



Pasado presente y futuro de la estimulación ovárica en el tratamiento de la infertilidad

Past, present and future of ovarian stimulation in infertility treatment

Efraín Pérez-Peña^a, Ernesto Pérez-Luna^a, Kahiry Ledezma^a, Antonio Gutiérrez-Gutiérrez^a.

^a Instituto Vida Guadalajara. Guadalajara, Jal, México.

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del

Artículo:

Recibido: 10 03 2020.

Aceptado: 22 01 2021.

Palabras clave:

Estimulación Ovárica;
Gonadotropinas;
Estudio Genético;
Preservación Fertilidad;
Doble Estimulación.

Key words:

Ovarian Stimulation;
Gonadotropins; Genetic
Study; Fertility
Preservation; DuoStim.

RESUMEN

La mejor comprensión de la fisiología reproductiva y la disponibilidad de más y mejores recursos diagnóstico/terapéuticos permiten individualizar la estimulación ovárica y hacerla más efectiva (mejores resultados), eficiente (en menos tiempo y con dosis más bajas), segura (con menos y más leves complicaciones), cómoda (menos molestias y autonomía) y accesible (para más personas, a menores costos). Con tecnología de ADN recombinante se dispone ahora de todas las gonadotropinas e incluso algunas con formas moleculares modificadas para aumentar la duración de acción y disminuir el número de inyecciones. El esquema más utilizado es el de FSH recombinante junto con antagonistas de GnRH. Hay indicaciones específicas para agregar LH o coadyuvantes como hGH o andrógenos transdérmicos. La estimulación ovárica, además de infertilidad, se usa para la preservación de la fertilidad. Cada vez se implementan más estrategias como acumulación de óvulos, esquemas no convencionales (random start, DuoStim y otros) junto a vitrificación ovular, estudio genético preimplantatorio, transferencias embrionarias diferidas y la investigación continúa. Se pronostican mejoras en un futuro próximo, entre otras antagonistas por vía oral y estudio genético de pacientes para diagnosticar mutaciones o polimorfismos de gonadotropinas y sus receptores. Aunque ya es factible individualizar la estimulación y volverla más efectiva, segura y amigable, así como ofrecer otras opciones a pacientes de mal pronóstico.

SUMMARY

Due to an increased understanding of reproductive physiology and to the availability of more and better diagnostic/therapeutic agents, ovarian stimulation through individualization, has become more effective (improved results), efficient (shorter span and lower doses), safe (less and milder complications), comfortable (less discomfort and dependance) and affordable (for more people at lower cost). All gonadotrophins are now available by recombinant DNA technology, including some modified compounds for specific purposes such as longer action and fewer injections. The most popular ovarian regime uses recombinant FSH and GnRH antagonist. There are precise indications for adding LH or adjuncts like hGH or transdermal androgens. Besides infertility, ovarian stimulation is also indicated for fertility preservation. Strategies like oocyte accumulation, non-conventional stimulation protocols (random start, DuoStim and others), oocyte vitrification, preimplantation genetic testing, freeze-all, deferred embryo transfer for particular cases are becoming popular, and the research still goes on. Future advances like oral GnRH antagonists, and the study of mutations and polymorphisms for gonadotropins and its receptors are foreseen. Today through individualization, ovarian stimulation is safe, effective and friendly, also we can offer good options to bad prognosis patients.

✉ Autor para correspondencia

Correo electrónico: eperezp@institutovida.com

<https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2021.01.005>

e-ISSN: 2531-0186/ ISSN: 0716-8640/© 2019 Revista Médica Clínica Las Condes.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



HISTORIA DE LOS INDUCTORES DE OVULACIÓN

Aunque se descubrieron a principios del siglo pasado, hasta 1938¹ se logró ovulación en mujeres anovulatorias con gonadotrofinas de origen animal (provenientes de hipófisis ovinas y porcinas o, de suero de yeguas embarazadas), con malos resultados por la rápida formación de anticuerpos. El posterior uso de gonadotrofinas de hipófisis humanas *postmortem*² requería muchas hipófisis e incrementó el riesgo de la enfermedad de Creutzfeld-Jakob, por lo que su empleo pronto se abandonó.

