



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE
LOS TRABAJADORES DEL ESTADO
CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
SERVICIO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCION HUMANO

COMPARACIÓN DE DIFERENTES ESTRATEGIAS EN
EL MANEJO DE PACIENTES BAJAS RESPONDEDORAS
EN UN PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALIDAD EN

BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

P R E S E N T A :

DRA. CECILIA BERENICE MEJIA MEDINA



ASESO: DR. DANIEL MORENO GARCÍA

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2010

REGISTRO 304. 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

No. ACEPTACION DE TESIS 304.2009

DR. MAURICIO DI SILVIO LOPEZ
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

DR MAURICIO DI SILVIO LOPEZ
PROF. TITULAR DE POSTGRADO

DR. DANIEL MORENO GARCIA
ASESOR DE TESIS

DRA. CECILIA BERENICE MEJIA MEDINA
AUTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS:

A DIOS POR HACERME MAS FUERTE CON LOS CAMBIOS EN MI VIDA, POR HACERME VER QUE TODO SE MUEVE EN FUNCION DE AMOR Y EL DAR A LOS DEMAS.

A MI PADRE QUE HUBIERA PREFERIDO VIERA A MI LADO ESTE LOGRO.
A EL TODO MI AMOR, TODO MI TRABAJO Y MIS EXITOS.

A MI MADRE GRACIAS POR ESTAR CONMIGO, ESPERANDO SIGA SIENDO MI ROBLE Y FUERZA COMO HASTA AHORA,

A LALO POR CONTAGIARME DE SU ENERGIA Y DE SU SENTIDO DE RESPONSABILIDAD TODO EL TIEMPO. PERO SOBRE TODO POR SU AMOR.

A MIS HERMANOS POR SER PARTE DE MI VIDA ESPERANDO QUE MI PADRE NOS UNA MAS CADA DIA.

A CADA UNA DE LAS PACIENTES QUE HICIERON POSIBLE ESTE ESTUDIO PUES HUBIERA QUERIDO UN RESULTADO FAVORABLE PARA CADA UNA DE ELLAS. ESPERANDO ESTE SEA UN PASO QUE CONTRIBUYA A UN MEJOR PROTOCOLO O TRATAMIENTO PARA MUCHAS OTRAS CON RESULTADOS FAVORABLES.

A LOS PROFESORES QUE EN REALIDAD NOS ENSEÑAN, PUES JUNTOS PODREMOS HACER UN CAMBIO REAL EN LA MEDICINA.

INDICE	3
TITULO	4
MARCO TEORICO	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
HIPOTESIS	9
RESULTADOS	13
TABLAS Y GRAFICAS	15
DISCUSION	22
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFIA	25

TITULO:

COMPARACION DE DIFERENTES
ESTRATEGIAS EN EL MANEJO DE
PACIENTES BAJAS RESPONDEDORAS
EN UN PROGRAMA DE
REPRODUCCION ASISTIDA

MARCO TEORICO

El éxito de Fertilización In Vitro para lograr un embarazo depende de varios factores algunos de ellos importantes son el reclutamiento folicular adecuado, la cantidad de ovocitos capturados pero sobretodo la calidad de los mismos. La baja respuesta a una hiperestimulación ovárica controlada (con gonadotropinas) puede terminar en la cancelación del ciclo de estimulación, obtención de menor cantidad de ovocitos para fertilizar, de embriones disponibles a transferir y disminución de la tasa de embarazos. La incidencia de pacientes “bajas respondedoras” varía del 5 al 20%. Las bajas respondedoras requieren de dosis elevadas de gonadotropinas para obtener por lo menos algunos folículos y la captura ovocitaria usualmente es sub-óptima. Aunque es muy relacionado a la edad materna, una baja respuesta gonadotropinas también puede asociarse a endometriosis avanzada o a una cirugía ovárica previa. (1,2)

El problema fundamental en este tipo de pacientes es la disminución tanto en la cantidad como la calidad ovocitaria, esto como resultado del envejecimiento ovárico, el cual puede ser proporcional a la edad cronológica de la paciente (fisiológico) o independiente de la edad (patológico). Se considera que puede existir un defecto en los ovocitos al originarse el desarrollo fetal ovárico, éstos ovocitos por tal razón podrán ser difícilmente reclutados en los años reproductivos tardíos dando como resultado una reducción temprana del número de folículos. La cohorte reclutable (folículos antrales pequeños) durante la fase lútea tardía y la folicular temprana reflejan el estado completo del contenido folicular ovárico. Dichos folículos producen cantidades detectables de inhibina B, estradiol y hormona anti mulleriana. La elevación de estradiol > a 50pg/ml puede suprimir a la FSH, dando valores “normales” de FSH a pesar de la reserva ovárica disminuida. Una elevación de estradiol en el día 3 puede representar una tasa acelerada de desarrollo folicular (fase folicular corta) y puede por sí sola representar indicación de función folicular disminuida, así mismo la elevación de FSH (mayor de 10mul/ml) en el día 2 o 3 del ciclo menstrual puede reflejar una baja reserva folicular. Éstos pueden considerarse como factores pronósticos de la respuesta ovárica a la estimulación así como el número de folículos antrales basales, el volumen ovárico y la medición de la hormona antimulleriana.(1).

El término de bajas respondedoras no ha sido bien definido en la literatura de Técnicas de Reproducción Asistida. Estas pacientes se caracterizan por tener un número de folículos y ovocitos capturados menor a lo esperado en un tratamiento con gonadotropinas. La calidad ovocitaria también se ve comprometida en dichas pacientes aumentando las tasas de abortos espontáneos, menores tasas de embarazos clínicos y de implantación. Es muy importante la identificación prospectiva de la paciente baja respondedora para aplicar un régimen de estimulación apropiado e individualizado. El reto es saber que protocolo de estimulación es el más adecuado para este tipo de pacientes, para disminuir los ciclos cancelado, aumentar los embriones disponibles a transferir y aumentar la tasa de embarazos.(1)

Debido a que el diagnóstico de baja respondedora no es bien aceptado por la paciente ni por la pareja, muchos de ellos insisten en continuar intentando ciclos de estimulación y de fertilización con sus propios óvulos evitando a toda costa la donación de ovocitos o la adopción. Por esta razón es de gran interés conocer más estrategias de estimulación para mejorar sus resultados de forma individual.

En un estudio reciente del rol del polimorfismo del gen receptor de FSH, se concluyó que en una mujer con disfunción ovárica infértil que porta la variante de alelo Ser/Ser necesita

mayor dosis de gonadotropinas y tendrá peor respuesta a la estimulación y las buenas respondedoras portan el alelo Asn/Ser para dicho receptor, el cual tiene mayor sensibilidad a la FSH y mejor respuesta en las pacientes con disfunción ovárica. Esta variación puede explicar la diferencia de respuesta a la administración de FSH. (3). La descripción de mutación en el receptor de FSH engrandece la importancia de FSHR en determinar la respuesta ovárica. La baja expresión de FSHR en las células de la granulosa es probablemente la causa de la pobre respuesta ovárica con gonadotropinas aún subiendo la dosis. (4).

Dentro de la definición más común de baja respondedora es que los requerimientos de gonadotropinas en la paciente son muy altos, menor número de folículos desarrollados, niveles bajos de estradiol (<500pg/ml) en el día de la aplicación de hCG, 3 o menos ovocitos obtenidos en la captura, antecedente de un ciclo cancelado por falta de reclutamiento o niveles elevados de FSH en el día 3. (5).

Algunas de las causas que pueden disminuir la reserva ovárica son el tabaquismo, que se ha asociado con el aumento de niveles de FSH, menor respuesta a gonadotropinas, más cancelaciones de ciclo y menor tasa de embarazo. La edad puede disminuir la reserva ovárica relacionado a el aumento de estrés oxidativo que compromete la microcirculación que rodea al folículo y un aumento en los defectos de la función de las células de la granulosa. La no disyunción meiótica el mecanismo más importante que causa aneuploidías relacionadas con el envejecimiento reproductivo o la disminución de la reserva ovárica.

El mejor resultado medible del éxito de los protocolos de estimulación en programas de FIV es la tasa de nacidos vivos, esto requiere un gran número de participantes, por ejemplo para detectar una significancia estadística en la tasa de nacidos vivos, para obtener un 10 a 20% se requiere aproximadamente 200 pacientes en cada grupo. Muchas veces solo los parámetros como la cantidad del estradiol y el número de folículos obtenidos son los únicos parámetros que se miden, pero el aumento en la cantidad de número de folículos u ovocitos pueden no ser capaces de lograr un embarazo, esto debe de ser considerado en las estrategias que apliquemos en cada una de las pacientes y debe ser explicado a la pareja en tratamiento. (1, 5)

Se han descrito varias estrategias como tratamiento en pacientes bajas respondedoras:

La primera estrategia lógica es aumentar la dosis de gonadotropinas (450 a 600UI) en pacientes que no respondieron con dosis de 300UI, en 1980 2 publicaciones reportaron que el aumento de la dosis aumenta el desarrollo folicular reduce la tasa de ciclos cancelados, 3 estudios subsecuentes no confirmaron ninguna ventaja de usar dosis tan altas en bajas respondedoras.(6). En una revisión del Centro de Efectividad Clínica del uso de dosis altas de folitropinas no se encontró beneficio alguno. (7).

