



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ " ΦΥΣΙΟΛΟΓΕΙΟΝ "
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΛΛΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«ΕΞΕΤΑΖΟΝΤΑΣ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΧΡΙΝΙΚΗ ΦΑΣΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΩΟΛΗΨΙΑ
ΣΕ ΠΤΩΧΕΣ ΑΠΑΝΤΗΤΡΙΕΣ ΣΤΗΝ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ»**

ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ ΔΙΔΑΚΤΩΡ

Διονύσης Γαλάτης, M.D.

Μαιευτήρας - Γυναικολόγος

ΑΘΗΝΑ, 2024

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΕΩΣ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 19/07/17

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Μάρα Σιμοπούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
Μιχαήλ Κουτσίλιερης, Ομότιμος Καθηγητής Εργαστηρίου Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
Αναστάσιος Φιλίππου, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 06/05/19

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΕΩΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 03/01/24

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμιμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἱστορας ποιείμενος, ἐπιτελέα ποιήσων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε, ἰρήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίον κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ αὐτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξω τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μαθηταῖν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελῆς τε καὶ ἀκροσήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι νόμοις τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ἀρκασιμένοις νόμοις ἰητρικῶν, ἄλλω δὲ οὐδενί. Διαιτήμασι τε χρῆσομαι ἐπὶ ἀφελείῃ καμμόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίᾳ εἴρξω. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηλῆσομαι ξυμβουλίην τοιήδε, ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὰ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἄγνωσ δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξις τήσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν εἶσω, ἐσελεύσομαι ἐπὶ ἀφελείῃ καμμόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σαμμάτων καὶ ἀνδράων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἂ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἰγείμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίον καὶ τέχνης δοξαζομένω παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰῶν χρόνον, παραβαίοντι δὲ καὶ ἐπιορκούντι, τὰναντία τοιτέων

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Διονύσιος Γαλάτης

Όνομα Πατρός: Γεώργιος

Ημερομηνία Γέννησης: 14/05/1991

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Μαιευτήρας – Γυναικολόγος

ΣΠΟΥΔΕΣ - ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Απολυτήριο από το 6^ο ΓΕΛ Γλυφάδας
- Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με τον χαρακτηρισμό «ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ» και βαθμό 7,98 (2010-2016)
- Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με τίτλο «Εξετάζοντας το φαινόμενο της ανάπτυξης ωοθυλακίων κατά την ωχρινική φάση μετά από ωληψία σε πτωχές απαντήτριες στην εξωσωματική γονιμοποίηση» (2017-τρέχων)

ΑΠΑΣΧΟΛΗΣΗ

- Ειδικευόμενος Γενικής Χειρουργικής στο ΝΙΜΤΣ (2016-2018)
- Ειδικευόμενος Γυναικολογίας στο ΓΝΑ Λαϊκό (2018-2019)
- Ειδικευόμενος Μαιευτικής-Γυναικολογίας στο ΓΝΑ Έλενα Βενιζέλου (2019-2022)
- Ολοκλήρωση των υποχρεώσεων υπηρεσίας υπαίθρου στο ΓΝΑ Έλενα Βενιζέλου λόγω των αυξημένων αναγκών της επιδημίας Covid-19 (2022-2023)
- Λήψη του τίτλου ειδικότητας της Μαιευτικής-Γυναικολογίας (2023)

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΓΚΡΙΤΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

- Simopoulou M, Sfakianoudis K, Giannelou P, Pierouli A, Rapani A, Maziotis E, **Galatis D**, Bakas P, Vlahos N, Pantos K, Koutsilieris M. Treating Infertility: Current Affairs of Cross-border Reproductive Care. *Open Med (Wars)*. 2019 Mar 12;14:292-299.

- Giannelou P, Simopoulou M, Grigoriadis S, Makrakis E, Kontogeorgi A, Pantou A, **Galatis D**, Kalampokas T, Bakas P, Bolaris S, Pantos K, Sfakianoudis K. The Conundrum of Poor Ovarian Response: From Diagnosis to Treatment. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Sep 11;10(9):687. doi: 10.3390/diagnostics10090687. PMID: 32932955; PMCID: PMC7555981.
- **Galatis D**, Kiriakopoulos N, Komiotis I, Benekos C, Micha G, Kalopita K, Gripiotis I, Kondylios A, Parthenis C, Strongylos A, Papapostolou T, Monastiri-otis A. Paracentesis of an Ovarian Cyst During Second-Trimester Pregnancy. *Cureus*. 2021 Nov 15;13(11):e19610. doi: 10.7759/cureus.19610. PMID: 34956747; PMCID: PMC8674457.
- **Galatis D**, Kiriakopoulos N, Benekos C, Komiotis I, Bitzi G, Micha G, Kalopita K, Gripiotis I, Strongylos A, Templalexis P, Flessas I, Monastiriotis A. Intraoperative Myomectomy during Caesarean Section. *Acta Med Acad*. 2021 Dec;50(3):382-386. doi: 10.5644/ama2006-124.357. PMID: 35164514.
- Glynou A, Frysira E, Christakakou-Fotiadi K, Eleftheriadis M, Sarella A, Stergi-otou I, Koukaki M, Chasalevri E, **Galatis D**, Salakos N. The Cognitive Ap-
proach to Bioethical Issues in Perinatal Care in Greece. *Cureus*. 2022 Mar 1;14(3):e22760. doi: 10.7759/cureus.22760. PMID: 35371863; PMCID: PMC8973825.
- Simopoulou M, **Galatis D**, Maziotis E, Pantou A, Giannelou P, Grigoriadis S, Tzonis P, Griva T, Zikopoulos A, Philippou A, Koutsilieris M, Pantos K, Sfakia-
noudis K. Development of a predictive model for luteal phase oocyte retrieval in poor responders undergoing natural cycle IVF. *Sci Rep*. 2022 May 11;12(1):7695. doi: 10.1038/s41598-022-11602-0. PMID: 35545640; PMCID: PMC9095724.
- Glynou A, **Galatis D**, Christakakou-Fotiadi K, Yalelis V, Varvarigos IE, Anto-
nios K, Angeliki S, Makarios E, Eirini C, Maria K, Nicolaos S. Prenatal Ultra-
sound Screening and Women's Expectations: an Original Study. *Mater
Sociomed*. 2022 Jun;34(2):136-141. doi: 10.5455/msm.2022.34.136-141. PMID:
36199849; PMCID: PMC9478537.
- **Galatis D**, Kalopita K, Grypiotis I, Flessas I, Kiriakopoulos N, Micha G. Re-
searching the Phenomenon of Poor Ovarian Responders and Management Strat-
egies in IVF: A Narrative Review. *Acta Med Acad*. 2022 Aug;51(2):108-122.
doi: 10.5644/ama2006-124.379. PMID: 36318003; PMCID: PMC9982854.
- Micha G, **Galatis DG**, Kalopita K, Strongylos A, Benekos C, Kalaitzi K, Kara-
chalios PK, Anifantaki F, Dalivigkas I, Gripiotis I, Kiriakopoulos N, Monastiri-
otis A. Unusual Case of a Parasitic Extra-Uterine Leiomyoma Presenting With
Lower Abdominal Pain. *Cureus*. 2022 Oct 10;14(10):e30141. doi:
10.7759/cureus.30141. PMID: 36381890; PMCID: PMC9645601.
- **Galatis D**, Benekos C, Karachalios PK, Strongylos A, Anifantaki F, Dalivigkas
I, Monastiriotis A, Kiriakopoulos N. Stress Response Assessment between First

and Second Elective Caesarean Sections by Comparing Cortisol Levels. Acta Med Acad. 2023 Aug;52(2):112-118. doi: 10.5644/ama2006-124.411. PMID: 37933508.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ – ΟΜΙΛΙΕΣ

- Αναρτημένη Ανακοίνωση με τίτλο «Θεραπεύοντας την υπογονιμότητα: Σύγχρονα δεδομένα της διασυννοριακής αναπαραγωγικής περίθαλψης» στο 45^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο (2019)
- Αναρτημένη Ανακοίνωση με τίτλο «Luteal Phase Oocyte Retrieval and Indications of Successful Practice» στο 3rd IVF Worldwide Online Congress (2020)
- Αναρτημένη Ανακοίνωση με τίτλο «Ανάπτυξη προγνωστικού μοντέλου για τον καθορισμό των παραμέτρων που σχετίζονται με επιτυχημένη ωοληψία στην ωχρινική φάση» στο 47^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο (2021)
- Αναρτημένη Ανακοίνωση με τίτλο «Συγκριτική μελέτη της απόκρισης στο στρες μεταξύ γυναικών που υποβάλλονται σε προγραμματισμένη καισαρική τομή για πρώτη και δεύτερη φορά αντίστοιχα» στο 9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας (2023)
- Προφορική Ανακοίνωση με τίτλο «Παρακέντηση ωοθηκικής κύστης υπό την καθοδήγηση υπερήχου στο δεύτερο τρίμηνο κύησης» στο 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Εμβρυομητρικής Ιατρικής (2023)

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
SUMMARY	11
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	13
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	14
1.1 Ωογένεση.....	15
1.2 Εμμηνορυσιακός κύκλος	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΥΝΑΙΚΕΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ.....	19
2.1 Αιτίες γυναικείας υπογονιμότητας	20
2.2 Διαγνωστική αξιολόγηση γυναικείας υπογονιμότητας	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	33
3.1 Ενδομήτρια Σπερματέγχυση (IUI)	33
3.2 Διέγερση ωοθηκών.....	34
3.3 Εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF).....	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΤΩΧΗ ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ	42
4.1 Αιτιολογία.....	43
4.2 Διάγνωση.....	45
4.3 Διαχείριση.....	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΔΕΥΤΕΡΟ ΩΟΘΥΛΑΚΙΚΟ ΚΥΜΑ.....	58
5.1 Θεωρίες ωοθυλακικής ανάπτυξης.....	60
5.2 Φυσιολογία του Δεύτερου Ωοθυλακικού Κύματος	61
5.3 Πρωτόκολλο DuoStim.....	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	66

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	72
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	72
7.1 Βασικός Έλεγχος Υπογονιμότητας.....	73
7.2 Πρωτόκολλο Φυσικού Κύκλου IVF	74
7.3 Μετρήσεις αποτελεσμάτων.....	77
7.4 Στατιστική Ανάλυση.....	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	86
9.1 Εφαρμογή του πρωτοκόλλου DuoStim.....	86
9.2 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων.....	93
9.3 Ανασυγκρότηση του προγνωστικού μοντέλου	97
9.4 Περιορισμοί της μελέτης	100
9.5 Καινοτόμες προσεγγίσεις για την καταπολέμηση της ωθηκικής ανεπάρκειας.....	102
Επίλογος.....	116
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	118

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα ζωικά μοντέλα, ιδίως τα οικόσιτα ζώα, όπως τα άλογα και τα βοοειδή, ήταν τα πρώτα είδη στα οποία διερευνήθηκε το δεύτερο ωοθυλακικό κύμα στον ίδιο εμμηνορρυσιακό κύκλο. Το δεύτερο ωοθυλακικό κύμα έχει παρουσιαστεί ως μέσο για τη βελτίωση των ποσοστών επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) για τις υπογόνιμες γυναίκες και ιδιαίτερα για τις ασθενείς με POR. Η διπλή διέγερση των ωοθηκών σε συνδυασμό με δύο λήψεις ωαρίων στον ίδιο εμμηνορροϊκό κύκλο έχει προταθεί ως μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη βελτίωση του αναπαραγωγικού αποτελέσματος. Ωστόσο, η πληθυσμιακή διακύμανση που χαρακτηρίζει τις ασθενείς με POR, υποδηλώνει ότι πρέπει να διερευνηθούν οι παράγοντες που υποδεικνύουν την αποτελεσματική εφαρμογή της LuPOR. Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στην ανάπτυξη ενός προβλεπτικού μοντέλου που θα υποδεικνύει την επιτυχή εφαρμογή της ανάκτησης ωαρίων κατά την ωχρινική φάση (LuPOR) σε ασθενείς με πτωχή ωοθηκική απόκριση. Επιτυχής εφαρμογή του πρωτοκόλλου LuPOR ορίζεται ως η ανάκτηση τουλάχιστον ενός ωαρίου MII κατά την ωοληψία ωχρινικής φάσης.