Con aportes fundamentales de dos químicos (Frank P. Palopoli y Pietro Donini) a mediados del siglo pasado, se aprobó el uso comercial de inductores de ovulación como el citrato de clomifeno (CC)³ y las gonadotrofinas hipofisarias extraídas de orina de mujeres posmenopáusicas llamadas menotropinas o gonadotrofinas menopáusicas humanas (hMG, por sus siglas en inglés)⁴; así inició el tratamiento específico de la anovulación. Antes, las opciones eran empíricas: cambios en el estilo de vida (disminuir o evitar estrés, obesidad, adicciones, exceso de ejercicio, etc.), administrar corticoides, hormonas tiroideas, resección cuneiforme, e incluso radiación ovárica⁵. El CC se volvió el fármaco más utilizado para la causa más frecuente de anovulación, el síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) y las hMG se reservaban para fallas a su tratamiento y para otras causas de anovulación. A fines de los setentas apareció la fertilización *in vitro* (FIV, IVF) al principio en ciclos naturales o de mínima estimulación con CC o hMG, pero poco después, inició la estimulación ovárica (EO, OS) para procurar un desarrollo folicular múltiple, más óvulos en la aspiración folicular y mejores tasas de embarazo.

En los ochentas aparecieron formas purificadas (p), altamente purificadas de FSH (hp) y preparaciones con más FSH que LH en diferentes proporciones, para pacientes con cifras altas de LH y bajas de FSH. A principios de los noventas, aumentó la demanda de gonadotrofinas. Para mayor pureza y consistencia en la respuesta y para disminuir el riesgo de infecciones por utilizar productos biológicos, se sintetizó la primera FSH con tecnología de ADN recombinante (FSHr), la cual junto con los análogos de GnRH (primero agonistas (ag) y luego antagonistas (ant) así como del empleo de diversos coadyuvantes (metformina, inositol, cabergolina, corticoides, andrógenos, hormona del crecimiento, etc.) de acuerdo a las características de las pacientes, se utilizan en muy diversos esquemas, no solo como tratamiento de anovulación sino de múltiples causas de infertilidad (endometriosis, alteraciones espermáticas y tubarias, infertilidad de causa desconocida, baja reserva ovárica, etc.) e incluso para preservación de fertilidad por diversas indicaciones.

INDUCCIÓN DE OVULACIÓN EN TRATAMIENTOS DE BAJA COMPLEJIDAD

La reproducción asistida (RA, AR, por sus siglas en inglés) o médicamente asistida (RMA) involucra el uso de tecnología

avanzada (TRA, ART, por sus siglas en inglés) para la manipulación de gametos y/o embriones. Se divide en: baja (BC) o alta complejidad (AC). En BC se induce ovulación de uno o dos óvulos y se manejan solo espermatozoides incluyendo su criopreservación, mientras que en AC la EO procura un desarrollo folicular múltiple (de ocho a doce folículos en promedio), los cuales hay que aspirar antes de la ovulación, luego manipularlos antes y después de la fertilización, para incrementar tasas de implantación y recién nacidos sanos y, disminuir tasas de abortos y alteraciones congénitas. La inseminación terapéutica (antes denominada artificial, AI, por sus siglas en inglés) se efectúa con espermatozoides de la pareja u homóloga (IAH, AIH, por sus siglas en inglés) o de donador o heteróloga (IAD, AID, por sus siglas en inglés). Todas son intrauterinas (IIU o IUI, por sus siglas en inglés) y en ciclos naturales o modificados, pero hay mejores resultados con inducción de ovulación (IO, OI, por sus siglas en inglés)^{6,7} porque se incrementan las probabilidades de interacción de óvulos y espermatozoides al asegurar y programar la ovulación, obtener más de un folículo, mejorar las características del endometrio y de los espermatozoides. Éstos se utilizan en fresco o después de criopreservación.

Los esquemas de IO para IIU varían según las características de los pacientes. Sus riesgos: el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO, OHSS, por sus siglas en inglés) y los embarazos múltiples (EM). Para evitarlos hay que cancelar el disparo de hCG en presencia de tres o más folículos de 17 mm de diámetro o más. Como se ve con mayor amplitud en la sección de SOP existen diversos fármacos entre los que destacan los inhibidores de aromatasas en diferentes esquemas⁸ y protocolos de bajas dosis de FSH con incrementos cada 7 días para un desarrollo monofolicular.

La luteinización prematura (niveles de LH y progesterona mayores a 10 UI/L y 1 ng/ml el día del disparo de la hCG) en IO para IIU es más frecuente de lo que se suponía, con cifras de 25 a 30% en algunas series, y condiciona fallas al tratamiento. Por la disponibilidad de GnRHant, su aplicación es una excelente opción⁹. Disminuye la cancelación de ciclos, aunque no ha demostrado que aumente las tasas de embarazo¹⁰. En un estudio de 14.519 ciclos de IIU en 8.583 parejas con infertilidad inexplicable las tasas de embarazo fueron superiores a las obtenidas en ciclos naturales (6,2%) con IIU estimuladas con CC (8,9%), con letrozol (9,4%) y con gonadotrofinas (9,5%) y las tasas acumuladas de embarazos con tres ciclos fueron de 18,4% para el ciclo natural y 25,7%, 26,2% y 23,7% con el uso de CC, letrozol y gonadotrofinas¹¹. Muchos otros estudios¹², corroboran estos hallazgos con diferentes cifras, pero enfatizan un mayor riesgo de embarazos múltiples si no se aplican criterios de cancelación estrictos¹³ y la necesidad de reconocer casos donde es lo más conveniente es la fertilización *in vitro*¹⁴.