El uso de hormona folículo estimulante recombinante ha sido una estrategia, desde la introducción en 1990 de la FSH primero purificada y luego la recombinante se han observado mejores resultados. (8). Aunque en un meta análisis no hubo significancia estadística entre la FSHr y la hMG en ciclos de FIV/ICSI.(9).

El uso de FSHr durante la fase lútea tardía del ciclo previo junto con el uso de agonistas de GnRH (protocolo largo) a favor de aumentar el reclutamiento folicular en bajas respondedoras produciendo mayor número de ovocitos metafase II comparado con protocolo corto de GnRH junto con dosis altas de FSH.(10).

La suplementación con LHr tiene un efecto benéfico en la calidad ovocitaria, este es un factor importante cuando el número de embriones a transferir es bajo. En bajas respondedoras el uso de LHr en la fase folicular temprana tiene efectos adecuados en la maduración y fertilización de los ovocitos así como en el número de embriones transferidos. (11).

Se sabe que el uso de agonistas de GnRH evita el pico prematuro de LH, la luteinización prematura y la flexibilidad del ciclo pero se ha observado que puede causar "downregulation" de GnRH lo cual produce una depleción profunda de FSH y LH endógena lo que hace más difícil o imposible lograr una adecuada respuesta folicular. En las malas respondedoras se observan efectos adversos como son en el reclutamiento folicular, maduración ovocitaria y el desarrollo embrionario por la supresión ya mencionada. (12).

Por lo que se considera que disminuir la dosis de agonistas de GnRH es benéfico para las bajas respondedoras,

El protocolo corto o "flare de GnRH" ha sido utilizado para evitar la supresión profunda por el downregulation y tomar ventaja de la liberación inicial FSH y LH de la hipófisis como respuesta a los agonistas de GnRH, pero puede elevar la LH en la fase folicular temprana provocando una luteinización prematura y baja calidad ovocitaria. Se utiliza una dosis de 10U desde el 2 o 3er día del ciclo menstrual hasta el día del disparo con hCG e iniciando gonadotropinas el mismo 2do. día del ciclo. El uso e inicio de acetato de leuprolide en la fase folicular tempranas se ha usado para lograr el efecto de "flare" en la hipófisis que libera FSH y LH endógena. Los protocolos de flare aumentan el número de folículos reclutados y se acorta la fase folicular comparado con el protocolo largo de estimulación.(13)

El protocolo de "microdosis flare" con GnRH tiene la desventaja del flare standard evitando sus inconvenientes de supresión profunda de gonadotropinas endógenas en la fase folicular temprana, se inicia el GnRH a partir del 2 o 3er día del ciclo, dosis de 20, 40 o 50mcg, 2 veces al día hasta el día del disparo con hCG e iniciando gonadotropinas el 4to día del ciclo. (1, 18, 19). El uso de microdosis flare de GnRH tiene como ventaja que al utilizar el pico inicial de la secreción de gonadotropinas aumenta el pico de estradiol, reduce los requerimientos de gonadotropinas, favorece el desarrollo multifolicular y produce más folículos maduros. A pesar de que se usa solo una quinta parte de la dosis habitual de acetato de Leuprolide no hay mayor riesgo en luteinización prematura y no evidencia de ovulación.

Con el uso de antagonistas la supresión de las gonadotropinas endógenas en la fase folicular temprana como lo es con los agonistas de GnRH no se presenta. La combinación de la FSH y LH endógenas con las dosis exógenas de gonadotropinas maximiza la dosis entregada o útil a la cohorte folicular reclutable en la fase folicular temprana y la elevación de LH prematura se inhibe al iniciar antagonistas de GnRH cuando los folículos de manera individual miden 13 o 14mm. Se asocia a protocolos de estimulación más fáciles, menos costosos y más cortos en duración para ciclos consecutivos. (14). La comparación de protocolo largo de agonista vs antagonista revela estimulaciones más cortas y menor dosis de gonadotropinas utilizada con el esquema de antagonistas pero con una tasa de embarazo equivalente. (15). Un ensayo controlado aleatorizado comparó que microdosis de flare y antagonistas demostraron una tasa equivalente de cancelación, embarazos y de implantación. (16). Sabemos que el uso de antagonistas puede traer consigo un crecimiento asincrónico lo cual se disminuye o mejora la disparidad de crecimiento utilizando anticonceptivos orales en el ciclo previo e incrementa el número de folículos y de embriones obtenidos.

Los inhibidores de aromatasa como letrozol y anastrozol han demostrado disminuir la dosis de gonadotropinas necesaria para hiperestimulación ovárica controlada. Recientes estudios mejora la respuesta ovárica a FSH.

Entre los tratamientos adyuvantes existe el uso de hormona del crecimiento (HC), ésta actúa directamente en las células de la granulosa al desarrollar folículos o a través de la estimulación del factor de crecimiento tipo insulina (IGF-1) aumentando la respuesta de las células de la granulosa a la FSH. Aunque algunos estudios sugirieron beneficios estudios controlados aleatorizados no demostraron mejoría alguna en la respuesta ovárica. (17).

Las ventajas de un ciclo natural en Fertilización in Vitro o con mínima estimulación son que no hay riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica, no uso o uso de dosis bajas de gonadotropinas y que es un tratamiento amigable y de fácil apego para la paciente. El ciclo natural se trata de tener un seguimiento ultrasonográfico diario apartir del 7mo día del ciclo menstrual y cuando el folículo dominante mida 16mm se debe aplicar hCG para favorecer la ovulación, en algunas ocasiones se realiza medición urinaria de LH para evitar la luteinización prematura, 34 a 36hrs después se realiza la captura ovular del ovocito único, se inseminación del mismo o ICSI y después la transferencia embrionaria. El ciclo de mínima estimulación esta basado en que la dominancia del único folículo será determinado por la selección natural del mismo, para cuando el ovocito DOMINANTE ya tiene la cantidad de receptores de FSH, es decir que mide aproximadamente 14mm se inicia antagonistas a dosis de 0.25mg al día aunado a mínima dosis de FSHr de 150 a 200U al día para evitar la detención de desarrollo del folículo por el uso de antagonistas. El uso de antagonistas es para evitar la lúteinización precoz y la ovulación, tratando de disminuir así la cancelación de ciclos (Paulson et al. 1994)

El hatching asistido en el laboratorio es una estrategia utilizada pues se considera que los embriones en bajas respondedoras pueden tener una zona pelucida gruesa, endurecida y con menor actividad de enzima "tripsina like" necesaria para la ruptura de la misma haciendo que las condiciones para la implantación no sean óptimas aunado a la baja cantidad de ovocitos que se obtienen y la tasa elevada de aneuploidía obliga al clínico y al laboratorio de embriología a mejorar todo lo que este al alcance para favorecer la fertilización, implantación y el embarazo. Las pacientes que se ven beneficiadas con esta técnica son las mayores de 38 años, ciclo previo de FIV fallido y grosor de zona pelucida mayor de 15µm. Schoolcraft reportó tasa de implantación de 33% vs 7% en quienes si se realizó hatching y quienes no respectivamente.(18).

Screening de aneuploidía pre implantación es una técnica realizada por FISH en pacientes que tienen fallo o pobres resultados de un ciclo de FIV. En estas pacientes se ha encontrado anomalidades cromosómicas de los embriones en un 57 a 66%.

Por ultimo la maduración in vitro propuesta por Requena, la microinyección de citoplasma de pacientes donadoras en los ovocitos de pacientes con mal pronóstico o la transferencia nuclear es decir la transferencia de la vesícula germinal a un ovocito enucleado sano propuesta por Cohen son otras técnicas con resultados adecuados y los cuales tendrán que seguirse estudiando para comprobar su beneficio en este tipo de pacientes (18).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las pacientes bajas respondedoras son todo un reto para el clínico pues además de que debe usar un protocolo de estimulación individualizado en donde se obtenga mejor respuesta folicular para obtener embriones que transferir de adecuada calidad también debe el clínico considerar los límites de la estimulación ovárica y las Técnicas de Reproducción Asistida en su intento por lograr un embarazo en una paciente que puede ser que esté en contra de la EFICIENCIA en el servicio de Biología de la Reproducción al gastar más recursos de los que se deben solo en esa paciente sin tener resultados satisfactorios.

JUSTIFICACION

La paciente baja respondedora se caracteriza por consumo exagerado de recursos materiales y humanos aumentado así los costos en el servicio sin que generalmente tengan un resultado favorable. Usualmente se utilizan de dos a tres veces más la dosis de gonadotropinas que en pacientes normo-respondedoras, son más los días de estimulación, requiriendo así, dosis totales más altas y mayor número de consultas al servicio. Hasta el momento no existe una estrategia que asegure mejores resultados con un menor consumo de recursos. Por lo que el estudio esta enfocado a buscar un protocolo de estimulación que tenga mayor eficacia, efectividad y seguridad para la paciente y para el servicio de Biología de la Reproducción.