Για την παρούσα αναδρομική μελέτη παρατήρησης, η οποία διεξήχθη μεταξύ 2012-2020, συμπεριελήφθησαν 1688 γυναίκες με διάγνωση POR, οι οποίες υποβλήθηκαν σε φυσικούς κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης με διπλή ανάκτηση ωαρίων στον ίδιο εμμηνορροϊκό κύκλο. Η ηλικία της μητέρας, ο BMI, ο αριθμός των περιστατικών πτωχής ωοθηκικής απάντησης σε προηγούμενους κύκλους, τα επίπεδα ορμονών, η AFC, τα επίπεδα E₂ που αξιολογήθηκαν την ημέρα πρόκλησης της ωοθυλακιορρυξίας τόσο στην ωοθυλακική όσο και στην ωχρινική φάση και ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων (8-13 mm), αξιολογήθηκαν ως προγνωστικοί παράγοντες της επιτυχίας της εφαρμογής της LuPOR. Το κριτήριο ένταξης για την παρούσα μελέτη ήταν η διάγνωση της POR σύμφωνα με τα Bologna κριτήρια, ενώ αποκλείστηκαν γυναίκες με οποιαδήποτε άλλη αιτιολογία υπογονιμότητας. Η διαστρωμάτωση του συνόλου των δεδομένων των ασθενών έγινε σε τεταρτημόρια ανάλογα με την ηλικία. Ένα τυχαίο 20% από κάθε τεταρτημόριο χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του μοντέλου, ενώ το υπόλοιπο 80% χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη του παρόντος μοντέλου. Η προγνωστική αξία αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας την περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη, χρησιμοποιώντας τον δείκτη Youden.

Η ηλικία της μητέρας, ο BMI, ο αριθμός των προηγούμενων αποτυχημένων κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης, τα επίπεδα FSH, LH, προλακτίνης και προγεστερόνης δεν φαίνεται να έχουν προγνωστική αξία για μια επιτυχή έκβαση της LuPOR (AUC=0,6). Η AFC με

κατωφλική τιμή 4,47, μπορεί να αποτελέσει προγνωστικό παράγοντα μιας αποτελεσματικής LuPOR με AUC 0,86, ευαισθησία 0,8, ειδικότητα 0,75 και ακρίβεια 0,79. Τα επίπεδα E₂ που αξιολογήθηκαν την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιωρρηξίας κατά την ωοθυλακική φάση, καθώς και την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιωρρηξίας κατά την ωχρινική φάση, παρουσίασαν κατωφλικές τιμές 232,66 pg/ml και 200,89 pg/ml, αντίστοιχα. Η μέτρηση οιστραδιόλης την ημέρα πρόκλησης ωορρηξίας στην ωοθυλακική φάση (FoPOR E₂) βρέθηκε να είναι προγνωστική της παρουσίας τουλάχιστον ενός ωαρίου MII κατά τη διάρκεια της LuPOR, παρουσιάζοντας AUC 0,86, ειδικότητα 0,75, ευαισθησία 0,86 και ακρίβεια 0,82. Ομοίως, η LuPOR E₂ βρέθηκε με AUC 0,89, ειδικότητα 0,85, ευαισθησία 0,95 και ακρίβεια 0,92. Ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων κατά τη διάρκεια του FoPOR βρέθηκε να είναι προγνωστικός δείκτης της αποτελεσματικότητας της LuPOR, με τιμή κατωφλίου 2,94. Η AUC ήταν 0,82, η ειδικότητα 0,75, η ευαισθησία 0,76 και η ακρίβεια 0,75. Ο συνδυασμός των παραπάνω παραμέτρων οδήγησε στην ανάπτυξη ενός προγνωστικού μοντέλου με AUC 0,88, ειδικότητα 0,73, ευαισθησία 0,94 και ακρίβεια 0,89. Η θετική και η αρνητική προγνωστική αξία του μοντέλου ήταν 93,5% και 46,8%, αντίστοιχα.

Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει αποκλειστικά φυσικούς κύκλους IVF, γεγονός που μπορεί να αποτελεί περιορισμό, καθώς οι τιμές κατωφλίου που προπροτείνονται εδώ μπορεί να μεταβληθούν σε κύκλους COS. Λαμβάνοντας υπόψιν, ότι πρόκειται για μια μελέτη που διεξήχθη σε μία κλινική με εσωτερική επαλήθευση του μοντέλου από ασθενείς της ίδια κλινικής, το οποίο μπορεί να αποτελεί έναν επιπλέον συγχυτικό παράγοντα, απαιτείται εξωτερική επαλήθευση.

Η παρούσα μελέτη υποδηλώνει ότι παράμετροι όπως η AFC, ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων και τα επίπεδα E₂ τις ημέρες πρόκλησης ωοθυλακιωρρηξίας κατά την FoPOR και LuPOR, μπορούν να προβλέψουν την επιτυχή εφαρμογή LuPOR, η οποία ορίζεται ως η παρουσία τουλάχιστον ενός ωαρίου MII κατά τη διάρκεια της LuPOR. Αναφερόμενη στον ιατρό, η παρούσα μελέτη παρέχει ένα προγνωστικό μοντέλο που προσδιορίζει τον πληθυσμό POR, ο οποίος θα μπορούσε να ωφεληθεί από την πρακτική LuPOR. Η υψηλή θετική προγνωστική αξία αυτού του μοντέλου μπορεί να διευκολύνει τον εντοπισμό των ασθενών που θα επωφεληθούν από το πρωτόκολλο διπλής διέγερσης.

SUMMARY

Animal models, particularly domestic animals such as horses and cattle were the first species that the second follicular wave in the same menstrual cycle was investigated. The second follicular wave has been presented as a mean to enhance the context of in vitro fertilization (IVF) success rates for infertile women and especially for POR patients. Double ovarian stimulation combined to two oocyte retrievals in the same menstrual cycle has been suggested as a promising approach to improve reproductive outcome. However, the population variation characterizing POR patients suggests that studies should investigate factors indicating efficient LuPOR application. This study aims to develop a prediction model indicating successful implementation of Luteal Phase Oocyte Retrieval (LuPOR) in poor responders, as defined by the retrieval of at least one MII oocyte.

For this retrospective observational study, conducted between 2012–2020, recruited 1688 women diagnosed with POR, undergoing natural IVF cycles with double oocyte retrieval in the same menstrual cycle. Maternal age, BMI, number of previous POR incidences, basal hormonal levels, AFC, E₂ evaluated on both follicular and luteal phase trigger day and number of small follicles (8–13 mm) were assessed as predictive factors of the success of LuPOR implementation. The inclusion criterion for this study was the diagnosis of POR according to Bologna criteria, while women with any other infertility etiologies were ruled out. Stratification of patient dataset was performed in quantiles according to age. A random 20% of each quantile was employed in the validation of the model, while the remaining 80% was employed in the development of this model. The predictive value was evaluated employing the Area Under the Curve (AUC) of the Receiver Operating Characteristics, employing Youden's index.

Maternal age, BMI, number of previous failed IVF cycles, basal levels FSH, LH, prolactin and progesterone do not seem to provide predictive value of a successful LuPOR (AUC=0.6). AFC with a threshold value of 4.47, may constitute a predictive factor of an effective LuPOR with an AUC of 0.86, sensitivity 0.8, specificity 0.75, and accuracy 0.79. E₂ levels evaluated on the FoPOR trigger day as well as on the LuPOR trigger day, presented with threshold values of 232.66 pg/ml and 200.89 pg/ml, respectively. FoPOR E₂ was found to be predictive of the presence of at least one MII oocyte during LuPOR, presenting with an AUC 0.86, specificity 0.75, sensitivity 0.86 and accuracy 0.82. Similarly, LuPOR E₂ was found with an AUC 0.89, specificity 0.85, sensitivity 0.95 and accuracy 0.92. The number of small follicles during FoPOR was found to be predictive of of an effective LuPOR, with a threshold value of 2.94. The AUC was 0.82, specificity 0.75, sensitivity 0.76 and accuracy 0.75. Combining the above parameters led to the

development of a predictive model with AUC 0.88, specificity 0.73, sensitivity 0.94 and accuracy 0.89. The positive and negative predictive value of the model were 93.5% and 46.8%, respectively.

This study includes solely natural cycles IVF which may be a limitation, as the threshold values presented herein may be altered in COS cycles. Considering that this was a single center study employing internal validation, which may add a further confounder, external validation is required.

This study suggests that parameters like AFC, number of small follicles, and E2 levels on FoPOR and LuPOR trigger days, may predict successful LuPOR application, defined as the presence of at least one MII oocyte during LuPOR. Reporting back to the practitioner, this study provides a predictive model identifying the optimal POR population for whom LuPOR practice is valuable. The high positive predictive value of this model may facilitate the identification of patients who will benefit from double stimulation protocol.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας, σε αντίθεση με του άνδρα, παρουσιάζει περιοδικές κυκλικές αλλαγές, οι οποίες συμβάλλουν στην επίτευξη γονιμοποίησης και εγκυμοσύνης. Η διάρκεια του κάθε κύκλου ποικίλλει. Κατά μέσο όρο περνούν 28 μέρες από την έναρξη ενός κύκλου μέχρι την έναρξη του επόμενου (Coast et al., 2019). Το πιο χαρακτηριστικό συμβάν του κύκλου είναι η περιοδική κολπική αιμόρροια λόγω της απόπτωσης του βλεννογόνου του ενδομητρίου (Thiyagarajan, Basit et al. 2020).

Ο εμμηνορυσιακός κύκλος ξεκινάει στην εφηβεία, περίπου στην ηλικία των δέκα έως δεκαέξι ετών, και σταματάει με την εμμηνόπαυση, περίπου στην ηλικία των πενήντα ένα (Thiyagarajan et al., 2023).

Ο εμμηνορυσιακός κύκλος ρυθμίζεται από ορμόνες που παράγονται σε μια σχέση θετικής/αρνητικής ανάδρασης. Στο κέντρο αυτής της αλληλεπίδρασης βρίσκονται ο υποθάλαμος, η πρόσθια υπόφυση και οι ωθήκες. Ο υποθάλαμος εκκρίνει την εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών (gonadotropin releasing hormone, GnRH) με παλμικό τρόπο έκκρισης. Η GnRH δρα στην πρόσθια υπόφυση προκαλώντας την παραγωγή των FSH και LH, οι οποίες αλληλεπιδρούν με τις ωθήκες. Η LH οδηγεί στην παραγωγή προγεστερόνης (progesterone, PRG) και ανδροστενεδιόνης, και η FSH ενεργοποιεί την μετατροπή της ανδροστενεδιόνης σε τεστοστερόνη και 17β-οιστραδιόλη (estradiol, E2) (Barbieri, 2014).