ESTIMULACIÓN OVÁRICA PARA TRATAMIENTOS DE ALTA COMPLEJIDAD

Es fundamental individualizar la estimulación según características de cada paciente (edad, reserva ovárica, índice de masa corporal, respuesta a ciclos previos, presencia o no de adicciones, patología adicional, etc.), para establecer un pronóstico de respuesta probable a la EO: normal (NR), alta (AR) o baja (BR) y, decidir la dosis inicial diaria de FSH que, con algunas variantes, es de 150 UI para AR, 225 para NR y 300 para BR. Determinar si hay o no indicación de agregar LH a la FSH¹⁵ (Tabla 1) coadyuvantes o, algún tipo de preparación. Interesa el número y la calidad de óvulos que se procura obtener. Según la edad, varía el número mínimo de óvulos requerido para ofrecer una buena probabilidad de transferir al menos un blastocisto euploide¹⁶⁻¹⁸ (Tabla 2).

Además de la evaluación clínica de la reserva ovárica, disponemos de biomarcadores séricos y ultrasonográficos más precisos como la hormona antimülleriana (AMH, por sus siglas en inglés) y la cuenta folicular antral (CFA o AFC, por sus siglas en inglés)¹⁹. La AMH puede medirse en cualquier día del ciclo sin modificaciones por la interacción con otras hormonas como sucede con FSH y estradiol.

Cifras entre 1,26-3,36 ng/mL pronostican un NR, mientras que cifras más bajas o altas hacen favorecer una BR o AR

Tabla 1. Indicaciones para agregar LH a la FSH

respectivamente. Asimismo, alrededor de 5 folículos antrales en cada ovario, pronostican una NR. Como la correlación entre AMH y CFA es muy buena se ha intentado sustituir el juicio clínico integral con nomogramas²⁰ con parámetros como edad, AMH y FSH para simplificar el cálculo de la dosis inicial de FSH en cada paciente. La sincronización de la cohorte folicular previa a la estimulación disminuye los folículos residuales al inicio de ella, facilita el desarrollo coordinado de múltiples folículos y la programación de los ciclos. Con GnRH ag en ciclos largos la supresión de gonadotrofinas es severa y aumentan las dosis requeridas. Con anticonceptivos orales en algunas pacientes disminuyen las tasas de implantación²¹. La tendencia es utilizar estrógenos solos^{22,23} (estradiol 4 mg diarios) desde 10 días antes de la menstruación hasta el inicio de la estimulación, que puede retrasarse hasta 8 días mientras continúe su administración²⁴, esto facilita la programación, sincroniza la cohorte folicular y reduce niveles iniciales de FSH. Para disminuir las elevaciones prematuras de LH y cancelación de ciclos, se utilizan los análogos de GnRH, al inicio agonistas en ciclos largos y posteriormente antagonistas por requerir menos inyecciones y sobre todo para reducir la incidencia del SHO, como se ve más adelante. El régimen con mejores resultados es el de inicio fijo (0,25 mg diarios de cetorelina o ganirelina) a partir del quinto día de estimulación y continuar hasta el día del disparo final de maduración²⁵.

Medicamentos con otras indicaciones han demostrado su utilidad para mejorar la respuesta ovárica como coadyuvantes o adjuntos a la EO con gonadotrofinas y como se ha señalado los análogos de GnRH, los anticonceptivos y los estrógenos entran en esta categoría. Los indicados en pacientes con SOP (metformina, inositol, corticoides, inhibidores de aromatasas, etc.) se tratan en ese capítulo. Entre los coadyuvantes destacan la hormona del crecimiento (hGH) y los andrógenos transdérmicos. La hGH se

Tabla 2. Número mínimo de ovocitos necesarios para obtener un blastocisto euploide

<35 años	>35 – 40 años	>40 – 43 años
6 CCCO	10 CCCO	16 CCCO
5 ovocitos MII	8 ovocitos MII	13 ovocitos MII
4 ovocitos fertilizados	6 ovocitos fertilizados	10 ovocitos fertilizados
2 blastocistos	3 blastocistos	5 blastocistos
Tasa de euploides 60%	Tasa de euploides 30%	Tasa de euploides 20 %
1 blastocisto euploide	1 blastocisto euploide	1 blastocisto euploide