HIPOTESIS

¿Existe un protocolo de estimulación ovárica en pacientes bajas respondedoras que aumente los ovocitos capturados, los ovocitos maduros y que se acompañe de una menor tasa de cancelación?

¿Algún protocolo de los estudiados disminuye los días de estimulación en el ciclo, la dosis total de FSH recombinante y que mejore la tasa de fertilización, implantación y embarazo clínico en este grupo de pacientes?

OBJETIVOS PRIMARIOS

Tener una opción diferente de estrategia en las pacientes bajas respondedoras del que previamente se había utilizado (protocolo largo con agonista de GnRH) que mejore el número de folículos durante la estimulación, la tasa de captura, fertilización, implantación y embarazos clínicos en nuestro servicio.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

Disminuir la tasa de cancelaciones de ciclos de estimulación y disminuir los casos en que no haya transferencia embrionaria

Hacer experiencia propia del servicio con diferentes tipos de estimulación y comparar resultados con los de la literatura mundial.

MATERIAL Y METODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio experimental, con muestreo aleatorio simple, asignación aleatoria, comparativo, grupo de comparación concurrente, homodémico, transversal, ambispectivo, retro y prolectivo, evaluación abierta.

SUJETOS DEL ESTUDIO

Se incluyeron a todas las pacientes que con el tipo de estimulación protocolo largo con agonistas de GnRH (standard) fueron canceladas por falta de respuesta o en las cuales se haya obtenido menos de 4 folículos al día del disparo con hCG o en la captura ovular. La asignación fue aleatoria simple (con la toma de un número de protocolo con papelitos en una bolsa), siendo protocolo 1 ciclo natural con mínima estimulación y el 2 uso de antagonistas de GnRH.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión: Pacientes derechohabientes del instituto tratadas en el servicio de Reproducción Humana de la Coordinación de Ginecoobstetricia del Centro Medico Nacional "20 de Noviembre" que hayan tenido un ciclo previo de estimulación en el cual el número de folículos maduros al día de disparo con hGC hayan sido $< a 4$, con estradiol $< de 500pg/ml$ o que el ciclo se haya cancelado por falta de respuesta folicular.

Criterios de exclusión: Pacientes que no acepten el uso de un nuevo tipo de estimulación, FSH mayor de 20 y pacientes mayores de 42 años.

Criterios de eliminación: Pacientes que logren embarazo espontáneo en el tiempo de tratamiento y seguimiento del estudio. Que abandonen el tratamiento en alguna de sus fases.

DESCRIPCION DEL ESTUDIO

Entraron las pacientes de ciclo de fertilización in Vitro de Enero 2007 a Julio 2009 que tuvieron baja respuesta con el uso de agonistas de GnRH en protocolo largo siendo éste el grupo control

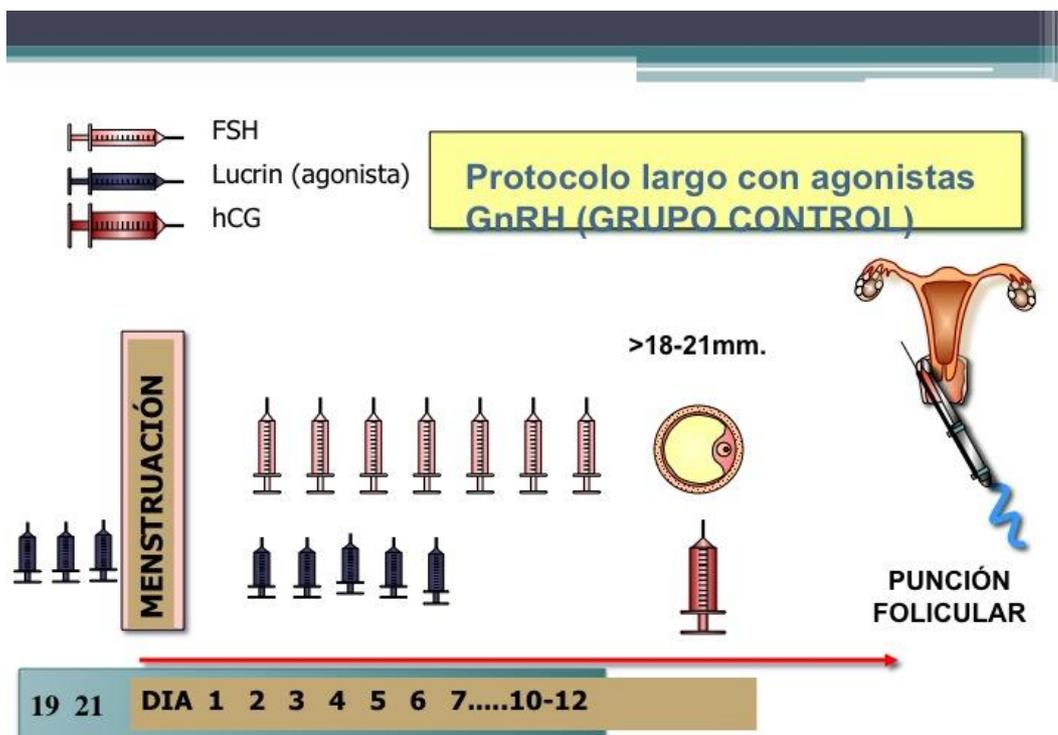
El grupo control es en el que se utilizó agonistas de GnRH desde la fase lútea previa (apartir del día 19 del ciclo anterior) dosis de 1U/d, los anticonceptivos se tomaron hasta la tableta 21, apartir del 2 día de la menstruación se disminuyó la dosis a 0.5U/d y se agregó FSHr a dosis de 300 a 450U/d dependiendo de la FSH basal de cada paciente, el agonista y la FSHr se aplicó diario hasta el día en que se aplicó la hCG (choragon 10,000UI) que es cuando algún folículo midió 18mm. (ver esquema 1)

Una vez que cumplieron los criterios de inclusión que son: número de folículos maduros al día de disparo con hGC $< a 4$, estradiol $< de 500pg/ml$ o que el ciclo se haya cancelado por falta de respuesta folicular. Se hizo una asignación al azar simple para los 2 esquemas de estimulación.

Grupo 1 Ciclo natural con mínima estimulación, es decir con mínima dosis de folitropinas, FSHr a dosis de 150 a 300U/d iniciándose el día que empiece la dosis de antagonista (folículo de 14mm), se hará USG endovaginal el segundo día del ciclo menstrual y diario apartir del 7mo día del ciclo, en el momento que el folículo mida 14mm se iniciará el uso de cetorelix a 0.025mg diario antagonista de GnRH y se disparo con hCGr 500mcg (Ovidrell) cuando el folículo midio 16mm, 34hrs después se realizo la captura ovular, la transferencia embrionaria en cuanto al día y el número de embriones a transferir fue según lo obtenido y a la calidad embrionaria. (ver esquema 2)

Grupo 2 de estimulación fue con folitropinas apartir del 2do día de estimulación con dosis mínima de 225U de FSHr y 75U de LHr, se iniciará antagonista de GnRH cuando el folículo mida 14mm hasta el día del disparo con hCGr 500mcg (Ovidrell) cuando el folículo mida 18mm, se hará USG endovaginal el segundo día del ciclo y diario apartir del 8 día del ciclo. El grupo 3 de estimulación será micloflare up, iniciando GnRHa (Lucrin) el primer día del ciclo, dosis de 10U al día y FSHr 300U diario hasta el día del disparo con hCGr (Ovidrell) 500mcg cuando el folículo mida 18mm. Todas las pacientes irán a ICSI. (ver esquema 3)