Η αύξηση της PRG και E2 προκαλεί μια αρνητική αλληλεπίδραση στην πρόσθια υπόφυση, μειώνοντας την παραγωγή FSH και LH. Αυτό, αντίστοιχα, μειώνει την παραγωγή E2 και PRG. Μόνη εξαίρεση σε αυτό αποτελεί η ωορρηξία. Όταν η παραγωγή E2 φτάσει ένα επιθυμητό επίπεδο, προκαλείται μια θετική ανάδραση, εκκρίνοντας αυξημένες ποσότητες FSH και LH από την πρόσθια υπόφυση (Gibson et al., 2018). Παράλληλα με αυτόν τον μηχανισμό, τα κύτταρα της ωθήκης παράγουν τις ορμόνες ακτιβίνη και ινχιμίνη, οι οποίες προάγουν ή αναστέλλουν την έκκριση της FSH, αντίστοιχα. Με βάση αυτούς τους μηχανισμούς θετικής /αρνητικής ανάδρασης, ελέγχεται η αλληλεπίδραση της GnRH με την πρόσθια υπόφυση (Thiyagarajan et al., 2023).

Η αλλαγή στα επίπεδα ορμονών κατά την διάρκεια του έμμηνου κύκλου έχουν επίδραση και στο ενδομήτριο. Το πάχος του ενδομητρίου αλλάζει κατά την διάρκεια του κύκλου. Όταν πέσουν τα επίπεδα ορμονών, προκαλείται αποκόλληση και πτώση του ενδομητρίου με συνέπεια την απώλεια αίματος κατά την έμμηνο ρύση. Η πρώτη μέρα της εμμηνορυσίας ορίζεται ως η πρώτη μέρα του κύκλου (Coast et al., 2019)

Η φυσιολογική διάρκεια της εμμηνορυσίας είναι τρεις με πέντε μέρες, είναι όμως σύνηθες να διαρκεί λιγότερο ή περισσότερο από μία μόλις μέρα έως και οχτώ ημέρες (Thiyagarajan et al., 2023). Η απώλεια αίματος παρουσιάζει επίσης μεγάλη διακύμανση, μπορεί να είναι από απλά στίγματα έως και ποσότητα αίματος 80 mL. Η πιο συνηθισμένη ποσότητα αίματος που χάνεται είναι γύρω στα 30 mL. Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την ποσότητα του αίματος που αποβάλλεται. Πιθανές αιτίες είναι μια φαρμακευτική αγωγή που παίρνει μια γυναίκα, το πάχος του ενδομητρίου, διαταραχές πήξης και διαταραχές αίματος. Παθολογική θεωρείται η απώλεια αίματος πάνω από 80 mL.

Το αίμα που αποβάλλεται κατά την εμμηνορυσία είναι κατά βάση αρτηριακό, περίπου στο 75%. Το υπόλοιπο 25% του αίματος προέρχεται από τις φλέβες. Εκτός από αίμα, είναι παρόντα απορρίματα ιστού, προσταγλαδίνες και μεγάλες ποσότητες ινωδολυτικών του ενδομητρίου ιστού. Λόγω αυτών, λύνονται τα πήγματα του αίματος, για αυτό και δεν παρουσιάζονται πήγματα κατά την εμμηνορυσία, παρά μόνο σε απώλεια μεγάλης ποσότητας αίματος (Thiyagarajan et al., 2023).

1.1 Ωογένεση

Ωογένεση είναι η διαδικασία κατά την οποία διπλοειδή (2n) κύτταρα υποβάλλονται σε κυτταρική διαίρεση μέσω της διαδικασίας της μείωσης για να σχηματιστούν απλοειδείς (1n) γαμέτες (Waters & Tadi, 2023). Είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που ρυθμίζεται από πολλούς ενδο- και εξω- ωθητικούς παράγοντες (Sánchez & Smitz, 2012).

Τα ωογόνια προέρχονται από τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα, τα οποία μεταναστεύουν στην γεννητική ακρολοφία κατά την πέμπτη με έκτη εβδομάδα της κύησης. Διαιρούμενα μέσω μίτωσης, τα ωογόνια σχηματίζουν τα πρωτογενή ωοκύτταρα, τα οποία συνεχίζουν να διαιρούνται μέσω μείωσης (Sánchez & Smitz, 2012).

Κατά την διάρκεια της φάσης S της μείωσης I καθένα από τα 23 χρωμοσώματα αντιγράφεται για να παραχθούν δύο αδελφές χρωματίδες (Baudat et al., 2013). Μετά την φάση S, πραγματοποιείται μειωτικός ανασυνδυασμός, επιτρέποντας την ανταλλαγή του γενετικού υλικού ανάμεσα στα ομόλογα χρωμοσώματα. Ο μειωτικός ανασυνδυασμός επιτρέπει την γενετική ποικιλομορφία των γαμετών, ενώ εξασφαλίζει τον σωστό διαχωρισμό των ομόλογων χρωμοσωμάτων (MacLennan et al., 2015; Revenkova et al., 2010). Η μείωση I αναστέλλεται στο στάδιο της πρόφασης I και τα πρωτογενή ωκύτταρα παραμένουν σε αυτή τη φάση μέχρι την εφηβεία (Sánchez & Smitz, 2012).

Σε αυτή τη φάση, το αναπτυσσόμενο ωοθυλάκιο αποτελείται από το ωκύτταρο, στρώματα κοκκιώδων κυττάρων και μια εξωτερική κάψα ειδικών κυττάρων, τα κύτταρα θήκης (MacLennan et al., 2015). Η ορμονική διέγερση κατά την διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου είναι υπεύθυνη για την ωρίμανση του ωοθυλακίου και την πρόοδο του αναπτυσσόμενου ωοκυττάρου στην μείωση II. Η ωρίμανση του ωοκυττάρου συνεχίζει μέχρι την μετάφαση II, ενώ η μείωση II θα ολοκληρωθεί μόνο αν το ωάριο γονιμοποιηθεί από ένα σπερματοζωάριο και σχηματιστεί το ζυγωτό (Waters & Tadi, 2023).

1.2 Εμμηνορυσιακός κύκλος

Ωοθυλακική φάση

Η πρώτη φάση του καταμήνιου κύκλου είναι η ωοθυλακική ή αλλιώς παραγωγική φάση. Σε ένα κύκλο με μέση διάρκεια 28 ημερών η ωοθυλακική φάση διαρκεί δεκατέσσερις μέρες. Η φάση αυτή δεν έχει σταθερή διάρκεια, εξού και η μεταβλητή διάρκεια του ίδιου του κύκλου εμμηνορυσίας (Thiyagarajan et al., 2023).

Τα οιστρογόνα, συγκεκριμένα η 17β-οιστραδιόλη, είναι η κύρια ορμόνη που παράγεται κατά την ωοθυλακική φάση, σαν αποτέλεσμα της θετικής ρύθμισης των υποδοχέων της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης στα κοκκιώδη κύτταρα του ωοθυλακίου (Holesh et al., 2023). Προς το τέλος αυτής της φάσης, τα αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης θα προκαλέσουν αρνητική επίδραση στην πρόσθια υπόφυση, μειώνοντας την παραγωγή της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (Thiyagarajan et al., 2023).

Τα αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης κατά την παραγωγική φάση προκαλούν αύξηση του πάχους του ενδομητρίου, διεγείροντας την αύξηση στρώματος και αδενικών στοιχείων και αυξάνοντας την διείσδυση των σπειροειδών αρτηριών, που τροφοδοτούν το ενδομήτριο (Thiyagarajan et al., 2023).

Επιπλέον, η οιστραδιόλη προετοιμάζει το ενδομήτριο περιβάλλον, σχηματίζοντας κανάλια στον τράχηλο που αποτελούνται από τραχηλική βλέννη, η οποία προσδίδει μια υδαρή ελαστικότητα, επιτρέποντας την ασφαλή δίοδο του σπέρματος (Herbison, 2020; Thiyagarajan et al., 2023).

Κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης, μία σειρά από πρωτογενή ωοθυλάκια ξεκινούν να ωριμάζουν. Μόλις ένα ωοθυλάκιο, το Γραφιανό, καταφέρνει να ωριμάσει πλήρως, τα υπόλοιπα εκφυλίζονται. Αυτό είναι το έναυσμα για το στάδιο της ωορρηξίας (Thiyagarajan et al., 2023)

Ωορρηξία

Η ωορρηξία είναι η διαδικασία κατά την οποία το επικρατές ωοθυλάκιο σπάει και απελευθερώνει στην σάλπιγγα το ωάριο, όπου είναι δυνατό να γονιμοποιηθεί.

Η ωορρηξία πραγματοποιείται στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης και πριν την ωχρινική φάση, η οποία καταλήγει ή σε απόπτωση του ενδομητρίου ή σε εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου. Η απελευθέρωση του ωαρίου από το ωοθυλάκιο συμβαίνει περίπου 14 μέρες πριν την επόμενη εμμηνορροσία, εφόσον ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες είναι καλώς ρυθμισμένος (Thiyagarajan et al., 2023).

Η διαδικασία της ωορρηξίας ελέγχεται ορμονικά, μέσω του άξονα υποθάλαμος, υπόφυση, ωοθήκες. Στο τέλος της παραγωγικής φάσης, τα επίπεδα οιστραδιόλης είναι υψηλά, λόγω της ωρίμανσης του ωοθυλακίου. Αυτή είναι η μόνη φάση που τα αυξημένα επίπεδα της οιστραδιόλης έχουν θετική επίδραση στην παραγωγή ωχρινότροπου ορμόνης από την υπόφυση (Holesh et al., 2023). Τα κρίσιμα επιθυμητά επίπεδα οιστραδιόλης για να προκληθεί ωορρηξία είναι 200 πικογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο πλάσματος (Thiyagarajan et al., 2023).

Η αιχμή της LH κατά την ωορρηξία προκαλεί την ρήξη του ώριμου ωοθυλακίου και την

απελευθέρωση του ωαρίου. Οι αλλαγές στον τράχηλο που ξεκίνησαν στην ωοθυλακική φάση συνεχίζουν κι εδώ, ενώ παράγεται περισσότερη τραχηλική βλέννη ώστε να διευκολυνθεί η διέλευση των σπερματοζωαρίων. Στο τέλος της ωορρηξίας, τα επίπεδα οιστραδιόλης μειώνονται. (Thiyagarajan et al., 2023).

Η αιχμή της LH προκαλεί την ωχρινοποίηση των κοκκιωδών κυττάρων του ωοθυλακίου σχηματίζοντας το ωχρό σωματίο. Το ωχρό σωματίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή προγεστερόνης (Tsutsumi & Webster, 2009). Το ελεύθερο πλέον ωάριο μεταφέρεται στην σάλπιγγα, μέσω των κροσσών του κώδωνα, όπου παραμένει στη μετάφαση II έως ότου γονιμοποιηθεί (Holesh et al., 2023).