Abreviaturas: CCCO: Complejo-cúmulo-corona-oocito; MII: metafase 2.

utiliza más en pacientes de edad avanzada con diferentes esquemas, con base a los informes de que en ellas disminuyen hGH y su intermediario el factor I de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) lo que aumenta la apoptosis de las células de la granulosa, fundamentales para la nutrición de los ovocitos. Meta-análisis²⁶ y estudios prospectivos²⁷⁻²⁸ muestran mejoría significativa, más que en número de óvulos recuperados, en tasas de embarazo y recién nacidos en especial con el esquema microflare²⁹. El esquema más usado es de 8 UI diarias desde el inicio (o a más tardar al día 7 de la estimulación), hasta el último día de gonadotrofinas.

Los andrógenos aumentan la síntesis de receptores para FSH y su administración previa a la estimulación ovárica incrementa la respuesta en BR³⁰ acorde a la experiencia clínica de AR en pacientes con hiperandrogenemia. Se requiere su uso de 3 a 6 meses antes del ciclo de estimulación, ya que no actúa en los folículos antrales, sino en los preantrales. Los resultados varían por falta de estudios con controles adecuados, múltiples criterios para definir BR y diferentes andrógenos y vías de administración³¹. Como los niveles séricos son mayores con la vía transdérmica (50 mg diarios en gel antes y durante la estimulación)³² se prefiere ésta sobre la oral. Los niveles de andrógenos séricos aumentan con el uso de inhibidores de aromatasa (IA) como el letrozol³³.

TENDENCIAS Y AVANCES EN ESTIMULACIÓN OVÁRICA

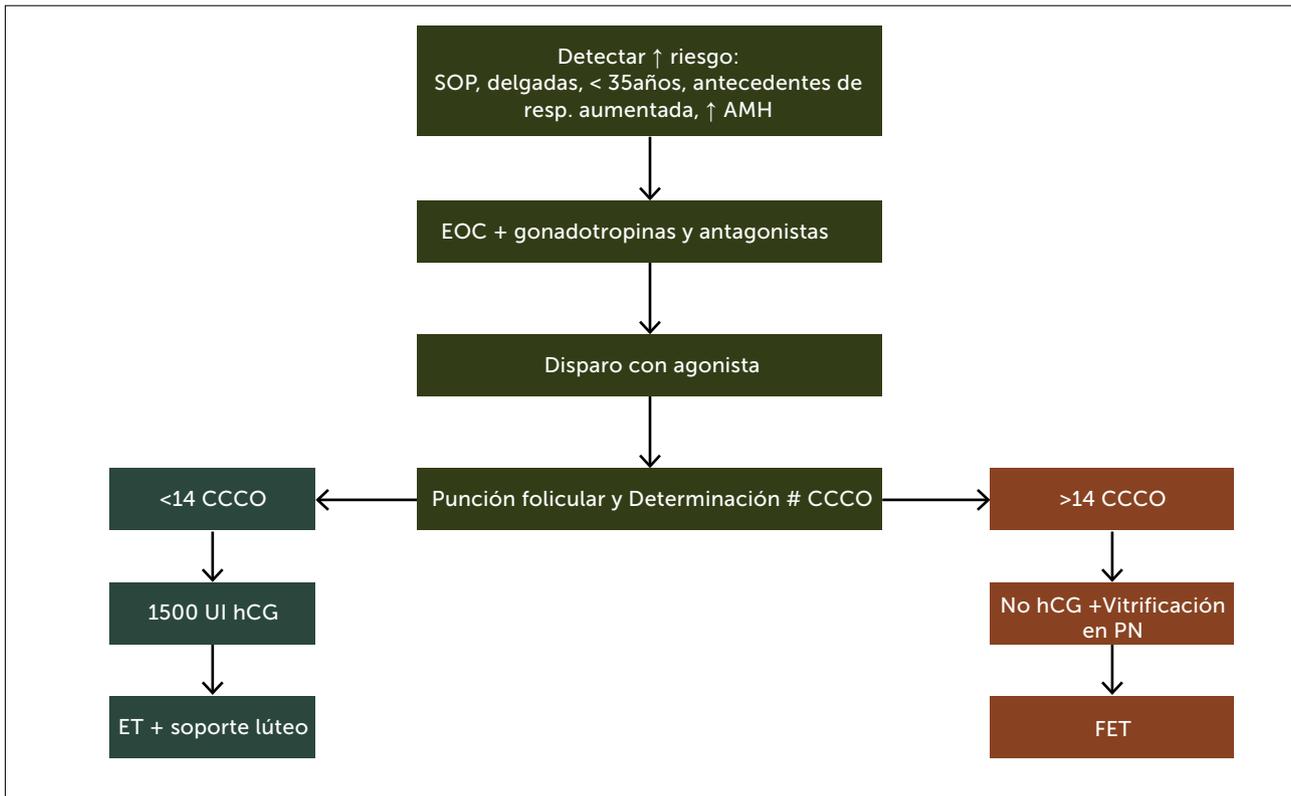
Aspirar más de 15 óvulos no aumenta las tasas de embarazo en fresco³⁴ (aunque sí las acumulativas³⁵) pero sí las complicaciones, por ello, se procura obtener el número de ovocitos necesarios que brinde una buena oportunidad de transferir un blastocisto euploide, aprovechando los grandes avances en vitrificación y estudio genético preimplantacional (PGT, por sus siglas en inglés). El descubrir oleadas de crecimiento folicular en diferentes fases del ciclo³⁶, permite, cuando el tiempo apremia, la estimulación en la fase lútea o el inicio en cualquier fase del ciclo (*random start*)⁸. Para pacientes de mal pronóstico y que no acepten ovodonación la acumulación de óvulos es una estrategia frecuente⁹. En edad avanzada, baja reserva ovárica, o antecedente de respuesta con tres o menos folículos, la doble estimulación (*DuoStim*)^{37,38} en el mismo ciclo en las fases folicular y lútea con solo 4 días de descanso después de la primera punción folicular para iniciar la estimulación en la fase lútea. Se utilizan, además de las gonadotrofinas, antagonistas de GnRH (que se dejan de administrar en los 4 días de