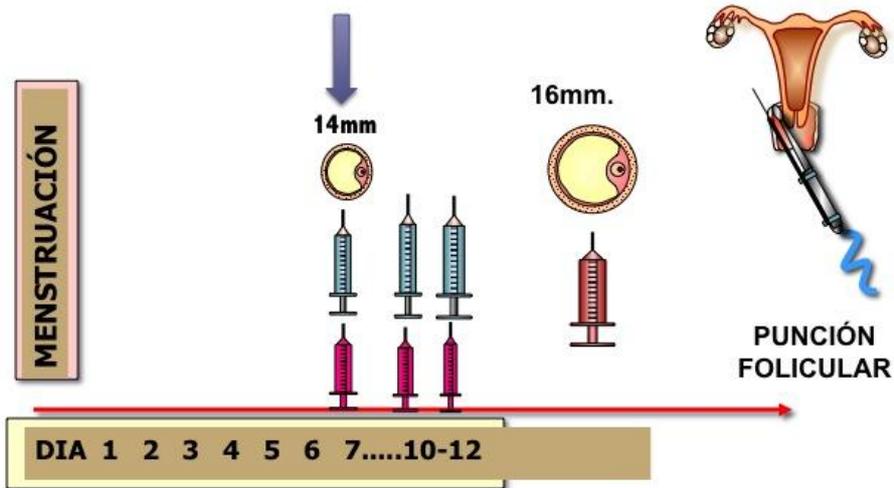
ESQUEMA 1



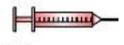
ESQUEMA 2

-  Cetrotide 0.25mg
-  FSH
-  hCG

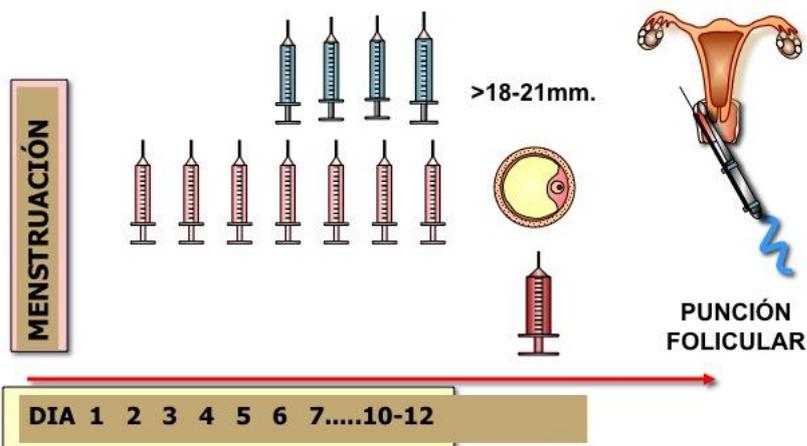
Protocolo CICLO NATURAL modificado



ESQUEMA 3

-  Cetrotide día 6 o 7
-  FSH
-  hCG

Protocolo con antagonistas



Se reportarán los resultados según las siguientes variables

1. Edad. Número de años a partir de la fecha de nacimiento.
2. Causa de infertilidad
3. Días de estimulación: unidad días. (aplicación de FSHr o LHR)
4. Número de folículos antrales basales.
5. Número total de ampullas utilizadas.
6. Folículos > 14mm el día de hCG.
7. Grosor endometrial.
8. Ovocitos capturados: número
9. Ovocitos maduros (metafase II)
10. 2PN (ovocitos fertilizados en día 1)
11. Tasa de fertilización: porcentaje
12. Tasa de implantación: porcentaje
13. Tasa de embarazo (saco gestacional y FCF por USG)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó análisis con estadística descriptiva e inferencial. Se utilizará SPSS 17.0. Se corroboró que las variables tienen una distribución normal para reportar los resultados en media y desviación estándar. La correlación de las variables se hará con tSudent por tratarse de 2 grupos independientes con variables independientes y distribución normal.

ASPECTOS ETICOS

Se realizó el registro del protocolo con el comité de Investigación y de Ética. A cada paciente se le entregó un Consentimiento Informado Especial donde informa detalladamente el estudio y el tipo de estimulación.

RESULTADOS

compararon los resultados del ciclo previo de estimulación con GnRHa en el cual se obtuvo baja respuesta con los resultados del nuevo tipo de estimulación en la misma paciente: Ciclo natural Modificado (CNM) o con antagonistas, asignados al azar. De las 20 pacientes con baja respuesta 10 fueron asignados a CNM y 10 a antagonistas.

Del grupo de pacientes (10) con estimulación protocolo largo con agonistas de GnRH la edad promedio fue 37.2 ± 1.6 , con una FSH promedio de 9.8 ± 4.7 UI/ml, el 50% (5) de los ciclos se cancelaron, 2 por falta de respuesta folicular, 2 por no captura ovocitaria y 1 por FALTA DE DESARROLLO EMBRIONARIO, comparado con el CNM en las mismas pacientes se canceló en un 40% (4), 2 por falta de respuesta, 1 por falta de captura y 1 por no transferencia manejando una edad promedio de 37.5 ± 1.5 y una media de FSH basal de 10.1 ± 3.7 UI/ml.

El promedio de días de estimulación fue de 11.3 ± 1.4 ($p < 0.05$) vs 3.4 ± 0.8 para ciclos de agonistas vs natural respectivamente. El número de folículos antrales basales fue similar en ambos tipos de estimulación. Existió una diferencia muy significativa en la dosis total de FSHr, en el CNM dosis promedio de 830 ± 362 UI vs 5730 ± 1335 UI con antagonistas ($p < 0.05$). En la estimulación con agonistas protocolo largo se esperaba un desarrollo multifolicular pero el promedio de folículos de > 14 mm fue de 2.1 ± 1.6 vs 0.8 ± 0.42 en CNM en donde se sabe y se espera una estimulación monofolicular, no hubo diferencia en el grosor endometrial al día del disparo con hCG. El promedio de ovocitos capturados fue de 0.7 ± 0.48 vs 1.4 ± 1.57 (CNM vs agonistas de GnRH), promedio ovocitos maduros 0.6 ± 0.51 vs 1.2 ± 1.41 . El porcentaje de embriones de buena calidad fue el mismo con los dos tipos de estimulación 50% (ver Gráfica 11). Una tasa de embarazo por ciclo iniciado en CNM de 5% y tasa de embarazo por ciclo transferido de 16.6% vs tasa de embarazo por ciclo iniciado en protocolo largo de 0% y por ciclo transferido del 0%. (ver Tabla 1, gráfica 1 y 2).

En el segundo grupo de pacientes que tuvieron baja respuesta a la estimulación de GnRHa se cancelaron 5 ciclos; 1 por no respuesta folicular, 3 por no captura de ovocitos y 1 por no transferencia por embrión arrestado. En el grupo de antagonistas se cancelaron 3; 1 por falta de respuesta, 1 por falta de captura ovocitaria y 1 por no transferencia por ser ovocito inmaduro. (ver Tabla 2).

De las pacientes que fueron asignados a estimulación con antagonistas se tiene una edad promedio de 35.9 ± 2.1 vs protocolo largo edad promedio de 35.7 ± 2.3 , FSH promedio de 9.61 ± 3.3 UI/ml vs 9.2 ± 2.3 UI/ml y promedio de días de estimulación 9.5 ± 1.5 vs 9.2 ± 1.5 respectivamente. El número de folículos antrales basales (5 vs 4.8) y la captura de ovocitos fue mayor en el grupo de antagonistas (2.3 ± 1.63 vs 1.7 ± 1.70) comparado con el de agonistas. Hubo mayor cantidad de folículos desarrollados al día de disparo con hCG con antagonistas 3.9 ± 1.9 vs 2.7 ± 1.4 con agonistas, el grosor endometrial no se vio modificado pero si mayor promedio de ovocitos maduros de 2.2 ± 1.87 vs 1.6 ± 1.64 (antagonistas vs protocolo largo de agonistas). El número de embriones transferidos fue similar en ambos grupos. (ver Tabla 2, gráfica 3, 4 y 12).

El grupo que menor ciclos cancelados tuvo fue el de uso de antagonistas y el de menor dosis de FSHr utilizada es el de Ciclo Natural Modificado. Comparando los tres tipos de estimulación (agonistas protocolo largo, antagonistas y CNM) se observa mayor cantidad de folículos > 14 mm en el grupo de antagonistas (3.9 ± 1.9), pero al parecer ningún tipo de estimulación mejora la calidad embrionaria (embriones 1,2+) pues el promedio de los mismos en los 3 tipos de estimulación fue similar (ver tabla 1, 2 y 3 y gráficas 12, 13 y 14). En los 4 grupos de pacientes se observa la misma baja cantidad de folículos antrales que tienen en el día 2 del ciclo, confirmando que éste es un factor pronóstico a la baja respuesta ovárica de este tipo de pacientes durante cualquier tipo de estimulación controlada (ver gráfica 8, 9 y 10). La tasa de implantación (16%) y de embarazo por transferencia (16%) ciclo natural

modificado fue mayor en comparación con el ciclo de antagonistas de 0%, 0% y con protocolo largo de agonistas 0 y 0% respectivamente (ver gráfica 2,4 y 6).

Tabla 1.