Ωχρινική φάση

Η ωχρινική, ή αλλιώς εκκριτική φάση, διαδέχεται την ωοθυλακιωρήξια και διαρκεί δεκατέσσερις μέρες. Η κυρίαρχη ορμόνη σε αυτήν την φάση είναι η προγεστερόνη, της οποίας η παραγωγή διεγείρεται από την ωχρινοτρόπο ορμόνη. Η προγεστερόνη προετοιμάζει το ωχρό σωματίο και το ενδομήτριο για την πιθανή εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου (Holesh et al., 2023).

Προς το τέλος της ωχρινικής φάσης, η αρνητική ανάδραση της προγεστερόνης στην πρόσθια υπόφυση προκαλεί την μείωση των επιπέδων της FSH και LH και κατ' επέκταση της προγεστερόνης και της οιστραδιόλης. Σε αυτό το στάδιο, υπεύθυνο για την παραγωγή οιστραδιόλης και προγεστερόνης είναι το ωχρό σωματίο (Kumar & Sait, 2011).

Κατά την εκκριτική φάση, το ενδομήτριο προετοιμάζεται για την εμφύτευση αυξάνοντας την τροφοδότησή του από αγγεία και την παραγωγή τραχηλικής βλέννης. Η επίδραση της προγεστερόνης προκαλεί μείωση στο ρυθμό πολλαπλασιασμού του ενδομητρίου, επιβράδυνση της ενδομήτριας παραγωγής νέου ιστού, ανάπτυξη περίπλοκων αδένων, αποθήκευση γλυκογόνου και ανάπτυξη σπειροειδών αρτηριών.

Το ωχρό σωματίο παράγει προγεστερόνη και οιστραδιόλη έως το τέλος της εκκριτικής φάσης. Εάν επιτευχθεί γονιμοποίηση του ωαρίου που απελευθερώθηκε κατά την ωοθυλακιωρήξια, τότε το έμβρυο θα εμφυτευθεί στο ενδομήτριο και το ωχρό σωματίο θα διατηρήσει σταθερά τα επίπεδα ορμονών. Σε αντίθετη περίπτωση, το ωχρό σωματίο

εκφυλίζεται και τα επίπεδα προγεστερόνης και οιστραδιόλης μειώνονται (Thiyagarajan et al., 2023).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΥΝΑΙΚΕΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

Υπογονιμότητα ορίζεται ως η αποτυχία επίτευξης κλινικής εγκυμοσύνης μετά από 12 μήνες τακτικής, απροστάτευτης σεξουαλικής επαφής (Zegers-Hochschild et al., 2017). Η υπογονιμότητα κατηγοριοποιείται περαιτέρω ως πρωτογενής ή δευτερογενής. Στην πρωτογενή υπογονιμότητα η γυναίκα δεν έχει διαγνωστεί ποτέ με κλινική εγκυμοσύνη και πληροί τα κριτήρια για να χαρακτηριστεί ως έχουσα υπογονιμότητα. Η δευτερογενής γυναικεία υπογονιμότητα αφορά μια γυναίκα που δεν μπορεί να μείνει έγκυος, αλλά η οποία έχει πετύχει κλινική εγκυμοσύνη στο παρελθόν (Zegers-Hochschild et al., 2017). Η ίδια κατηγοριοποίηση μπορεί να ισχύει και για τον άνδρα όσον αφορά τη συμμετοχή του στην έναρξη μιας εγκυμοσύνης.

Η υπογονιμότητα επηρεάζει εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως. Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση και διαχείριση της υπογονιμότητας απαιτείται ακριβής προσδιορισμός του επιπολασμού της. Ο τρόπος ορισμού και μέτρησης της υπογονιμότητας διαφέρει σημαντικά μεταξύ των μελετών, γεγονός που περιορίζει τη σύγκριση των αποτελεσμάτων. Έχει υπολογιστεί ότι το 17.5% του πληθυσμού έχει αντιμετωπίσει προβλήματα υπογονιμότητας κατά τη διάρκεια της ζωής του, ενώ ο επιπολασμός της υπογονιμότητας έχει υπολογιστεί στο 12,6% (Cox et al., 2022).

Έχει υπολογιστεί ότι η συνεισφορά των φύλων στα ποσοστά υπογονιμότητας είναι ισότιμη. Περίπου το 50% των περιπτώσεων υπογονιμότητας οφείλεται στον ανδρικό παράγοντα και το υπόλοιπο 50% στο γυναικείο παράγοντα υπογονιμότητας (Pandrunada et al., 2021). Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν τη γονιμότητα, ενώ αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο η επίδραση της ηλικίας.

Η ενδομητρίωση (30-50%), οι διαταραχές της ωορρηξίας (21-25%), οι σαλπινγικοί παράγοντες (14%) και οι ανωμαλίες της μήτρας (3,5%) αποτελούν τις κύριες, αναγνωρίσιμες αιτίες γυναικείας υπογονιμότητας (E. J. Klein et al., 2022). Το 40% των περιπτώσεων γυναικείας υπογονιμότητας δεν παρουσιάζουν κάποιο αιτιολογικό παράγοντα, συνεπώς

θεωρούνται ανεξήγητες (E. J. Klein et al., 2022). Η ανεξήγητη υπογονιμότητα αποτελεί περίπου το 1/3 των περιπτώσεων υπογονιμότητας και αφορά τόσο τις γυναίκες όσο και τους άνδρες. Συγκεκριμένα, έχει υπολογιστεί ότι το 50% των περιπτώσεων ανεξήγητης υπογονιμότητας οφείλεται στους άνδρες και το υπόλοιπο 50% στις γυναίκες (Pandruvada et al., 2021).

Η Αμερικάνικη Εταιρία Αναπαραγωγικής Ιατρικής (American Society of Reproductive Medicine, ASRM) συστήνει αναζήτηση συμβουλευτικής στα ζευγάρια που αντιμετωπίζουν προβλήματα υπογονιμότητας (Walker & Tobler, 2023). Δεδομένης της αναμενόμενης μείωσης της γονιμότητας λόγω ηλικίας, της αυξημένης συχνότητας εμφάνισης διαταραχών που επηρεάζουν τη γονιμότητα και του υψηλότερου κινδύνου απώλειας εγκυμοσύνης, οι γυναίκες ηλικίας άνω των 35 ετών θα πρέπει να υποβάλλονται σε ταχεία αξιολόγηση και να υποβάλλονται σε θεραπεία μετά από 6 μήνες αποτυχημένων προσπαθειών σύλληψης ή νωρίτερα, εάν υπάρχει κλινική ένδειξη. Σε γυναίκες ηλικίας άνω των 40 ετών, δικαιολογείται πιο άμεση αξιολόγηση και θεραπεία. (American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee, 2014).

2.1 Αιτίες γυναικείας υπογονιμότητας

Ηλικία

Η γονιμότητα των γυναικών μειώνεται σταδιακά, αλλά σημαντικά, ξεκινώντας περίπου στην ηλικία των 32 ετών και μειώνεται ταχύτερα μετά την ηλικία των 37 ετών. Η εκπαίδευση και η αυξημένη ευαισθητοποίηση σχετικά με την επίδραση της ηλικίας στη γονιμότητα είναι ουσιώδους σημασίας για τη συμβουλευτική της ασθενούς που επιθυμεί εγκυμοσύνη (American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee, 2014).

Η επίδραση της ηλικίας στην αναπαραγωγική ικανότητα της γυναίκας σχετίζεται άμεσα με την φυσιολογία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Οι γυναίκες γεννιούνται με πεπερασμένο αριθμό ωαρίων. Η κορύφωση του αριθμού των ωαρίων εμφανίζεται κατά την εμβρυική ηλικία και συγκεκριμένα από την 16^η έως την 20^η εβδομάδα

κύησης, όπου υπάρχουν περίπου 6 έως 7 εκατομμύρια ωογόνια. Από το στάδιο αυτό και μετά, ο αριθμός των ωοθυλακίων συνεχίζει να μειώνεται έως τη γέννηση, όπου έχουν απομείνει περίπου 1 έως 2 εκατομμύρια ωοκύτταρα. Μόλις 300.000 έως 500.000 έχουν απομείνει μέχρι την εφηβεία και την εμμηναρχή. Η ατρησία των ωοθυλακίων αυξάνεται ραγδαία στα 37 έτη, όταν περίπου 25.000 ωοθυλάκια έχουν απομείνει στις ωοθήκες. Η εμμηνόπαυση επέρχεται με την εξάντληση του ωοθηκικού αποθέματος, όπου παραμένουν λιγότερα από 1000 ωοθυλάκια (Crawford & Steiner, 2015).

Η μείωση της δεξαμενής των ωαρίων έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη έκκριση της ινχιμπίνης Β από τα δευτερογενή ωοθυλάκια. Αυτή η απώλεια της ανασταλτικής δράσης της ινχιμπίνης Β στην υπόφυση επιτρέπει την αύξηση της FSH. Καθώς η FSH αυξάνεται κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση, οι ωοθήκες παρουσιάζουν ταχύτερη ωοθυλακική ανάπτυξη και ταχύτερη επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου (Crawford & Steiner, 2015). Αυτό παρουσιάζεται κλινικά ως βραχύτερη ωοθυλακική φάση και ακανόνιστοι εμμηνορροϊκοί κύκλοι, αλλά οι αλλαγές αυτές γίνονται εμφανείς μόνο μετά την εμφάνιση σημαντικής ωοθηκικής γήρανσης. Επιπλέον, η αύξηση των επιπέδων της FSH οδηγεί συχνά στην επιλογή περισσότερων από 1 κυρίαρχου ωοθυλακίου, εξηγώντας το αυξημένο ποσοστό των διζυγωτικών διδύμων που παρατηρείται σε φυσικές συλλήψεις σε προχωρημένη ηλικία της μητέρας (Crawford & Steiner, 2015).

Η μείωση του αριθμού των ωοθυλακίων συνδυάζεται με ταυτόχρονη μείωση της ποιότητας των ωοκυττάρων. Μελέτες υποδεικνύουν ότι γυναίκες ηλικίας άνω των 40 ετών παρουσιάζουν αυξημένη πιθανότητα για λάθη στον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά την μείωση, οδηγώντας σε αυξημένα ποσοστά ανευπλοειδίας (Mikwar et al., 2020). Επιπλέον, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, που προκαλείται από την αύξηση της ηλικίας, οδηγεί σε μειωμένη ποιότητα των ωαρίων (Mikwar et al., 2020)

Διαταραχές ωορρηξίας

Το 25% των γνωστών περιστατικών γυναικείας υπογονιμότητας οφείλονται σε δυσλειτουργίες στον μηχανισμό της ωορρηξίας. (Carson & Kallen, 2021). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει κατηγοριοποιήσει τα αίτια δυσλειτουργίας ωορρηξίας σε τέσσερις κατηγορίες για την διευκόλυνση των κλινικών γιατρών στη θεραπεία. Αυτές είναι οι εξής:

Υπογοναδοτροπικός Υπογοναδισμός ή Υποθαλαμική Αμηνόρροια, Ορθογοναδοτροπική ορθοιστρογονική ανωορρηξία στο σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Polycystic Ovarian Syndrome, PCOS), Υπεργοναδοτροπικός υπογοναδισμός, όπως στην πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια, Καταστάσεις υπερπρολακτιναιμίας, σαν το αδένωμα υπόφυσης ("Agents Stimulating Gonadal Function in the Human. Report of a WHO Scientific Group," 1973) .