descanso) y el disparo final con agonista de GnRH. Se obtiene un número similar de óvulos en ambas punciones y la transferencia se difiere para otro ciclo. Esto reduce el tiempo para lograr un número aceptable de óvulos y debe plantearse desde el inicio a pacientes de mal pronóstico. Las gonadotrofinas recombinantes tienen mayor pureza, seguridad, consistencia en resultados, mejor control de calidad, mayor bioactividad y capacidad ilimitada de producción. Se dispone ahora de FSH (en sus formas alfa, beta, delta³⁹ y epsilon⁴⁰) así como la modificación de ésta (corifolitropina alfa⁴¹) para aumentar la duración de su efecto a 7 días. También de LHr y hCGr. Hay presentaciones solas o combinadas en proporciones más fisiológicas y medición en microgramos de sustancia en lugar de las antiguas unidades internacionales, ello facilita la individualización de estrategias terapéuticas. Las preparaciones en líquido y los dispositivos actuales de inyección subcutánea dan mayor comodidad y autonomía a las pacientes. Más que superioridad de una u otra, lo que se requiere es decidir qué es lo más conveniente para cada paciente, considerando seguridad, efectividad, comodidad, disponibilidad y costos. Se han empezado a estudiar mutaciones y polimorfismos de gonadotrofinas y sus receptores para detectar sensibilidad o resistencia a las mismas^{42,43}. Se anticipa la pronta disponibilidad de antagonistas de GnRH por vía oral⁴⁴, así como de la kisspeptina^{45,47} para el disparo final de maduración.

PREVENCIÓN DE COMPLICACIONES EN ESTIMULACIÓN OVÁRICA

El SHO, la principal complicación de la EO es ahora raro y menos grave por la aplicación de estrategias para pacientes con alto riesgo (AR)⁴⁸ como: detección oportuna, el uso de GnRHant junto a dosis bajas de gonadotrofinas, disparo con GnRHag⁴⁹ y transferencia diferida cuando se obtienen más de 14 complejos-cúmulo-corona-ovocito (CCCO), para evitar, en caso de embarazo, la acción de la hCG (Figura 1). Cuando se anticipa una transferencia en fresco da mejores resultados agregar a la inyección final de maduración de 2 mg de GnRHag, una dosis de 1500 UI de hCG o su equivalente en mg de hCGr (*dualtrigger*) y luego el esquema de soporte lúteo tradicional con progesterona por la vía que se considere más conveniente. No hay diferencias en efectividad entre la administración intramuscular y la vaginal. Hay informes de buena absorción de dihidrogesterona por vía oral y se avizora la próxima disponibilidad de progesterona acuosa para aplicación subcutánea⁵⁰.

Figura 1. Flujograma de procedimiento para prevenir complicaciones en la estimulación ovárica



Abreviaturas: CCCO: complejo-cúmulo-corona-ooocito; SOP: síndrome ovario poliquístico; AMH: hormona antimülleriana; UI: unidades internacionales; hCG: hormona gonadotrofina coriónica humana; ET: *Embryo Transfer*; PN: pronúcleo; FET: *Frozen Embryo Transfer*.