	Ciclo Natural(n10)	Ciclo control Agonista(n10)	p(IC 95%)
No. Ciclos cancelados	4	5	-
Media edad	37.5±1.5	37.2±1.6	0.67
Media FSH basal (IU/ml)	10.1±3.7	9.8±4.7	0.48
Media de días de estimulación	3.4±0.8	11.3±1.4	<0.05
No Foliculos antrales	5.6±3.5	5.4±3.8	0.9
Media dosis total de FSHr (UI)	830±362.2	5730±1335.8	<0.05
Grosor endometrial (mm)	9.7±1.8	10±2.224	0.75
Folículos > 14mm el día de hCG	0.8±0.42	2.1±1.6	0.03
Media Ovocitos capturados	0.7±0.48	1.4±1.57	0.19
Media Ovocitos maduros	0.6±0.51	1.2±1.41	0.22
Media 2PN	0.6±0.51	1.1±1.44	0.31
Media embriones 1,2+	0.3±0.48	0.3±0.67	0.9
Media embriones transferidos	0.6±0.51	1.1±1.44	0.32
Tasa de fertilización (%)	88	90	0.9
Tasa de implantación (%)	16	0	0.30
Tasa embarazo por ciclo (%)	10	0	0.30
Tasa embarazo/ transferencia(%)	16	0	0.10

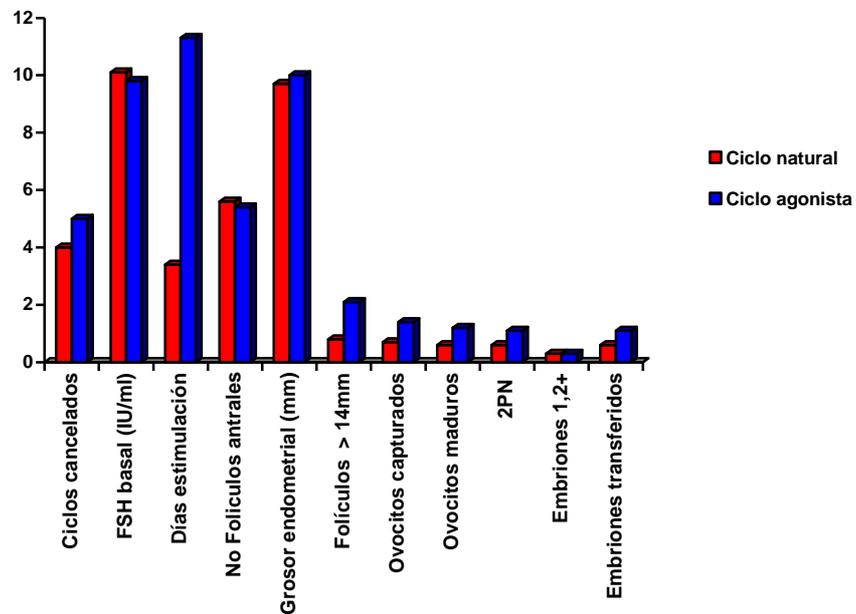
Tabla 2.

	Ciclo Antagonista (n10)	Ciclo Agonista control (n10)	P(IC 95%)
No. Ciclos cancelados	3	4	-
Media edad	35.9±2.1	35.7±2.3	0.84
Media FSH (IU/ml)	9.6±3.3	9.2±2.3	0.75
Media de días de estimulación	9.5±1.5	9.2±1.5	0.66
No Foliculos antrales	5±2	4.8±1.51	0.80
Media dosis total de FSHr (UI)	3840±1091	3910±1417	0.90
Grosor endometrial (mm)	8.8±2.9	9±2.4	0.86
Folículos > 14mm el día de hCG	3.9±1.9	2.7±1.4	0.12
Media Ovocitos capturados	2.3±1.63	1.7±1.70	0.43
Media Ovocitos maduros	2.2±1.87	1.6±1.64	0.42
Media 2PN	1.9±1.59	1.4±1.42	0.46
Media embriones 1,2+	0.2±0.42	0±0.31	0.24
Media embriones transferidos	1.3±1.34	1.2±1.47	0.87
Tasa de fertilización (%)	91	89.3	0.9
Tasa de implantación (%)	0	0	-
Tasa embarazo por ciclo (%)	0	0	-
Tasa embarazo/ transferencia(%)	0	0	-

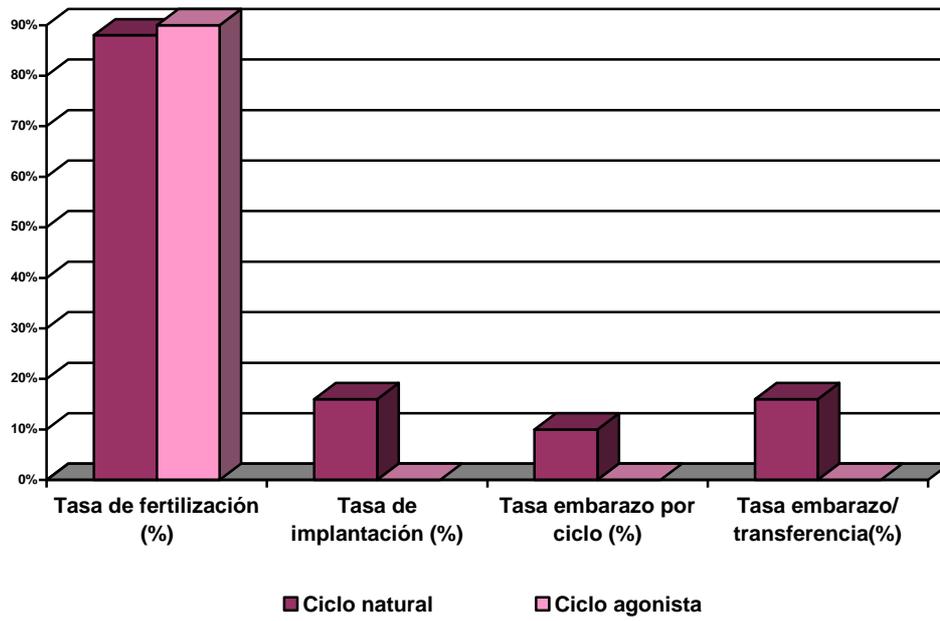
Tabla 3.

	Ciclo natural (n10)	Ciclo Antagonistas (n10)	P(IC 95%)
No. Ciclos cancelados	4	4	-
Media edad	37.5±1.5	35.7±2.3	0.99
Media FSH basal (IU/ml)	10.1±3.7	9.2±2.3	0.52
Media de días de estimulación	3.4±0.8	9.2±1.5	<0.05
No Foliculos antrales	5.6±3.5	4.8±1.51	0.51
Media dosis total de FSHr (UI)	830±362.2	3910±1417	<0.05
Grosor endometrial (mm)	9.7±1.8	9±2.4	0.47
Fóliculos > 14mm el día de hCG	0.8±0.42	2.7±1.4	<0.05
Media Ovocitos capturados	0.7±0.48	1.7±1.70	0.09
Media Ovocitos maduros	0.6±0.51	1.6±1.64	0.08
Media 2PN	0.6±0.51	1.4±1.42	0.11
Media embriones 1,2+	0.3±0.48	0±0.31	0.11
Media embriones transferidos	0.6±0.51	1.2±1.47	0.23
Tasa de fertilización (%)	88	89.3	0.9
Tasa de implantación (%)	16	0	0.30
Tasa embarazo por ciclo (%)	10	0	0.30
Tasa embarazo/ transferencia(%)	16	0	0.10

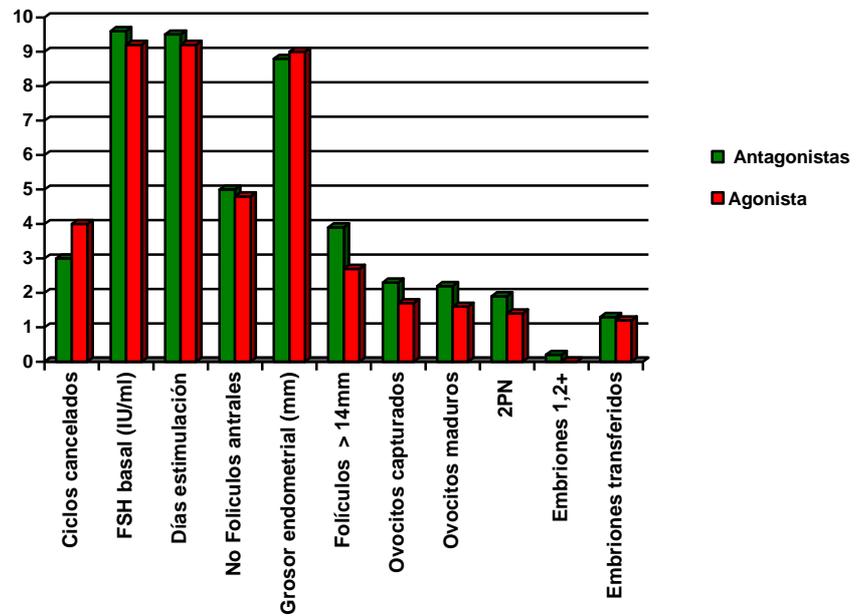
Gráfica 1. Resultados comparativos de medias