Πιο πρόσφατα, η Διεθνής Ομοσπονδία Γυναικολογίας και Μαιευτικής (International Federation of Gynecology and Obstetrics: FIGO) πρότεινε ένα νέο σύστημα ταξινόμησης το οποίο κατηγοριοποιεί τις διαταραχές της ωορρηξίας σε τέσσερις ομάδες ως εξής: Τύπος I: Υποθαλαμική- Τύπος II: Υποφυσιακή- Τύπος III: Ωοθηκική- και Τύπος IV: PCOS. Το σύστημα αναφέρεται με το ακρωνύμιο "HyPO-P", όπου το "P" διαχωρίζεται από τις άλλες τρεις κατηγορίες λόγω του ότι δεν βρίσκεται σε μία μόνο ανατομική θέση. Το νέο σύστημα παρέχει και ένα δεύτερο επίπεδο ταξινόμησης, για καθεμία από τις τρεις ανατομικά καθορισμένες κατηγορίες, συμπεριλαμβανομένων διακριτών παθοφυσιολογικών κατηγοριών. Αυτές μπορούν να απομνημονεύονται χρησιμοποιώντας το ακρωνύμιο "GAIN-FIT-PIE" (Munro et al., 2022).

Η υποθαλαμική αμηνόρροια έχει συσχετιστεί με διαταραχές στη σίτιση ή με υπερβολική άθληση (Shufelt et al., 2017). Η αυξημένη κορτιζόλη που παράγεται λόγω της απώλειας βάρους, που προκαλεί η μειωμένη σίτιση καθώς και η υπερβολική άθληση, καταστέλλουν την παλμική έκκριση της GnRH (Ackerman et al., 2013). Η καταστολή της απελευθέρωσης GnRH στον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες έχει ως αποτέλεσμα να απελευθερώνεται από την πρόσθια υπόφυση χαμηλή ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH) και ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH) (Vadakkadath Meethal & Atwood, 2005). Λόγω αυτού του διαταραγμένου μηχανισμού ανατροφοδότησης, τα κοκκίωδη κύτταρα των ωοθηκών δεν λαμβάνουν επαρκές σήμα για την παραγωγή οιστραδιόλης. Ως εκ τούτου, η πάχυνση του ενδομητρίου δεν εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης με αποτέλεσμα την αμηνόρροια σε μια κατά τα άλλα υγιή γυναίκα (Shufelt et al., 2017).

Η διάγνωση της υποθαλαμικής αμηνόρροιας ορίζεται ως αμηνόρροια για τουλάχιστον 3 συνεχόμενους μήνες, με επίπεδα οιστραδιόλης (E2) <50 pg/ml, FSH<10 mIU/ml και LH<10 mIU/ml, έπειτα από αποκλεισμό άλλων αιτιολογιών, συμπεριλαμβανομένων ανατομικών και άλλων παθολογιών, όπως η δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, η υπερπρολακτιναιμία, η πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (POI) και το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Shufelt et al., 2017). Η υποθαλαμική αμηνόρροια εμφανίζεται κατά τη διάρκεια

της κορύφωσης της αναπαραγωγικής ηλικίας μιας γυναίκας, με αποτέλεσμα την ανωορρηξία και την υπογονιμότητα.

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών είναι το πιο συχνό αίτιο ορθογοναδοτροπικής ορθοιστρογονικής ανωορρηξίας. Υπολογίζεται πως το 80% των ασθενών που πάσχουν από ανωορρηξία έχουν ως αίτιο το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, ωστόσο ο ακριβής μηχανισμός της ανωοθυλακιορρηξίας που προκαλείται από το PCOS δεν έχει ακόμη καθοριστεί. (A. S. Melo et al., 2015; Rababa'h et al., 2022).

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) είναι μια ετερογενής διαταραχή που χαρακτηρίζεται από διαταραχές της εμμήνου ρύσεως, χρόνια ανωορρηξία, υπερτρίχωση, ανδρογενή αλωπεκία και ακμή. Πέραν της σημασίας αυτού του συνδρόμου για θέματα που σχετίζονται με τη γονιμότητα, το PCOS αποτελεί βασική αιτία για άλλες συννοσηρότητες όπως η μεταβολική δυσλειτουργία, η καρδιαγγειακή νόσος (CVD), και άλλες ψυχολογικές και ογκολογικές επιπλοκές. Η αντίσταση στην ινσουλίνη (IR) είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό του PCOS με επιπολασμό 35%-80% (Amisi, 2022).

Κατά τη διάγνωση, οι ασθενείς μπορεί να έχουν διαφορετικές εκδηλώσεις ανάλογα με τον φαινότυπο της νόσου, την ηλικία της ασθενούς και τον τρόπο ζωής. Ωστόσο, οι περισσότεροι ασθενείς επιδιώκουν ιατρική φροντίδα λόγω των κλινικών συμπτωμάτων του PCOS, όπως η υπερανδρογοναιμία, οι διαταραχές της εμμήνου ρύσεως και η υπογονιμότητα (Rababa'h et al., 2022).

Για την διάγνωση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) χρησιμοποιούνται τα κριτήρια Rotterdam. Απαιτείται η παρουσία τουλάχιστον δύο από τα τρία κριτήρια: α) Ανωθυλακιορρηξία/ολιγοθυλακιορρηξία, β) Κλινικά σημεία υπερανδρογονισμού ή αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων στον ορό, γ) Εικόνα πολυκυστικών ωοθηκών στο υπερηχογράφημα ("Revised 2003 Consensus on Diagnostic Criteria and Long-Term Health Risks Related to Polycystic Ovary Syndrome," 2004).

Η ανωθυλακιορρηξία που οφείλεται στον υπεργοναδοτροπικό υπογοναδισμό περιλαμβάνει την πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια. Ως πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (POI) ορίζεται η διακοπή της ωοθηκικής λειτουργίας πριν από την ηλικία των 40 ετών. Συνδέεται με υποοιστρογονισμό και απώλεια υπολειπόμενων ωοθυλακίων, τα οποία οδηγούν σε διαταραχές της εμμήνου ρύσεως και αποτυχία επίτευξης εγκυμοσύνης (Rudnicka et al., 2018). Η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας (ESHRE) έχει ορίσει

κριτήρια για την διάγνωση της POI τα οποία περιλαμβάνουν: αμηνόρροια ή ολιγομηνόρροια για τουλάχιστον τέσσερις μήνες και αυξημένα επίπεδα ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) > 25 IU/l μετρούμενα δύο φορές (σε διάστημα τεσσάρων εβδομάδων) (European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI et al., 2016). Η αιτιοπαθογένεια της νόσου στις περισσότερες περιπτώσεις παραμένει ανεξήγητη. Παρ' όλα αυτά, σε ορισμένες ασθενείς με POI, γενετικές ανωμαλίες, μεταβολικές διαταραχές, αυτοανοσία, ιατρογενείς διαδικασίες, λοιμώξεις ή περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν αναφερθεί ως αιτιολογικοί παράγοντες του συνδρόμου.

Περίπου το 76% των γυναικών με POI διατηρούν τακτική εμμηνορρυσία κατά την εφηβεία και την ενηλικίωση, ακολουθούμενη από διαταραχές του κύκλου κατά την ενήλικη ζωή και πριν την ηλικία των 40 ετών (Bachelot et al., 2009). Η ωοθηκική λειτουργία στην POI μπορεί να είναι διακοπτόμενη και να περιλαμβάνει αυθόρμητες ωορρηξίες στο 20% των περιπτώσεων ακόμα και αυθόρμητη εγκυμοσύνη σε περίπου 5-10% των γυναικών (Kotmogowska, 2016). Τα κλινικά συμπτώματα παρομοιάζουν με εκείνα της μειωμένης συγκέντρωσης των οιστρογόνων στο αίμα που εμφανίζονται κατά την εμμηνόπαυση: εξάψεις, νυχτερινές εφιδρώσεις, κοιλικά συμπτώματα, δυσπαρευνία, κοιλική ξηρότητα, διαταραχές ύπνου, οστεοπόρωση, αλλαγές στη διάθεση, μεταβολή της συχνότητας ούρησης, χαμηλή λίμπιντο και έλλειψη ενέργειας (Lakhal et al., 2010). Ωστόσο, τα συμπτώματα αυτά δεν εμφανίζονται σε όλες τις γυναίκες και μπορεί να είναι παροδικά ή διαλείποντα με ποικίλη βαρύτητα, λόγω των διακυμάνσεων της ωοθηκικής δραστηριότητας κατά την αυθόρμητη έναρξη της POI (Kovanci & Schutt, 2015). Η νόσος έχει αρνητικό αντίκτυπο στην ψυχολογική ευημερία των ασθενών, που σχετίζεται με αποτυχίες εγκυμοσύνης και χαμηλότερη ικανοποίηση από τη σεξουαλική ζωή.

Η υπερπρολακτιναιμία μπορεί να προκαλέσει υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό και υπογονιμότητα μέσω της επίδρασής της στην GnRH και στην υπόφυση που οδηγεί σε μειωμένη έκκριση γοναδοτροπινών και μειωμένο εύρος και συχνότητα των παλμών της LH (Wojcik et al., 2022). Τα αυξημένα επίπεδα προλακτίνης προκαλούν καταστολή της έκκρισης GnRH από τον υποθάλαμο, οδηγώντας σε χαμηλά επίπεδα LH. Η πτώση LH έχει ως αποτέλεσμα ανωοθυλακιορρηξία και συνοδό ολιγομηνόρροια ή αμηνόρροια (Ghumman & Saxena, 2015). Συχνή αιτία υπερπρολακτιναιμίας, με επίπεδα προλακτίνης πάνω από 100 ng/mL, είναι τα αδενώματα υπόφυσης, όπως το προλακτίνωμα και το μη λειτουργικό αδένωμα υπόφυσης (NFPAH). Οι ασθενείς με αδένωμα υπόφυσης μπορεί να παρουσιάζουν

συμπτώματα ενδοκρινικής δυσλειτουργίας, όπως υπογονιμότητα, μειωμένη λίμπιντο και γαλακτόρροια, ή ακόμα και συμπτώματα νευρολογικής φύσεως, όπως πονοκέφαλο και διαταραχές όρασης.

Η υπερέκκριση ορμονών από μια δυσλειτουργική υπόφυση μπορεί να οδηγήσει σε κλινικά σύνδρομα, τα συνηθέστερα από τα οποία είναι η υπερπρολακτιναιμία (από υπερέκκριση προλακτίνης), η ακρομεγαλία (από υπερέκκριση αυξητικής ορμόνης) και η νόσος Cushing (από υπερπαραγωγή αδρενοκορτικοτροπικής ορμόνης). Η θεραπεία για τα αδενώματα της υπόφυσης εξαρτάται από τον τύπο του όγκου και θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ολιστικά περιλαμβάνοντας τόσο ενδοκρινολογική όσο και νευροχειρουργική προσέγγιση, όταν ενδείκνυται. Οι αγωνιστές ντοπαμίνης αποτελούν την κύρια θεραπευτική προσέγγιση για τα προλακτινώματα.