Devroey et al. (2011) (Ref. 48).

Declaración de conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés en la realización de este artículo.

Financiación

Este trabajo no recibió ningún tipo de financiamiento externo para su realización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Davies ME, Koff AK. The experimental production of ovulation in the human subject. *Am J Obstet Gynecol* 1938; 36(2):183-199. doi: 10.1016/S0002-9378(38)90983-4.
- Gemzell CA, Diczfalusy E, Tillinger G. Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). *J Clin Endocrinol Metab.* 1958 Dec;18(12):1333-48. doi: 10.1210/jcem-18-12-1333.
- Greenblatt RB, Barfield WE, Jungck EC, Ray AW. Induction of ovulation with MRL/41. Preliminary report. *JAMA.* 1961 Oct 14;178:101-4. doi: 10.1001/jama.1961.03040410001001.
- Lunenfeld B. Treatment of anovulation by human gonadotropins. *Int J Obstet Gynecol* 1963;1: 153-158.
- Drips DG. Ovarian dysfunction in young women treated with low-dosage irradiation. *Am J Obstet Gynecol.* 1948 May;55(5):789-98. doi: 10.1016/0002-9378(48)90005-2.
- Zadehmodarres S, Oladi B, Saeedi S, Jahed F, Ashraf H. Intrauterine insemination with husband semen: an evaluation of pregnancy rate and factors affecting outcome. *J Assist Reprod Genet.* 2009 Jan;26(1):7-11. doi: 10.1007/s10815-008-9273-7.
- Cantineau AE, Cohlen BJ, Heineman MJ. Ovarian stimulation protocols (anti-oestrogens, gonadotrophins with and without GnRH agonists/antagonists) for intrauterine insemination (IUI) in women with subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 Apr 18;(2):CD005356. doi: 10.1002/14651858.CD005356.pub2.
- Huang S, Du X, Wang R, Li R, Wang H, Luo L, O'Leary S, Qiao J, Mol BWJ. Ovulation induction and intrauterine insemination in infertile women with polycystic ovary syndrome: A comparison of drugs. *Eur J*