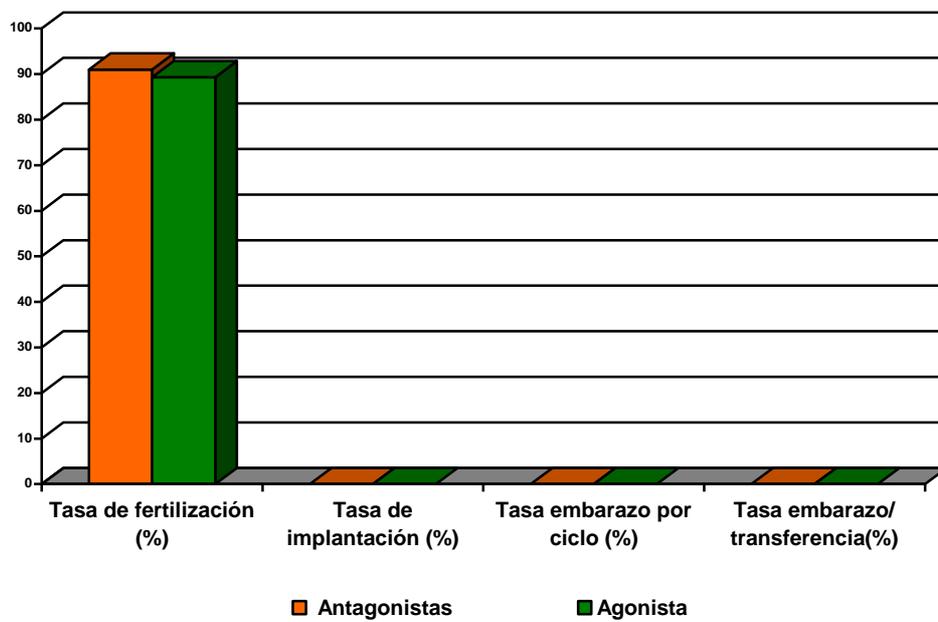
Gráfica 2. Resultados comparativos de tasas



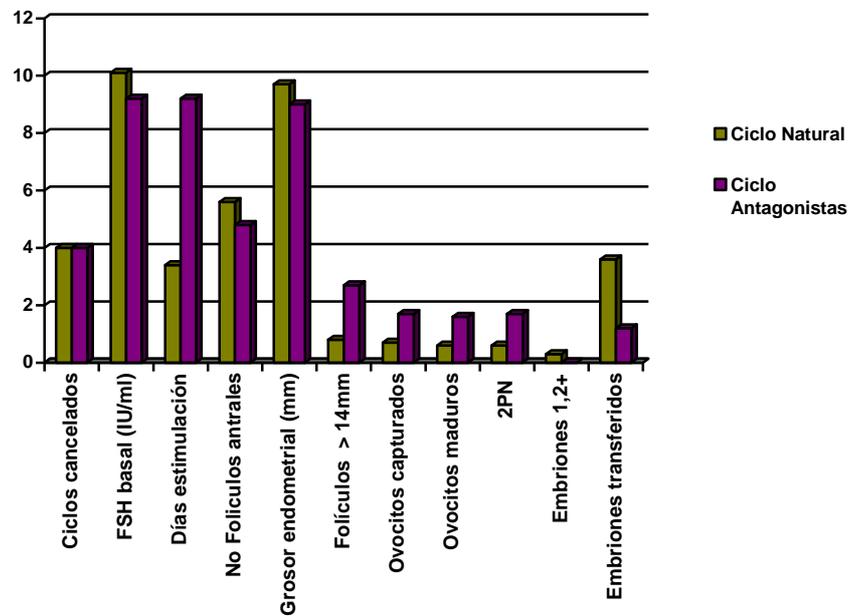
Gráfica 3. Resultados comparativos de medias



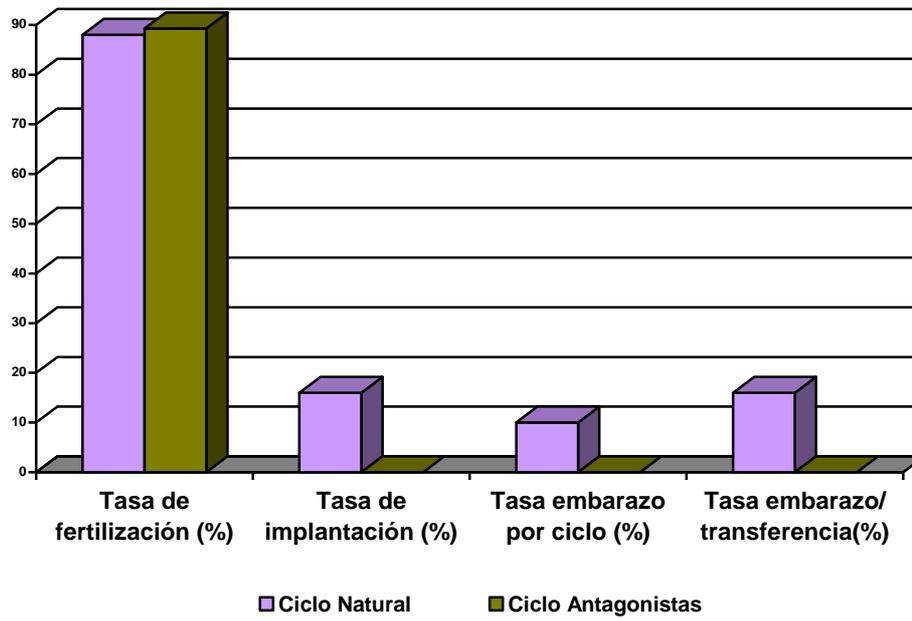
Gráfica 4. Resultados comparativos de tasas



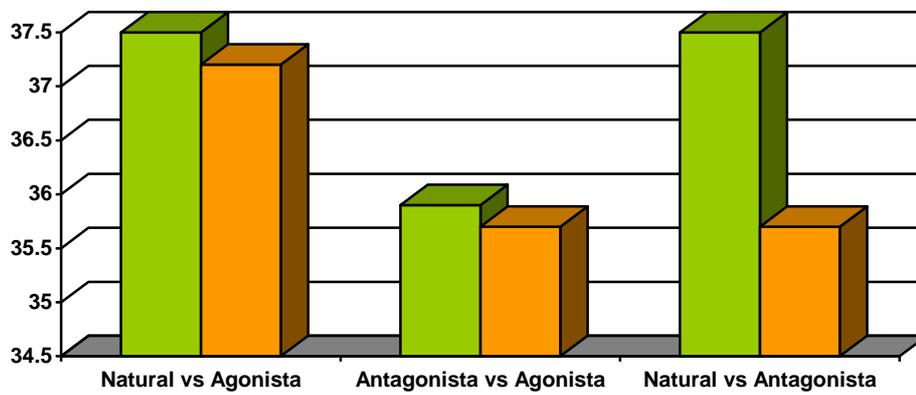
Gráfica 5. Resultados comparativos de medias



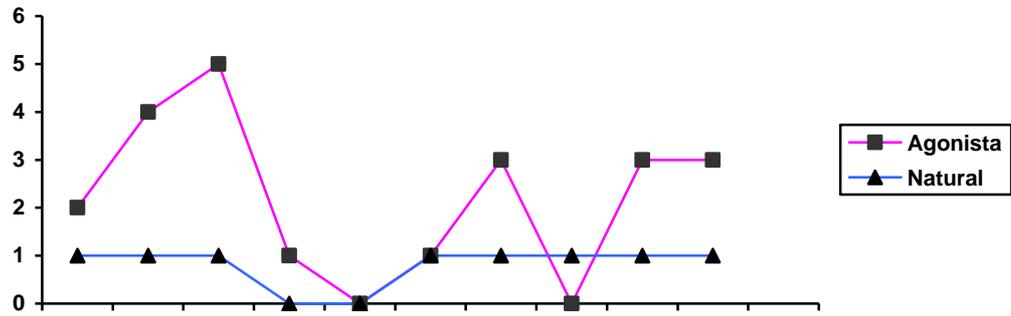
Gráfica 6. Resultados comparativos de tasas



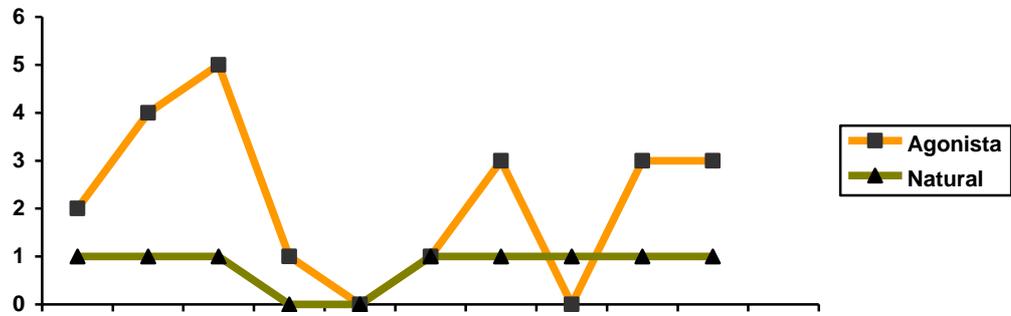
Grafica 7. Edad entre los tres grupos comparativos de estimulación