Συμφύσεις πυέλου και σαλπίνγων

Μεγάλο ποσοστό της υπογονιμότητας στις γυναίκες οφείλεται σε διαταραχές στη μήτρα και τις σάλπιγγες, καθώς και συμφύσεις στην περιοχή της πυέλου και των σαλπίνγων. Η κύρια αιτία συμφύσεων στην σάλπιγγα και στην πύελο είναι οι μεταδοτικές φλεγμονώδεις νόσοι. Η πυελική φλεγμονώδης νόσος είναι ο πιο συχνός μηχανισμός που επηρεάζει την γονιμότητα σε αυτήν την κατηγορία (Walker & Tobler, 2023).

Τα χλαμύδια ενέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο για την δημιουργία πυελικής φλεγμονής και πρόκλησης υπογονιμότητας. Η αναλογία γυναικών που παρουσιάζουν αντισώματα για χλαμύδια είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη συχνότητα κυήσεων (Walker & Tobler, 2023).

Έναν επιπλέον ρόλο παίζουν ο αριθμός και η σοβαρότητα των επεισοδίων της πυελικής φλεγμονής στην εμφάνιση υπογονιμότητας. Τα ποσοστά εγκυμοσύνης μειώνονται μετά από κάθε επεισόδιο. Όσο πιο σοβαρό είναι ένα περιστατικό φλεγμονής, τόσο μικρότερες πιθανότητες έχει μια γυναίκα να μείνει έγκυος (Jennings & Krywko, 2023).

Μια παθολογική κατάσταση που εμφανίζεται μετά από οξεία ή χρόνια φλεγμονή στις σάλπιγγες είναι οι υδρoσάλπιγγες. Ασθενείς με υδρoσάλπιγγα παρουσιάζουν μειωμένη πιθανότητα για εγκυμοσύνη μέσω εξωσωματικής κατά 50% (Van Voorhis et al., 2019). Η

δομική κατασκευή της σάλπιγγας επηρεάζεται από την φλεγμονή με αποτέλεσμα την απόφραξη των σαλπίγγων, και τη συσσώρευση φυσιολογικών υγρών στις σάλπιγγες λόγω αποκλεισμού της διέλευσής τους (Palagiano et al., 2021). Έτσι, τοξίνες και προσταγλαδίνες ρέουν στο ενδομήτριο και επιδρούν στην δεκτικότητα του, δημιουργώντας ένα αφιλόξενο περιβάλλον για την εμφύτευση του ζυγωτού (Walker & Tobler, 2023).

Παράγοντες που σχετίζονται με τη μήτρα

Παράγοντες που προκαλούν μείωση της δεκτικότητας του ενδομητρίου, όπως τα ινομύματα έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση υπογονιμότητας. Σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες, τα υποβλεννογόνια ινομύματα εμποδίζουν την εμφύτευση και μειώνουν την πιθανότητα εγκυμοσύνης σε μεγαλύτερο βαθμό (Pritts, 2001).

Οι συγγενείς ανωμαλίες της μήτρας, αν και σπάνιες, έχουν συσχετιστεί με φαινόμενα υπογονιμότητας. Το πιο συχνό είναι το διάφραγμα μήτρας, το οποίο έχει συσχετιστεί με επαναλαμβανόμενα επεισόδια αποβολών. Ωστόσο, η συχνότητα συγγενών ανωμαλιών στον γυναικείο πληθυσμό είναι η ίδια είτε σε γόνιμες είτε σε υπογόνιμες γυναίκες (Grimbizis et al., 2001). Περίπου το 8% των γυναικών που πάσχουν από υπογονιμότητα, φέρουν μια συγγενή ανωμαλία της μήτρας. Το 25% των γυναικών που αποβάλλουν στο δεύτερο ή στο τέλος του πρώτου τριμήνου, φέρουν κάποια συγγενή ανωμαλία της μήτρας (Chan et al., 2011).

Η ενδομητρίωση είναι μια οιστρογόνο-εξαρτώμενη χρόνια πάθηση που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενδομητρικού ιστού έξω από την ενδομήτρια κοιλότητα. Η διάγνωση γίνεται ιστολογικά με την αναγνώριση στρώματος και αδένων ενδομητρίου έξω από την μήτρα. Τα επώδυνα συμπτώματα όπως χρόνιος πυελικός πόνος, δυσμηνόρροια και δυσπαρεύνια είναι χαρακτηριστικά της νόσου. Η ενδομητρίωση εντοπίζεται πιο συχνά στην περιοχή της πυέλου. Το 10 με 15% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας παρουσιάζουν διασπορά σε όλη την ενδοκοιλιακή χώρα (Olive & Pritts, 2001). Το 40 έως 50% των γυναικών που πάσχουν από ενδομητρίωση θα αναπτύξουν υπογονιμότητα (Prescott et al., 2016), ενώ το 25-50% των γυναικών με υπογονιμότητα παρουσιάζουν ενδομητρίωση (“Endometriosis and Infertility,” 2012).

Η ενδομητρίωση διακρίνεται σε 4 στάδια, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικάνικης Ένωσης Αναπαραγωγικής Ιατρικής (ASRM). Τα στάδια καθορίζονται με βάση την

σοβαρότητα της πάθησης και διακρίνονται ως εξής: στάδιο I ελάχιστη, στάδιο II ήπια, στάδιο III μέτρια και στάδιο IV σοβαρή ενδομητρίωση. Παρ' όλο που ο ακριβής παθοφυσιολογικός μηχανισμός της ενδομητρίωσης δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί, υπάρχουν διάφορες θεωρίες που εξηγούν το πως η ενδομητρίωση προκαλεί υπογονιμότητα (Somigliana et al., 2017).

Οι πυελικές συμφύσεις και η φλεγμονή μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη υπογονιμότητας που σχετίζεται με την ενδομητρίωση, αλλά πιθανώς εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες, όπως η μειωμένη ωθητική εφεδρεία, η ποιότητα των ωαρίων και η μειωμένη δεκτικότητα του ενδομητρίου (Somigliana et al., 2017). Στα στάδια I και II η αύξηση της παραγωγής προσταγλαδινών, κυτοκινών και μακροφάγων από την παραγόμενη φλεγμονή συνδέεται άμεσα με την προκαλούμενη υπογονιμότητα (Bulun, 2009). Η φλεγμονή αυτή παρεμβαίνει στον σχηματισμό ωθυλακίων και στις διαδικασίες γονιμοποίησης και εμφύτευσης και αναστέλλει βασικές λειτουργίες των σαλίγγων και των ωθηκών (Gurta et al., 2008). Στα στάδια III και IV μεταβάλλεται η ανατομία της πυέλου λόγω των συμφύσεων που προκαλούν οι ενδομητρωσικές εστίες. Έτσι, εμποδίζεται η απελευθέρωση των ωαρίων, η κινητικότητα των σαλίγγων και η διέλευση των σπέρματοζωαρίων (Holoch & Lessey, 2010).

2.2 Διαγνωστική αξιολόγηση γυναικείας υπογονιμότητας

Η διαγνωστική αξιολόγηση για υπογονιμότητα ενδείκνυται σε γυναίκες που δεν επιτυγχάνουν εγκυμοσύνη μετά από 12 ή περισσότερους μήνες τακτικών επαφών χωρίς προφυλάξεις (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2013). Σε γυναίκες ηλικίας άνω των 35 ετών, η διαγνωστική αξιολόγηση δικαιολογείται μετά από 6 μήνες ανεπιτυχών προσπαθειών, λόγω της μείωσης της γονιμότητας που σχετίζεται με την ηλικία. Επίσης, διαγνωστική αξιολόγηση μπορεί να πραγματοποιηθεί με βάση το ιατρικό ιστορικό συμπεριλαμβανομένων, μεταξύ άλλων, των εξής: ιστορικό oligomenόρροιας ή αμηνόρροιας, γνωστή ή πιθανή νόσος της μήτρας/της σάλπιγγας/του περιτοναίου ή ενδομητρίωση σταδίου III-IV, γνωστή ή πιθανή ανδρική υπογονιμότητα (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015).

Ιστορικό και φυσική εξέταση

Τα βασικά σημεία του ιστορικού που πρέπει να ληφθούν σε μια υπογόνιμη γυναίκα είναι η διάρκεια της χρονικής περιόδου υπογονιμότητας, μαιευτικό και γυναικολογικό ιστορικό, η συχνότητα και ο χρόνος σεξουαλικών επαφών, κοινωνικές συνήθειες, που συμπεριλαμβάνουν κάπνισμα, αλκοόλ, δίαιτα, άσκηση, χρήση ουσιών, οικογενειακό ιστορικό για κληρονομικές ασθένειες, επανειλημμένες αποβολές και υπογονιμότητα (Walker & Tobler, 2023).

Η κλινική εξέταση περιλαμβάνει την μέτρηση ζωτικών σημείων και BMI, εκτίμηση του θυρεοειδούς αδένος, εξέταση μαστών για γαλακτόρροια, σημεία υπερανδρογονισμού, εξέταση της ανατομίας του κόλπου και του τραχήλου για πιθανές ανωμαλίες, ευαισθησία ή μάζες στην πύελο, ανωμαλίες στην μήτρα ή αύξηση μεγέθους και εκτίμηση με διακολπικό υπέρηχο (Walker & Tobler, 2023).

Ωοθηκική λειτουργία και ορμονικό προφίλ

Ο έλεγχος της ωοθηκικής λειτουργίας μπορεί να γίνει απλώς με το ιστορικό του εμμηνορυσιακού κύκλου της γυναίκας. Γυναίκες με σταθερό κύκλο και αναμενόμενη ροή αίματος είναι πολύ πιθανόν να έχουν περιστατικά ωορρηξίας.

Ο προσδιορισμός της προγεστερόνης στον ορό παρέχει ένα αξιόπιστο και αντικειμενικό μέτρο της ωορρηξίας, εφόσον λαμβάνεται την κατάλληλη στιγμή του κύκλου. Δεδομένου του εύρους της φυσιολογικής διακύμανσης του κύκλου, η μέτρηση της προγεστερόνης ορού πρέπει γενικά να πραγματοποιείται περίπου 1 εβδομάδα πριν από την αναμενόμενη έναρξη της επόμενης εμμήνου ρύσεως και όχι σε οποιαδήποτε συγκεκριμένη ημέρα του κύκλου, όπως η 21^η ημέρα του κύκλου. Επίπεδα προγεστερόνης πάνω από 3 ng/ml είναι ενδεικτικά ωορρηξίας (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015).

Η μέτρηση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) στα ούρα μπορεί να προσδιορίσει την

αιχμή της LH στα μέσα του κύκλου που προηγείται της ωορρηξίας κατά 1 έως 2 ημέρες. Η ανίχνευση της LH στα ούρα παρέχει έμμεση απόδειξη της ωορρηξίας και βοηθά στον καθορισμό του διαστήματος αυξημένης γονιμότητας, δηλαδή την ημέρα της αύξησης της LH και την επόμενη ημέρα (Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Reproductive Endocrinology and Infertility, 2013). Τα αποτελέσματα γενικά συσχετίζονται καλά με την αιχμή της LH στον ορό. Ωστόσο, η ακρίβεια, η ευκολία χρήσης και η αξιοπιστία ποικίλλουν μεταξύ των διαθέσιμων εμπορικών τεστ και η εξέταση μπορεί να δώσει ψευδώς θετικά και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα (McGovern et al., 2004).

