ≤ 5 MII oocytů v předchozích IVF cyklech,
4. věk ≥ 35 let.

Jako jediný parametr by měl stačit malý počet získaných oocytů (≤ 3) v předchozích dvou a více IVF cyklech nebo indikace z hlediska onkofertility. Z pochopitelných důvodů Duostim protokol nedovoluje embryotransfer čerstvých embryí, kryoembryotransfer embrya může proběhnout v následných ovariálních cyklech za synchronizace embrya a endometria.

Závěr

Léčba pacientek nedostatečně reagujících na KOH by měla zohledňovat jejich věk a správné vyhodnocení ovariální rezervy s cílem vyššího CLBR na každý započatý cyklus. V tomto procesu je důležitý výběr správné léčebné strategie, následkem které bude zisk optimálního počtu oocytů, zvyšující (s ohledem na věk pacientky) pravděpodobnost zisku aspoň jedné euploidní blastocysty. Vyšší dávky gonadotropinů nevedou k vyššímu počtu získaných oocytů, gonadotropiny jen podporují růst kohort folikulů citlivých na stimulaci a nemohou vést k jejich *de novo* tvorbě. Existence několika folikulárních vln dovolilo vznik ovariálních stimulačních protokolů se startem v luteální fázi cyklu. Duostim protokol (kombinace stimulace ve folikulární a luteální fázi cyklu) se jeví slibným přístupem z hlediska zvýšení počtu oocytů získaných během jednoho ovariálního cyklu, nicméně je nutná studie nákladové efektivity tohoto postupu.

Literatura

1. Ubaldi F, et al. Management of poor responders in IVF: is there anything new? Biomed Res Int. 2014;2014:352098, doi: 10.1155/2014/352098
2. Oudendijk JF, et al. The poor responder in IVF: is the prognosis always poor?: a systematic review. Hum Reprod Update. 2012;18:1–11, doi: 10.1093/hmupd/dmr037
3. Adams GP, et al. Large animal models for the study of ovarian follicular dynamics in women. Theriogenology. 2012;78:1733–48, doi:10.1016/j.theriogenology.2012.04.010
4. Jacob JC, et al. Follicle deviation in ovulatory follicular waves with one or two dominant follicles in mares. Reprod Domest Anim. 2009;44:248–54, doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.01048.x
5. Jacob JC, et al. Temporal relationships and repeatability of follicle diameters and hormone concentrations within individuals in mares. Reprod Domest Anim. 2009;44:92–9, doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.01003.x
6. Ginther OJ, et al. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. J Reprod Fertil. 1989;87:223–30, doi: 10.1530/jrf.0.0870223
7. Ginther OJ, et al. Development of one vs multiple ovulatory follicles and associated systemic hormone concentrations in mares. Reprod Domest Anim. 2009;44:441–9,

- doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01109.x
8. Ginther OJ. The mare: a 1000-pound guinea pig for study of the ovulatory follicular wave in women. *Theriogenology*. 2012;77:818–28, doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.09.025
 9. Baerwald AR, et al. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum Reprod Update*. 2012;18:73–91, doi: 10.1093/humupd/dmr039
 10. Baerwald AR, et al. A new model for ovarian follicular development during the human menstrual cycle. *Fertil Steril*. 2003;80:116–122, doi: 10.1016/S0015-0282(03)00544-2
 11. Baerwald AR, et al. Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women. *Biol Reprod*. 2003;69:1023–1031, doi: 10.1095/biolreprod.103.017772
 12. Ginther OJ, Bergfelt DR. Growth of small follicles and concentrations of FSH during the equine oestrous cycle. *J Reprod Fertil*. 1993;99:105–111, doi: 10.1530/jrf.0.0990105
 13. van Santbrink EJ, et al. Decremental folliclestimulating hormone and dominant follicle development during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril*. 1995;64:37–43, doi: 10.1016/S0015-0282(16)57652-3
 14. Kuang Y, et al. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online*. 2014;29:684–691, doi: 10.1016/j.rbmo.2014.08.009
 15. Nilsson L, et al. Recruitment of an ovulatory follicle in the human following follicle-ectomy and luteectomy. *Fertil Steril*. 1982;37:30–34, doi: 10.1016/S0015-0282(16)45972-8
 16. Baird DT, et al. Effect of enucleation of the corpus luteum at different stages of the luteal phase of the human menstrual cycle on subsequent follicular development. *J Reprod Fertil*. 1984;70:615–624, doi: 10.1530/jrf.0.0700615
 17. Baird DT. A model for follicular selection and ovulation: lessons from superovulation. *J Steroid Biochem*. 1987;27:15–23, doi: 10.1016/0022-4731(87)90289-5
 18. Vaiarelli A, et al. Dual ovarian stimulation and random start in assisted reproductive technologies: from ovarian biology to clinical application. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017 Jun;29(3):153-159, doi: 10.1097/GCO.0000000000000365
 19. Maheshwari A, et al. Cumulative live birth rate: time for a consensus? *Hum Reprod*. 2015;30:2703–2707, doi: 10.1093/humrep/dev263
 20. van der Gaast MH, et al. Optimum number of oocytes for a successful first IVF treatment cycle. *Reprod Biomed Online*. 2006;13:476–480, doi: 10.1016/s1472-6483(10)60633-5
 21. Verberg MF, et al. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2009;15:5–12, doi: 10.1093/humupd/dmn053
 22. Fatemi HM, et al. High ovarian response does not jeopardize ongoing pregnancy rates and increases cumulative pregnancy rates in a GnRH-antagonist protocol. *Hum Reprod*. 2013;28:442–452, doi: 10.1093/humrep/des389
 23. Sunkara SK, et al. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2011;26:1768–1774, doi: 10.1093/humrep/der106
 24. Ferraretti AP, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod*. 2011;26:1616–1624, doi: 10.1093/humrep/der092
 25. Drakopoulos P, et al. Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos? *Hum Reprod*. 2016;31:370–376, doi: 10.1093/humrep/dev316
 26. Briggs R, et al. Can you ever collect too many oocytes? *Hum Reprod*. 2015;30:81–87, doi: 10.1093/humrep/deu272
 27. Vaughan DA, et al. How many oocytes are optimal to achieve multiple live births with one stimulation cycle? The one-and-done approach. *Fertil Steril*. 2017;107:397.e3–404.e3, doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.037
 28. Polyzos NP, Sunkara SK. Sub-optimal responders following controlled ovarian stimulation: an overlooked group? *Hum Reprod*. 2015;30:2005–2008, doi: 10.1093/humrep/dev149
 29. Capalbo A, et al. Human female meiosis revised: new insights into the mechanisms of chromosome segregation and aneuploidies from advanced genomics and time-lapse imaging. *Hum Reprod Update*. 2017;23:706–722, doi: 10.1093/humupd/dmx026
 30. Fransiak JM, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014;101:656.e1–663.e1, doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.004
 31. Dahdouh EM, et al. Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2015;104:1503–1512, doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.08.038
 32. Capalbo A, et al. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Hum Reprod*. 2014;29:1173–1181, doi: 10.1093/humrep/deu033
 33. Vaiarelli A, et al. What is new in the management of poor ovarian response in IVF? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2018 Jun;30(3):155-162, doi: 10.1097/GCO.0000000000000452
 34. POSEIDON Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number). Alviggi C, et al. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertil Steril*. 2016;105:1452–1453, doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.005
 35. Patrizio P, et al. How to define, diagnose and treat poor responders? Responses from a worldwide survey of IVF clinics. *Reprod Biomed Online*. 2015;30:581–592, doi: 10.1016/j.rbmo.2015.03.002