- Obstet Gynecol Reprod Biol. 2018 Dec;231:117-121. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.08.002.
9. Cunha-Filho JS, Kadoch J, Righini C, Fanchin R, Frydman R, Olivennes F. Premature LH and progesterone rise in intrauterine insemination cycles: analysis of related factors. *Reprod Biomed Online*. 2003 7(2): 194-199. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61751-8.
 10. Vitagliano A, Saccone G, Noventa M, Borini A, Coccia ME, Nardelli GB, et al. Pituitary block with gonadotrophin-releasing hormone antagonist during intrauterine insemination cycles: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BJOG*. 2019 Jan;126(2):167-175. doi: 10.1111/1471-0528.15269.
 11. Huang S, Wang R, Li R, Wang H, Qiao J, Mol BWJ. Ovarian stimulation in infertile women treated with the use of intrauterine insemination: a cohort study from China. *Fertil Steril*. 2018 May;109(5):872-878. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.008.
 12. Guzik DS, Carson SA, Coutifaris C, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Steinkampf MP, et al. Efficacy of superovulation and intrauterine insemination in the treatment of infertility. *National Cooperative Reproductive Medicine Network*. *N Engl J Med*. 1999 Jan 21;340(3):177-83. doi: 10.1056/NEJM199901213400302.
 13. Danhof NA, Wang R, van Wely M, van der Veen F, Mol BWJ, Mochtar MH. IUI for unexplained infertility—a network meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2020 Jan 1;26(1):1-15. doi: 10.1093/humupd/dmz035.
 14. Ombelet W, van Eekelen R, McNally A, Ledger W, Doody K, Farquhar C. Should couples with unexplained infertility have three to six cycles of intrauterine insemination with ovarian stimulation or in vitro fertilization as first-line treatment? *Fertil Steril*. 2020 Dec;114(6):1141-1148. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.10.029.
 15. Martínez-Robles I, González-Ortega C, Saavedra-Campos P, Chavarria-Noriega R, Pérez-Pena E, Gutiérrez G MA. Administración de hormona luteinizante recombinante (LHR) como protocolo de estimulación ovárica controlada. *Ginecol Obstet Mex* 2016 84(10):530-638.
 16. Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number), Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, 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 Jun;105(6):1452-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.005.
 17. Humaidan P, Alviggi C, Fischer R, Esteves SC. The novel POSEIDON stratification of 'low prognosis patients in Assisted Reproductive Technology' and its proposed marker of successful outcome. *F1000Res*. 2016 Dec 23;5:2911. doi: 10.12688/f1000research.10382.1.
 18. Esteves SC, Carvalho JF, Bento FC, Santos J. A Novel Predictive Model to Estimate the Number of Mature Oocytes Required for Obtaining at Least One Euploid Blastocyst for Transfer in Couples Undergoing in vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection: The ART Calculator. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Feb 28;10:99. doi: 10.3389/fendo.2019.00099.
 19. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020 Dec;114(6):1151-1157. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.09.134.
 20. La Marca A, Papaleo E, Grisendi V, Argento C, Giulini S, Volpe A. Development of a nomogram based on markers of ovarian reserve for the individualisation of the follicle-stimulating hormone starting dose in in vitro fertilisation cycles. *BJOG*. 2012 Sep;119(10):1171-9. doi: 10.1111/j.1471-0528.2012.03412.x.
 21. Pinkas H, Sapir O, Avrech OM, Ben-Haroush A, Ashkenzi J, Fisch B, et al. The effect of oral contraceptive pill for cycle scheduling prior to GnRH-antagonist protocol on IVF cycle parameters and pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet*. 2008 Jan;25(1):29-33. doi: 10.1007/s10815-007-9189-7.
 22. de Ziegler D, Jääskeläinen AS, Brioschi PA, Fanchin R, Bulletti C. Synchronization of endogenous and exogenous FSH stimuli in controlled ovarian hyperstimulation (COH). *Hum Reprod*. 1998 Mar;13(3):561-4. doi: 10.1093/humrep/13.3.561.
 23. Fanchin R, Salomon L, Castelo-Branco A, Olivennes F, Frydman N, Frydman R. Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. *Hum Reprod*. 2003 Dec;18(12):2698-703. doi: 10.1093/humrep/deg516.
 24. Guivarc'h-Levêque A, Homer L, Arvis P, Broux PL, Moy L, Priou G, et al. Programming in vitro fertilization retrievals during working days after a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol with estrogen pretreatment: does the length of exposure to estradiol impact on controlled ovarian hyperstimulation outcomes? *Fertil Steril*. 2011 Oct;96(4):872-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.07.1138.
 25. Pena E, Martínez-Robles I, Pérez-Luna E, Ledezma KC, Gutiérrez G AM, et al. Estimulación ovárica en reproducción asistida. En: Pérez Pena E. *Atención Integral de la Infertilidad*. *Endocrinología, cirugía y reproducción asistida*. 4a Edición. Editorial Médica Panamericana 2020; 37:713-737. ISBN 9786078546282
 26. Kolibianakis EM, Venetis CA, Diedrich K, Tarlatzis BC, Griesinger G. 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 Nov-Dec;15(6):613-22. doi: 10.1093/humupd/dmp026.
 27. Tesarik J, Hazout A, Mendoza C. Improvement of delivery and live birth rates after ICSI in women aged >40 years by ovarian co-stimulation with growth hormone. *Hum Reprod*. 2005 Sep;20(9):2536-41. doi: 10.1093/humrep/dei066.
 28. Meldrum DR, Quaas AM, Su HI. Why is growth hormone underutilized for our most difficult IVF couples? *Fertil Steril*. 2018 Dec;110(7):1261-1262. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.09.003.
 29. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. *Fertil Steril*. 1997 Jan;67(1):93-7. doi: 10.1016/s0015-0282(97)81862-6.