Η βιοψία ενδομητρίου και η ιστολογία μπορούν να δείξουν την εκκριτική ανάπτυξη του ενδομητρίου, η οποία προκύπτει από τη δράση της προγεστερόνης και συνεπώς υποδηλώνει ωορρηξία. Η "χρονολόγηση" του ενδομητρίου με τη χρήση παραδοσιακών ιστολογικών κριτηρίων θεωρούνταν επί μακρόν ο "χρυσός κανόνας" μεταξύ των μεθόδων για την αξιολόγηση της ποιότητας της ωχρινικής λειτουργίας και για τη διάγνωση της ανεπάρκειας της ωχρινικής φάσης. Ωστόσο, έχει φανεί ότι η ιστολογική χρονολόγηση του ενδομητρίου δεν αποτελεί έγκυρη διαγνωστική μέθοδο, επειδή στερείται ακρίβειας ενώ ταυτόχρονα η εξέταση δεν μπορεί να διακρίνει τις γόνιμες από τις υπογόνιμες γυναίκες ("Diagnostic Evaluation of the Infertile Female," 2015; Murray et al., 2004). Ως εκ τούτου, η βιοψία ενδομητρίου δεν συνιστάται πλέον για την αξιολόγηση της ωοθυλακιορρηξίας ή της ωχρινικής λειτουργίας σε υπογόνιμες γυναίκες και θα πρέπει να περιορίζεται σε εκείνες στις οποίες υπάρχει έντονη υποψία για συγκεκριμένη παθολογία του ενδομητρίου (π.χ. νεοπλασία, χρόνια ενδομητρίτιδα) ("Diagnostic Evaluation of the Infertile Female," 2015).

Το διακολπικό υπερηχογράφημα μπορεί να διαγνώσει το μέγεθος και τον αριθμό των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων και να παρέχει επίσης πιθανές ενδείξεις ωορρηξίας και ωχρινοποίησης ("Diagnostic Evaluation of the Infertile Female," 2015).

Άλλοι τρόποι αξιολόγησης της ωοθηκικής λειτουργίας που αποσκοπούν στον προσδιορισμό της καλύτερης επιλογής θεραπείας μπορεί να ενδείκνυνται για υπογόνιμες γυναίκες με ανωοθυλακιορρηκτικούς κύκλους. Ο προσδιορισμός της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) και της προλακτίνης στον ορό μπορεί να εντοπίσει διαταραχές του θυρεοειδούς και/ή υπερπρολακτιναιμία, οι οποίες μπορεί να απαιτούν ειδική θεραπεία. Σε γυναίκες με αμηνόρροια, οι μετρήσεις της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της οιστραδιόλης ορού μπορούν να διακρίνουν τις γυναίκες με ωοθηκική ανεπάρκεια (υψηλή

FSH, χαμηλή οιστραδιόλη), οι οποίες μπορεί να είναι χρειαστούν δωρεά ωαρίων, από εκείνες με υποθαλαμική αμηνόρροια (χαμηλή ή φυσιολογική FSH, χαμηλή οιστραδιόλη), οι οποίες θα χρειαστούν εξωγενή διέγερση γοναδοτροπινών για την πρόκληση ωορρηξίας (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015).

Σε υπογόνιμες γυναίκες με ανωθυλακιορρηκτικούς κύκλους, η αποτυχία επίτευξης εγκυμοσύνης μετά από 3 έως 6 κύκλους επιτυχούς επαγωγής ωορρηξίας θα πρέπει να θεωρείται ένδειξη για τη διενέργεια πρόσθετης διαγνωστικής αξιολόγησης ή, εάν η αξιολόγηση έχει ολοκληρωθεί, για την εξέταση εναλλακτικών θεραπειών (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015).

Μέτρηση ωοθηκικού αποθέματος

Η έννοια της "ωοθηκικής εφεδρείας" περιγράφει το αναπαραγωγικό δυναμικό ως συνάρτηση του αριθμού και της ποιότητας των ωαρίων (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2015). Το μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα περιγράφει γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας με τακτική εμμηνορρυσία των οποίων η ανταπόκριση στη διέγερση των ωοθηκών ή η γονιμότητα είναι μειωμένη σε σύγκριση με τις γυναίκες παρόμοιας ηλικίας. Οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση του "ωοθηκικού αποθέματος" περιλαμβάνουν μετρήσεις FSH και οιστραδιόλης στον ορό την ημέρα 3 του κύκλου, τη δοκιμασία πρόκλησης με κιτρική κλομιφαίνη (CCCT), τον αριθμό των ωοθυλακίων με άντρο (AFC) στην πρώιμη ωοθυλακική φάση (μέσω διακοιλιακού υπερηχογραφήματος) και τις συγκεντρώσεις της αντιμυλλέριου ορμόνης (AMH) στον ορό (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015). Αυτές οι εξετάσεις μπορεί να παρέχουν προγνωστικές πληροφορίες σε γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο για μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα, όπως γυναίκες που είναι άνω των 35 ετών, έχουν οικογενειακό ιστορικό πρόωρης εμμηνόπαυσης, έχουν μία μόνο ωοθήκη ή ιστορικό προηγούμενης χειρουργικής επέμβασης στις ωοθήκες, χημειοθεραπείας ή πυελικής ακτινοθεραπείας, έχουν ανεξήγητη υπογονιμότητα, έχουν επιδείξει πτωχή ωοθηκική απόκριση στη διέγερση με γοναδοτροπίνες ή σχεδιάζουν θεραπεία με τεχνολογία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Οι μετρήσεις της ωοθηκικής εφεδρείας δεν τεκμηριώνουν τη διάγνωση μειωμένου ωοθηκικού αποθέματος, αλλά αντίθετα βοηθούν στην πρόβλεψη της ανταπόκρισης στη διέγερση των ωοθηκών με εξωγενείς γοναδοτροπίνες και, σε μικρότερο

βαθμό, της πιθανότητας επίτευξης επιτυχούς εγκυμοσύνης με ART (Broekmans et al., 2006). Ωστόσο, τα φτωχά αποτελέσματα με οποιαδήποτε από τις εξετάσεις δεν συνεπάγονται απαραίτητα αδυναμία σύλληψης.

Δύο τεστ που χρησιμοποιούνται για την μέτρηση του ωθητικού αποθέματος είναι η μέτρηση FSH και οιστραδιόλης την τρίτη μέρα του κύκλου. Γυναίκες που έχουν καλό ωθητικό απόθεμα παράγουν επαρκή ποσότητα ορμονών από τα ωθυλάκια, επιτρέποντας την διατήρηση της FSH σε χαμηλά επίπεδα. Ο μειωμένος αριθμός ωθυλακίων δεν επιτρέπει την παραγωγή επαρκών επιπέδων ορμονών, έτσι δεν καταστέλλεται η παραγωγή της FSH μέσω του μηχανισμού αρνητικής ανατροφοδότησης που δρα στην υπόφυση (Jirge, 2011). Η FSH και η οιστραδιόλη είναι μόνο έμμεσοι δείκτες της ωθητικής εφεδρείας και οι συγκεντρώσεις τους στο αίμα αυξάνονται μόνο όταν η ωθητική εφεδρεία είναι σοβαρά μειωμένη (La Marca et al., 2012). Ομοίως, η βιβλιογραφία αναφέρει μόνο μέτρια ευαισθησία και ειδικότητα αυτών των δεικτών στην πρόβλεψη της ωθητικής ανταπόκρισης στη διέγερση των ωθηκών (Grisendi et al., 2019).

Ο αριθμός των ωθυλακίων με άντρο (AFC) είναι το άθροισμα των ωθυλακίων με άντρο και στις δύο ωθήκες, όπως παρατηρείται με διακολπικό υπερηχογράφημα κατά την πρώιμη ωθυλακική φάση. Τα ωθυλάκια με άντρο έχουν οριστεί ως ωθυλάκια με μέση διάμετρο 2-10 mm στο μεγαλύτερο διαστάτο επίπεδο. Χαμηλό AFC θεωρείται ότι είναι 3-6 συνολικά ωθυλάκια και σχετίζεται με φτωχή ανταπόκριση στη διέγερση των ωθηκών κατά την εξωσωματική γονιμοποίηση, αλλά δεν προβλέπει αξιόπιστα την αποτυχία σύλληψης (D. J. Hendriks et al., 2005). Η AFC έχει αποδειχθεί ότι είναι σημαντικά χαμηλότερη σε υπογόνιμες σε σύγκριση με τις γόνιμες γυναίκες έως την ηλικία των 40 ετών (Rosen et al., 2011).

Η συγκέντρωση της AMH στον ορό, η οποία παράγεται από τα κοκκίωδη κύτταρα των πρωτογενών ωθυλακίων, είναι ανεξάρτητη από τις γοναδοτροπίνες και συνεπώς παραμένει σχετικά σταθερή κατά τη διάρκεια και μεταξύ των εμμηνορρυσιακών κύκλων τόσο σε φυσιολογικές, νεαρές, ωθυλακιορρηκτικές γυναίκες όσο και σε γυναίκες με υπογονιμότητα (La Marca et al., 2006; Tselididis et al., 2007). Ως εκ τούτου, το επίπεδο της AMH μπορεί να αξιολογηθεί σε οποιαδήποτε ημέρα του εμμηνορροϊκού κύκλου. Τα επίπεδα της AMH μπορεί να μειωθούν στο πλαίσιο της χρήσης εξωγενών ορμονών, λόγω παχυσαρκίας και υπογοναδοτροπικού υπογοναδισμού (Dólleman et al., 2013; Kallio et al., 2013). Αντίθετα, τα επίπεδα της AMH είναι 2-3 φορές υψηλότερα σε γυναίκες με PCOS σε σύγκριση με τις υγιείς (Laven et al., 2004). Γενικά, τα χαμηλότερα επίπεδα AMH στον ορό (<1 ng/ml) έχουν

συσχετιστεί με φτωχή ανταπόκριση στη διέγερση των ωοθηκών, κακή ποιότητα εμβρύων και κακή έκβαση εγκυμοσύνης στην εξωσωματική γονιμοποίηση (Ligon et al., 2019).

Πλέον η χρήση της δοκιμασία πρόκλησης με κιτρική κλομιφαίνη CCCT έχει μειωθεί καθώς εξετάσεις, όπως η AMH στον ορό και η AFC, είναι απλούστερες και προβλέπουν σε μεγάλο βαθμό την ωοθηκική ανταπόκριση. Τόσο η AFC όσο και η AMH έχουν υψηλή ακρίβεια στην πρόβλεψη της ωοθηκικής ανταπόκρισης. Λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων της εξέτασης, η ESHRE και η ASRM συνιστούν την χρήση αυτών των δύο δεικτών για τον προσδιορισμό του ωοθηκικού αποθέματος (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org & Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2020; The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Εκτίμηση σαλπίνγων

Η νόσος των σαλπίνγων αποτελεί σημαντική αιτία υπογονιμότητας και πρέπει να αποκλείεται ειδικά. Οι μέθοδοι αξιολόγησης της βατότητας των σαλπίνγων είναι συμπληρωματικές μεταξύ τους (“Committee Opinion,” 2012). Η ακριβής διάγνωση και η αποτελεσματική θεραπεία της απόφραξης των σαλπίνγων συχνά απαιτεί περισσότερες από μία τεχνικές

Η πλέον ενδεικνυόμενη εξέταση για την εκτίμηση της βατότητας των σαλπίνγων είναι η λαπαροσκόπηση με συνοδό σαλπιγγογραφία. Χρησιμοποιείται ως εξέταση πρώτης γραμμής για την διάγνωση πυελικών συμφύσεων, εστιών ενδομητρίωσης ή άλλες βλάβες (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015).