36. Ubaldi FM, et al. Management of poor responders in IVF. *Reprod Biomed Online*. 2005;10:235–246, PMID: 15823231
37. Kolibianakis EM, et al. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2009;15:613–622, doi: 10.1093/humupd/dmp026
38. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril*. 2000;73:667–676, doi: 10.1016/S0015-0282(99)00630-5
39. Keay SD, et al. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997;104:521–527, PMID: 9166190
40. Berkkanoglu M, Ozgur K. What is the optimum maximal gonadotropin dosage used in microdose flare-up cycles in poor responders? *Fertil Steril*. 2010;94:662–665, doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.03.027
41. Klinkert ER, et al. Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2005;20:611–615, doi: 10.1093/humrep/deh663
42. Land JA, et al. High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*. 1996;65:961–965, doi: 10.1016/S0015-0282(16)58269-7
43. Karande VC, et al. High-dose follicle-stimulating hormone stimulation at the onset of the menstrual cycle does not improve the in vitro fertilization outcome in low-responder patients. *Fertil Steril*. 1990;53:486–489, doi: 10.1016/S0015-0282(16)53345-7
44. Alviggi C, et al. A common polymorphic allele of the LH beta-subunit gene is associated with higher exogenous FSH consumption during controlled ovarian stimulation for assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol*. 2013;11:51, doi: 10.1186/1477-7827-11-51
45. Behre HM, et al. Significance of a common single nucleotide polymorphism in exon 10 of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene for the ovarian response to FSH: a pharmacogenetic approach to controlled ovarian hyperstimulation. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15:451–456, doi: 10.1097/01.fpc.0000167330.92786.5e
46. Alviggi C, et al. Suboptimal response to GnRHa long protocol is associated with a common LH polymorphism. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:9–14, doi: 10.1016/S1472-6483(11)60011-4
47. Frattarelli JL, Peterson EH. Effect of androgen levels on in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2004;81:1713–1714, doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.11.032
48. Weil S, et al. Androgen and follicle-stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:2951–2956, doi: 10.1210/jcem.84.8.5929
49. Weil SJ, et al. Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localization, regulation, and functional correlations. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:2479–2485, doi: 10.1210/jcem.83.7.4917
50. Vendola KA, et al. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest*. 1998;101:2622–2629, doi: 10.1172/JCI2081
51. Schoolcraft W, et al. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. *Fertil Steril*. 1997;67:93–97, doi: 10.1016/s0015-0282(97)81862-6
52. Tarlatzis BC, et al. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2003;9:61–76, doi: 10.1093/humupd/dmg007
53. Fanchin R, et al. Coordination of early antral follicles by luteal estradiol administration provides a basis for alternative controlled ovarian hyperstimulation regimens. *Fertil Steril*. 2003;79:316–321, doi: 10.1016/S0015-0282(02)04574-0
54. Fanchin R, et al. Luteal estradiol pretreatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. *Hum Reprod*. 2003;18:2698–2703, doi: 10.1093/humrep/deg516
55. Chang X, Wu J. Effects of luteal estradiol pretreatment on the outcome of IVF in poor ovarian responders. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29:196–200, doi: 10.3109/09513590.2012.736558
56. Cakmak H, et al. A novel 'delayed start' protocol with gonadotropin-releasing hormone antagonist improves outcomes in poor responders. *Fertil Steril*. 2014;101:1308–1314, doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.01.050
57. Pabuccu EG, et al. Estrogen or antiestrogen for Bologna poor responders? *Gynecol Endocrinol*. 2015;31:955–958, doi: 10.3109/09513590.2015.1081166
58. Nardo LG, et al. Controlled ovarian hyperstimulation regimens: a review of the available evidence for clinical practice. Produced on behalf of the BFS Policy and Practice Committee. *Hum Fertil (Camb)*. 2013;16:144–150, doi: 10.3109/14647273.2013.795385
59. Mochtar MH, et al. Recombinant Luteinizing Hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;CD005070, doi: 10.1002/14651858.cd005070.pub2
60. Lehert P, et al. Recombinant human folliclestimulating hormone (r-hFSH) plus recombinant luteinizing hormone versus rhFSH alone for ovarian stimulation during assisted reproductive technology: systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:17, doi: 10.1186/1477-7827-12-17
61. Bosch E, et al. Impact of luteinizing hormone administration on gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: an ageadjusted analysis. *Fertil Steril*. 2011;95:1031–1036, doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.10.021
62. Hill MJ, et al. The use of recombinant luteinizing hormone in patients undergoing assisted reproductive techniques with advanced reproductive age: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012;97:1108.e1–1114.e1, doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.01.130
63. Ubaldi FM, et al. Follicular versus luteal phase ovarian

- stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril*. 2016;105:1488–1495, doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.03.002
64. Moffat R, et al. Dual ovarian stimulation is a new viable option for enhancing the oocyte yield when the time for assisted reproductive technology is limited. *Reprod Biomed Online*. 2014 Dec;29(6):659-61, doi: 10.1016/j.rbmo.2014.08.010
65. Vaiarelli, et al. ESHRE annual meeting, Geneva 2017
66. Chen H, et al. Comparison of live-birth defects after lutealphase ovarian stimulation vs. conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization and vitrified embryo transfer cycles. *Fertil Steril*. 2015;103: 1194–1201, doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.02.020
67. Zhang J. Luteal phase ovarian stimulation following oocyte retrieval: is it helpful for poor responders? *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;25:76, doi: 10.1186/s12958-015-0076-2
68. Vaiarelli A, et al. Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) to maximize the number of oocytes retrieved from poor prognosis patients: a multicenter experience and SWAT analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Jun 14;9:317, doi: 10.3389/fendo.2018.00317