 30. Massin N, Cedrin-Durnerin I, Coussieu C, Galey-Fontaine J, Wolf JP, Hugues JN. Effects of transdermal testosterone application on the ovarian response to FSH in poor responders undergoing assisted reproduction technique—a prospective, randomized, double-blind study. *Hum Reprod*. 2006 May;21(5):1204-11. doi: 10.1093/humrep/dei481.
 31. Kamath MS, Mascarenhas M, Franik S, Liu E, Sunkara SK. Clinical adjuncts in in vitro fertilization: a growing list. *Fertil Steril*. 2019 Dec;112(6):978-986. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.09.019.
 32. Balasch J, Fábregues F, Peñarrubia J, Carmona F, Casamitjana R, Creus M, et al. Pretreatment with transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in poor-responder IVF patients with normal basal concentrations of FSH. *Hum Reprod*. 2006 Jul;21(7):1884-93. doi: 10.1093/humrep/del052.
 33. García-Velasco JA, Moreno L, Pacheco A, Guillén A, Duque L, Requena A, et al. The aromatase inhibitor letrozole increases the concentration of intraovarian androgens and improves in vitro fertilization outcome in low responder patients: a pilot study. *Fertil Steril*. 2005 Jul;84(1):82-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.01.117.
 34. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2011 Jul;26(7):1768-74. doi: 10.1093/humrep/der106.
 35. Drakopoulos P, Blockeel C, Stoop D, Camus M, de Vos M, Tournaye H, Polyzos NP. 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 Feb;31(2):370-6. doi: 10.1093/humrep/dev316.
36. Sighinolfi G, Sunkara SK, La Marca A. New strategies of ovarian stimulation based on the concept of ovarian follicular waves: From conventional to random and double stimulation. *Reprod Biomed Online.* 2018 Oct;37(4):489-497. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.07.006.
 37. Vaiarelli A, Cimadomo D, Petriglia C, Conforti A, Alviggi C, Ubaldi N, et al. DuoStim - a reproducible strategy to obtain more oocytes and competent embryos in a short time-frame aimed at fertility preservation and IVF purposes. A systematic review. *Ups J Med Sci.* 2020 May;125(2):121-130. doi: 10.1080/03009734.2020.1734694.
 38. Ubaldi FM, Capalbo A, Vaiarelli A, Cimadomo D, Colamaria S, Alviggi C, 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 Jun;105(6):1488-1495.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.03.002.
 39. Fernández-Sánchez M, Visnova H, Yuzpe A, Klein BM, Mannaerts B, Arce JC; ESTHER-1 and ESTHER-2 Study Group. Individualization of the starting dose of follitropin delta reduces the overall OHSS risk and/or the need for additional preventive interventions: cumulative data over three stimulation cycles. *Reprod Biomed Online.* 2019 Apr;38(4):528-537. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.12.032.
 40. Abd-Elaziz K, Duijkers I, Stöckl L, Dietrich B, Klipping C, Eckert K, Goletz S. A new fully human recombinant FSH (follitropin epsilon): two phase I randomized placebo and comparator-controlled pharmacokinetic and pharmacodynamic trials. *Hum Reprod.* 2017 Aug 1;32(8):1639-1647. doi: 10.1093/humrep/dex220.
 41. Cruz M, Alamá P, Muñoz M, Collado D, Blanes C, Solbes E, et al. Economic impact of ovarian stimulation with corifollitropin alfa versus conventional daily gonadotropins in oocyte donors: a randomized study. *Reprod Biomed Online.* 2017 Jun;34(6):605-610. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.03.003.
 42. Lussiana C, Guani B, Mari C, Restagno G, Massobrio M, Revelli A. Mutations and polymorphisms of the FSH receptor (FSHR) gene: clinical implications in female fecundity and molecular biology of FSHR protein and gene. *Obstet Gynecol Surv.* 2008 Dec;63(12):785-95. doi: 10.1097/OGX.0b013e31818957eb.
 43. de Koning CH, Benjamins T, Harms P, Homburg R, van Montfrans JM, Gromoll J, et al. The distribution of FSH receptor isoforms is related to basal FSH levels in subfertile women with normal menstrual cycles. *Hum Reprod.* 2006 Feb;21(2):443-6. doi: 10.1093/humrep/dei317.
 44. Paulson RJ. At last, an orally active gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril.* 2019 Jan;111(1):30-31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.11.024.
 45. Abbara A, Jayasena CN, Christopoulos G, Narayanaswamy S, Izzì-Engbeaya C, Nijher GM, et al. Efficacy of Kisspeptin-54 to Trigger Oocyte Maturation in Women at High Risk of Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS) During In Vitro Fertilization (IVF) Therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Sep;100(9):3322-31. doi: 10.1210/jc.2015-2332.
 46. Meczekalski B, Katulski K, Podfigurna-Stopa A, Czyzyk A, Genazzani AD. Spontaneous endogenous pulsatile release of kisspeptin is temporally coupled with luteinizing hormone in healthy women. *Fertil Steril.* 2016 May;105(5):1345-1350.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.01.029.
 47. Kasum M, Franulić D, Čehić E, Orešković S, Lila A, Ejubović E (2017) Kisspeptin as a promising oocyte maturation trigger for in vitro fertilisation in humans. *Gynecol Endocrinol* 33:583-587. doi:10.1080/09513590.2017.1309019.
 48. Devroey P, Polyzos NP, Blockeel C. An OHSS-Free Clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod.* 2011 Oct;26(10):2593-7. doi: 10.1093/humrep/der251.
 49. Casper RF. Basic understanding of gonadotropin-releasing hormone-agonist triggering. *Fertil Steril.* 2015 Apr;103(4):867-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.129.
 50. Gozalvez-Vega A, Ninchriz E, Fernandez Sanchez E. Patients prefer subcutaneous progesterone over vaginal administration, unexpected results from a prospective trial. *Fertil Steril* 2016; 106:e323. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.915.