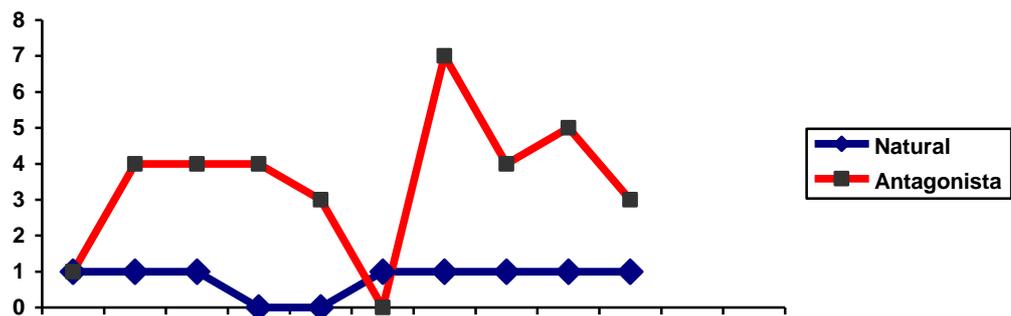
Gráfica 8. Número de folículos obtenidos al tipo de estimulación



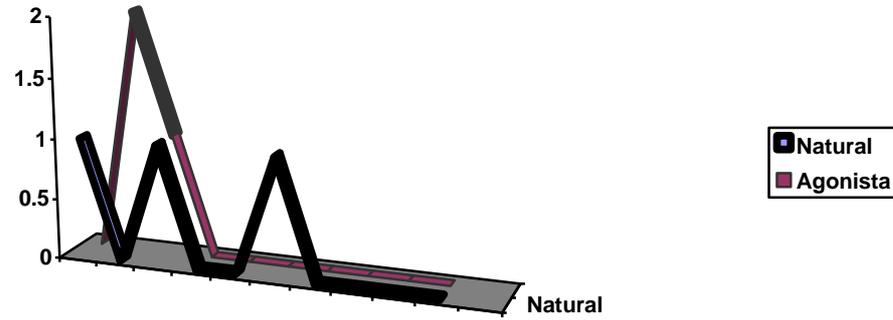
Gráfica 9. Número de folículos obtenidos al tipo de estimulación



Gráfica 10. Número de folículos obtenidos al tipo de estimulación

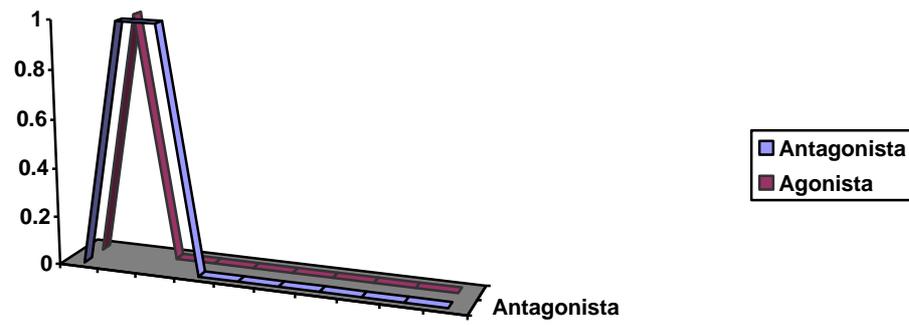


Gráfica 11. Número de embriones de buena calidad de acuerdo al tipo de estimulación

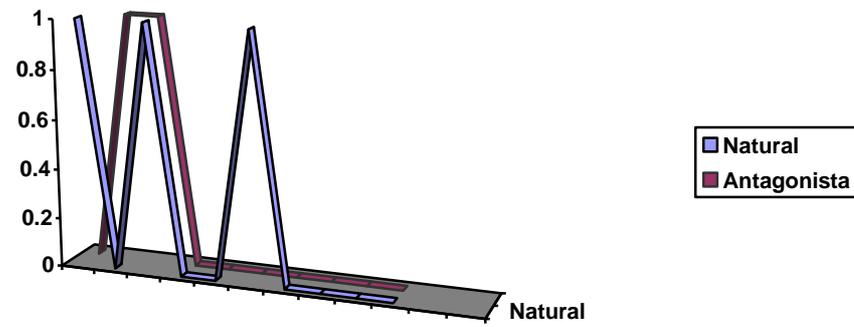


Embriones de buena calidad son tipo 1 y 2+, de 4, 6 y 8 células

Gráfica 12. Número de embriones de buena calidad de acuerdo al tipo de estimulación



Gráfica 13. Número de embriones de buena calidad de acuerdo al tipo de estimulación



DISCUSION

Debido a que no hay datos disponibles que comparen ciclo natural modificado contra uso de antagonistas y FSHr en la literatura para poder evaluar la efectividad del tratamiento, la decisión del tamaño de la muestra fue arbitraria para realizar la primera evaluación de ambos protocolos de estimulación.

La cancelación de los ciclos en ciclos no estimulados se ha reportado de un 17 a 47% (Paulson et al. 1992; Claman et al., 1993; Fahy et al., 1995). Similar a nuestra tasa de cancelación en el ciclo natural modificado.

Existen 5 ensayos controlados aleatorizados comparando el uso de agonistas protocolo corto vs antagonistas de GnRH en bajas respondedoras (Akman et al., 2001; Martinez et al., 2003; Malmusi et al., 2005; Schmidt et al., 2005; De Placido et al., 2006) revisados en un meta análisis de Griesinger et al., 2006, en los cuales se apoya el uso de protocolo flexible de antagonistas en pacientes bajas respondedoras debido a una mayor tasa de embarazo en dicha estimulación. Dato el cual no se confirma con nuestro estudio pues en el grupo de antagonistas no hubo mayor tasa de embarazo. Esto si se observó en el CNM y puede deberse a el ambiente hormonal fisiológico tanto intrafolicular como endometrial y también a la propia selección natural del propio cuerpo del folículo a crecer y dominar el cual es el único que se captura y por ende el único que se transfiere.

Se observa una tasa de embarazo en CNM similar a la que reporta Bassil et al. en un estudio pequeño prospectivo analiza 11 pacientes que fueron a 16 ciclos naturales de FIV reporta una tasa de embarazo de 18.6% pero la edad (37.5) y la FSH (10IU/ml) son menores a las incluidas en este estudio.(21). En un estudio similar de Feldman et al. evaluó 22 pacientes que fueron a 44 ciclos naturales de FIV, la tasa de embarazo y de implantación fue de 20%, sin embargo utilizó otros criterios para definir bajas respondedoras (basado en los ovocitos capturados y la FSH del día 3 de 13.3 UI/ml. (22).

Otro estudio que reporta datos parecidos a los nuestros son los de Lindheim et al. que reporta una tasa de embarazo por transferencia de 16.6% y tasa de implantación de 33% en 30 pacientes que fueron a 35 ciclos naturales las cuales tenían menos de 40 años y una FSH en el día 3 menor a 11UI/ml (de características similares a nuestro estudio) (23).

Sin embargo Kolibianakis reportó que el uso de CNM en pacientes bajas respondedoras no ofrece una oportunidad realista de hijos vivos en pacientes con pobre pronóstico, cuando se ofrece como último recurso previo a la donación de ovocitos. Esto debido a lo observado en su estudio de 78 ciclos realizados en 32 pacientes con FSH al día 3 mayor de 12UI/l y uno o más ciclos fallidos de FIV o que se obtuvieran 5 o menos ovocitos en la captura. Se inició ganirelix 0.25mg/d con FSH 100UI apartir de que el folículo midiera 14mm. Treinta y cinco de 78 ciclos realizados no fueron captura ovocitaria(32.1%), en 9 de 53 ciclos(16.9%) si se hizo captura ovular pero no se obtuvieron ovocitos. Se hizo transferencia embrionaria en 19 de 44 ciclos de los que si se obtuvo ovocitos (43.2%), pero ningún embarazo se logró en 78 ciclos de CNM (24). El comportamiento en nuestro grupo de CNM fue muy similar, 2 pacientes (20%) no fueron a captura por falta de respuesta, 10% si se hizo captura pero no se obtuvo ovocitos y en 4 (40%) finalmente no se hizo transferencia, la diferencia es en el 5% de tasa de embarazo por ciclo iniciado y 16% por ciclo transferido comparado con 0% de embarazos

en su grupo. Considerando que estas pacientes parten de tener un mal pronóstico puede ser que esta tasa de embarazo en ellas sea aceptable.

Una larga experiencia tiene el grupo escocés de Groningen, en un estudio preeliminar la tasa de embarazo acumulativa después de 3 ciclos de CNM fue de 34% y la tasa de embarazo por paciente fue de 32%. Sumando una experiencia más grande el mismo grupo después reportó 844 ciclos en 336 pacientes (2.5 ciclo por paciente), el promedio de embarazo por ciclo iniciado fue de 8.3% y la tasa de embarazo acumulada después de 3 ciclos fue de 20.8% por paciente. En un reporte más reciente a 9 ciclos, un total de 256 pacientes completaron 1048 ciclos 84.1 ciclos por paciente. La tasa de transferencia embrionaria fue de 36.5% por ciclo iniciado, la tasa de embarazo en desarrollo fue de 7.9% por ciclo iniciado y de 20.7% por embrión transferido (26). Nuestra tasa de embarazo por ciclo iniciado en el grupo de CMN fue del 5% y por ciclo transferido del 16% por lo que aumentaremos nuestro tamaño de la muestra para confirmar si nuestros resultados son similares a los de la literatura mundial.

El uso de antagonistas propuesto por Cheung et al, en donde estudió a 66 pacientes bajas respondedoras, aleatorizo el grupo en 2, uno con el uso de cetrorelix de forma fija, 0.25mg al día apartir del 6to día de estimulación, el grupo control utilizó agonistas de GnRH desde la fase lútea previa (protocolo largo). Ambos grupos con ACO en el ciclo previo. No hubo diferencias significativas la tasa de cancelación de ciclos, duración de la estimulación, consumo de gonadotropinas, promedio de folículos maduros, ovocitos y embriones obtenidos. La tasa de implantación fue similar, pero el número de embriones a transferir fue significativamente mayor en el grupo de antagonistas (2.3 ± 0.6 vs 1.5 ± 0.8). A pesar de que no se comprobó mejoría en la respuesta ovárica parece ser una buena propuesta para las pacientes bajas respondedoras.(25). A diferencia del estudio de Cheung et al. nosotros si encontramos diferencias con el uso de antagonistas vs agonistas, sobre todo en el número de folículos > 14mm el día del disparo de hCG (mayor respuesta folicular), en la media de ovocitos capturados y media de ovocitos maduros, desafortunadamente no se observa mejoría en la variable de mayor importancia como es la tasa de embarazos.

CONCLUSIONES

El uso de antagonistas hace una estrategia de estimulación más conveniente a la paciente, pues implica menos días de estimulación y al no ser necesaria la supresión de la hipófisis desde la fase lútea previa hace menos costoso el tratamiento, esto es evidente en el protocolo de estudio de antagonistas y el de CNM, pues el requerimiento de FSHr y LHr es menor. La supresión de la hipófisis es iniciada cuando hay riesgo de una luteinización prematura y el riesgo de SHO es nulo por el propio medicamento así como por el tipo de pacientes bajas respondedoras. La ausencia del estrés durante el CNM al no aplicarse un medicamento subcutáneo diariamente puede influir positivamente en los resultados pues evita el estrés diario y es un protocolo más amigable.

Si bien es cierto que la donación de ovocitos para las pacientes bajas respondedoras puede ser la mejor opción, algunas parejas se niegan a ello por motivos religiosos, éticos o porque desean que su propio material genético sea el que les brinde un hijo. Por lo que la falta de un tratamiento o tipo de estimulación realmente efectivo resulta frustrante tanto para el médico como para la pareja. Es por eso que estos tipos de estimulaciones se deben de tomar como alternativas de estimulación o ultimo recurso previo a la donación de ovocitos.

Se deben de ver estos resultados con precaución (mejor tasa de embarazo en el CNM) ya que la muestra del estudio es pequeña. Se necesita corroborar los datos con un estudio de mayor muestra para lograr resultados estadísticamente significativo. El estudio se seguirá para incluir más pacientes y obtener conclusiones que puedan ayudar a modificar las conductas en pacientes bajas respondedoras al decidir el protocolo de estimulación y su manejo.

La calidad de los embriones y de los ovocitos es reflejo directo de la edad de la paciente en lo cual no se puede influir. Podemos mejorar la cantidad de ovocitos en la estimulación como es con el uso de antagonistas, los capturados con el protocolo largo de agonistas, disminución de la dosis y días de estimulación con el CNM, pero la calidad pareciera no ser modificada por más esfuerzos que se realicen. Esto es algo observable pues el número de embriones de buena calidad en ninguno de los protocolos de estimulación mejoró. Siendo la propia fisiología de la paciente la que marca los límites en las Técnicas de Reproducción Asistida en el afán de lograr un embarazo, pero que pudiera aumentar el riesgo de cromosopatías.

A pesar de las estrategias tomadas no se pueden reclutar folículos que no existen, ni aumentar calidad ovocitaria que esta fisiológicamente esta comprometida. Puede que no sea la primera opción de manejo en este tipo de pacientes pero el CNM es una alternativa que debemos de tener en mente en pacientes ante la negación a la ovo donación.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Schoolcraft William, et al. Evaluation and treatment of the Poor Responder. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2006. Vol 49, No 1, 23-33.
- 2.-Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Human Reprod*. 1992; 7: 1342-1346.
- 3.-Loutradis D, Patsoula E, Minas V, et al. FSH receptor gene polymorphism have a role for different ovarian response to stimulation in patients entering IVF/ICSI ET programs. *J Assist Reprod Genet* 2006; 23: 177-184.
- 4.-Cai J, Lou HY, Dong MY, et al. Poor ovarian response to gonadotropin stimulation is associated with low expression of follicle stimulating hormone receptor in granulosa cells. *Fertil Steril* 2007; 87: 1350-1356.
- 5.-Surrey ES, Schoolcraft W B. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000; 73: 667-676.
- 6.-Hofmann Ge, Toner JP, Muasher SJ, 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.
- 7.-Centre for Clinical Effectiveness in Women labeled as poor responders to ovulation stimulation in an assisted reproduction program, is there evidence for effectiveness of increasing the total dose of FSH above 3000IU? *Cochrane Database 2000 HTA – 20030660*.
- 8.-De Placido G, Alviggi C, Mollo A, et al. Recombinant follicle stimulating hormone is effective in poor responders to highly purified follicle stimulating hormone. *Human Reprod* 2000; 15:17-20.
- 9.-Al Inany H, Alboulghar M, Mansour R, Serour G. Ovulation induction in the millennium: recombinant follicle- stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin. *Gynecol Endocrinol* 2005; 20: 161-169.
- 10.- Kucuk T, Sozen E. Luteal start of exogenous FSH in poor responder women. *J Assist Reprod Genet* 2007; 24: 635-638.
- 11.-Mochtar MH, Van der Veen, Ziech M, van Wely M. Recombinant luteinizing hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(2): CD005070.
- 12.-Nevus S, Hedon B, et al. Ovarian stimulation by combination of a gonadotropin releasing hormone agonist and gonadotropins for in Vitro fertilization. *Fertil Steril* 1987; 47: 639-43.
- 13.-Al-Mizyen E, et al. Does pretreatment with progestogen or oral contraceptive pills in low responders followed by the GnRHa flare protocol improve the outcome of IVF-ET? *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 140-6.
- 14.-Dimitris Loutradis , Vomvolaki E, Drakakis P. Poor responders protocols for in-vitro fertilization: options and results. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008; 20: 374-378.
- 15.-Nikolettos N, Al-Hasani S, Felberbaum R, et al. Gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol: a novel method of ovarian stimulation in poor responders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001; 97:202-207.
- 16.-Akman MA, Erden HF, Tosun SB, et al. Comparison of agonistic flare up-protocol and antagonist multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Human Reprod* 2001; 16: 868-870.

- 17.-Shoham Z. European and Australian Multicenter study. Cotreatment with growth hormone and gonadotrophin for ovulation induction in hypogonadotropic patients; a prospective, randomized, placebo-controlled, dose-response study. *Fertil Steril*. 1995; 64: 917-923.
- 18.-Neal G. Mahutte, Arici Aydyn. Poor responders: does the protocol make a difference?. *Curr Opin Obst Gyn*, 2002, 14:275-281.
- 19.-Kahraman Korhan, Berker Bulent, et al. Microdose gonadotropin releasing hormone agonist flare up protocol versus multiple dose gonadotropin releasing hormone antagonist protocol in poor responders undergoing ICSI embryo transfer cycle. *Fertil Steril* 2008. 1-8.
- 20.-Schimberni Mauro, Morgia F, et al. Natural cycle in vitro fertilization in poor responders patients: a survey of 500 consecutive cycles. *Fertil Steril* 2008, 1-5. In poor responders . *Human Reprod* 14, 1262-1265.
- 21.-Bassil S, Godin PA. et al. Outcome in vitro fertilization through natural cycle in poor responders. *Human Reprod* 14, 1262-1265.
- 22.-Feldman B, Seidman DS, et al. In vitro fertilization following natural cycles in poor responders. *Gynecol Endocrinol* 15, 328-334.
- 23.-Lindheim SR. et al. Poor responders to ovarian hyperstimulation may benefit from an attempt at natural cycle oocyte retrieval. *J Assist Reprod Genet* 14, 174-176.
- 24.-Kolibianakis E., Zikopoulos K., et al. Modified natural cycle for IVF does not offer a realistic chance of parenthood in poor responders with high day 3 FSH levels, as a last resort prior to oocyte donation. *Human Reprod* Vol 19, 2004, 2545-2549.
- 25.-Cheung LP, Lam PM, et al. GnRH antagonist versus GnRH agonist in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005; 20: 616-21.
- 26.-Pelinck MJ, Vogel NE, Arts EG, et al. Cumulative pregnancy rates after a maximum of nine cycles of modified natural cycle IVF and analysis of patient drop-out: a cohort study. *Hum Reprod* 2007; 22: 2463-70.