Η υστεροσαλπιγγογραφία χρησιμοποιείται πιο συχνά ως πρώτη εξέταση για την εύρεση αποφράξεων και άλλων ανωμαλιών στις σάλπιγγες (“Diagnostic Evaluation of the Infertile Female,” 2015). Έχει υψηλή ειδικότητα και είναι λιγότερο επεμβατική. Οι εγγύς αποφράξεις ανιχνεύονται πιο εύκολα από τις απομακρυσμένες. Γυναίκες που υποβάλλονται σε υστεροσαλπιγγογραφία παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα κυήσεων. Ατυχώς, εμφανίζει μικρή διαγνωστική αξία για ενδομητρικές και σαλπιγγικές συμφύσεις (Papaioannou et al., 2004).

Κοιλότητα μήτρας

Μια λιγότερο επεμβατική μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η υπερηχογραφική εξέταση της μήτρας με χρήση φυσιολογικού ορού. Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό εργαλείο πριν την αντιμετώπιση του αιτίου υπογονιμότητας (Seshadri et al., 2015)

Η υστεροσαλπιγγογραφία καθορίζει το μέγεθος και το σχήμα της κοιλότητας της μήτρας και μπορεί να αποκαλύψει αναπτυξιακές δυσμορφίες ή επίκτητες ανωμαλίες με πιθανές συνέπειες στην αναπαραγωγή. Ωστόσο, η υστεροσαλπιγγογραφία έχει σχετικά χαμηλή ευαισθησία και θετική προγνωστική αξία για τη διάγνωση των πολυπόδων του ενδομητρίου και των υποβλεννογόνιων ινομυωμάτων σε ασυμπτωματικές υπογόνιμες γυναίκες (Roma Dalfó et al., 2004).

Η υστεροσκόπηση χρησιμοποιείται για την εκτίμηση και θεραπεία της κοιλότητας της μήτρας. Επιτρέπει την απευθείας επισκόπηση του εσωτερικού της μήτρας και την διάγνωση παθολογιών δίνοντας παράλληλα την ευκαιρία για την χειρουργική διόρθωσή τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Οι θεραπείες γονιμότητας που αφορούν στην επεξεργασία ανθρώπινων γαμετών και εμβρύων συγκαταλέγονται στις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (assisted reproductive technology, ART). Γενικά, στις μεθόδους της ART συγκαταλέγεται η λήψη ωαρίων από τις ωοθήκες μιας γυναίκας, η γονιμοποίησή τους με σπερματοζώαρια in vitro και η επιστροφή τους στο σώμα της γυναίκας ή η δωρεά τους σε άλλη γυναίκα.

3.1 Ενδομήτρια Σπερματέγχυση (IUI)

Η IUI αποτελεί θεραπεία πρώτης γραμμής για ζευγάρια που αντιμετωπίζουν ανεξήγητη υπογονιμότητα ή ήπιο ανδρικό παράγοντα, καθώς είναι λιγότερο επεμβατική και λιγότερο δαπανηρή από την εξωσωματική γονιμοποίηση (Ray et al., 2012). Κατά την διαδικασία της IUI δείγμα σπέρματος λαμβάνεται από τον άνδρα έπειτα από εκσπερμάτωση, μετά από 2-5 ημέρες αποχής. Το δείγμα σπέρματος υφίσταται επεξεργασία είτε μέσω φυγοκέντρησης με διαλύματα διαβαθμισμένης πυκνότητας ή με τη διαδικασία swim-up (Immediata et al., 2020), με τελικό στόχο την απομόνωση των ταχέως κινούμενων σπερματοζωαρίων σε μικρό όγκο δείγματος. Μετά την επεξεργασία το δείγμα, με τελικό όγκο περίπου 0,5 mL, εισάγεται σε μαλακό καθετήρα και εγχύεται απευθείας στη μήτρα κοντά στο ωάριο, ενώ η ασθενής παραμένει σε ύπτια θέση για 10 λεπτά μετά τη διαδικασία. Σε φυσικούς κύκλους IUI, για να επιτευχθεί σωστός χρόνος γονιμοποίησης, ο κύκλος της γυναίκας παρακολουθείται για την αξιολόγηση της ωορρηξίας (Moi et al., 2018).

3.2 Διέγερση ωοθηκών

Τις τελευταίες δεκαετίες, η χρήση τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) έχει αυξηθεί. Συγκεκριμένα, αποτελούν το 1-3% των ετήσιων γεννήσεων (Santos et al., 2010). Με στόχο την ανάκτηση πολλαπλών ωαρίων κατά τη διάρκεια ενός μόνο κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης, οι ασθενείς υποβάλλονται σε διέγερση των ωοθηκών. Μέχρι σήμερα, έχει αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί ένας μεγάλος αριθμός εξατομικευμένων πρωτοκόλλων ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών (COH) (Loutradis et al., 2007). Ως διέγερση των ωοθηκών ορίζεται η χορήγηση ορμονικής θεραπείας με σκοπό την πρόκληση της ανάπτυξης πολλαπλών ωοθυλακίων. Τα πρωτόκολλα διέγερσης ωοθηκών περιλαμβάνουν την χορήγηση εξωγενώς γοναδοτροφινών, με ή χωρίς προηγούμενη θεραπεία από του στόματος, η οποία ορίζεται ως η καθημερινή λήψη FSH σε δοσολογία από 150 - 225 IU. Για την αποφυγή μιας πρώιμης αύξησης της ενδογενούς LH που θα οδηγήσει σε μια πρόωρη ωορρηξία ή αύξηση της προγεστερόνης, μαζί με την FSH, χορηγείται και αγωνιστής ή ανταγωνιστής GnRH (Farquhar et al., 2017).

Η απόκριση των ασθενών στα πρωτόκολλα διέγερσης ωοθηκών χαρακτηρίζεται ως χαμηλή, φυσιολογική και υψηλή. Η υψηλή απάντηση στη συμβατική διέγερση των ωοθηκών (150-225 IU FSH) ορίζεται ως η παρουσία περισσότερων από 18 ωοθυλακίων διαμέτρου ≥ 11

mm κατά την ημέρα πρόκλησης ωοθηλακιορραξίας και/ή η ανάκτηση περισσότερων από 18 ώριμων ωαρίων. Μια ιατρογενής επιπλοκή της υψηλής διέγερσης των ωοθηκών είναι το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS), το οποίο μπορεί να προκαλέσει σοβαρή νοσηρότητα και να οδηγήσει ακόμη και σε θάνατο. Σε αυτήν την περίπτωση συνιστάται ακύρωση του κύκλου (La Marca & Sunkara, 2014). Η συχνότητα μέτριου και σοβαρού συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών είναι 6% και 1% αντίστοιχα (Walker & Tobler, 2023). Μια κοινή αιτία υψηλής απόκρισης είναι το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS). Αντιθέτως η χαμηλή ωοθηκική απόκριση (Poor Ovarian Response – POR) χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός χαμηλού αριθμού ωοθυλακίων ή / και ωαρίων. Γενικά, $\leq 5-7$ ωοθυλάκια άντρου κατά την ωοθηλακική φάση και / ή ≤ 3 ληφθέντα ωάρια αποτελούν χαμηλή απόκριση (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Πρωτόκολλο ανταγωνιστή GnRH

Στο πρωτόκολλο ανταγωνιστή GnRH, την 2^η ημέρα του κύκλου ξεκινά χορήγηση ενέσιμης rFSH με αρχική δόση 150 IU/ημέρα. Στην περίπτωση πτωχής ωοθηκικής απάντησης, η χορήγηση FSH ξεκινά με χαμηλή δόση 37,5-75 IU/ημέρα και αυξάνεται προοδευτικά έως 300 IU (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Για γυναίκες με υψηλή ή κανονική απόκριση η δόση της FSH πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 150-225 IU ημερησίως και η δόση ρυθμίζεται μετά την 5^η ημέρα της διέγερσης. Γενικά, η δόση FSH μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 25 UI έως 450 UI ανάλογα με την ωοθηκική απάντηση των ασθενών. Για την έναρξη χορήγησης ανταγωνιστή GnRH πρέπει να υπάρχει παρουσία τουλάχιστον ενός ωοθυλακίου διαμέτρου > 14 mm ή επίπεδα E2 στον ορό >600 pg/ml ή επίπεδα LH στον ορό >10 IU/l (T. Lainas et al., 2005). Η δόση του ανταγωνιστή GnRH ορίζεται στα 0,25 mg/ημέρα.

Η πρόκληση ωοθυλακιορραξίας πραγματοποιείται με τη χορήγηση hCG και ξεκινά με την παρουσία τριών ωοθυλακίων με μέση διάμετρο ≥ 17 mm ή με την παρουσία ενός κυρίαρχου ωοθυλακίου διαμέτρου ≥ 18 mm με τα ακόλουθα δύο ωοθυλάκια να έχουν διάμετρο >16 mm. Σε περίπτωση υψηλών απαντητριών (PCOS) χορηγούνται 5000 IU hCG και σε περίπτωση πτωχών και φυσιολογικών απαντητριών χορηγούνται 10000 IU hCG. Σε περίπτωση υψηλών απαντητριών, εναλλακτικά, χορηγείται αγωνιστής GnRH για πρόκληση της ωοθηλακιορραξίας. Η τελική ωρίμανση των ωαρίων με αγωνιστή GnRH σε συνδυασμό με το Luteal Phase Support (LPS) αποτελεί μια καλή επιλογή προσφέροντας καλά ποσοστά εγκυμοσύνης και εξάλειψη του κινδύνου εμφάνισης OHSS (Yilmaz et al., 2020)., Σύμφωνα με

την ESHRE η συνιστώμενη δόση αγωνιστή GnRH είναι 200 μg (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Επιπλέον, σύμφωνα με μια μετα-ανάλυση που διερευνούσε τη συνδυασμένη χρήση hCG και αγωνιστή GnRH (διπλή πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας) για την τελική ωρίμανση των ωαρίων, βρέθηκε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης με διπλή πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας σε σύγκριση με την hCG. Ωστόσο, δεν υπήρχε διαφορά στον αριθμό των ωαρίων που ανακτήθηκαν. Συνεπώς, φαίνεται ότι η διπλή πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας είναι ισοδύναμη με τη χορήγηση hCG και μπορεί να είναι επωφελής για τη βελτίωση των αναπαραγωγικών αποτελεσμάτων (Ding et al., 2017).

Τα ωάρια λαμβάνονται 35-36 ώρες μετά την πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας με βελόνα είτε μονού είτε διπλού αυλού αναρρόφησης υπό την καθοδήγηση διακολπικού υπερηχογραφήματος. Τα ωάρια στη μετάφαση II χαρακτηρίζονται ως ώριμα (MII), ενώ εκείνα που βρίσκονται στη μετάφαση I (MI) ή στο στάδιο των βλαστικών κυστιδίων (GV) ταξινομούνται ως ανώριμα. Η γονιμοποίηση των ωαρίων πραγματοποιείται 38-40 ώρες μετά την πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας (T. G. Lainas et al., 2010; Trenkić et al., 2016). Στην περίπτωση των υψηλών απαντητριών, συνιστάται η κατάψυξη με καθυστέρηση της εμβρυομεταφοράς με σκοπό την αποφυγή του κινδύνου εμφάνισης OHSS (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Η χρήση του πρωτοκόλλου ανταγωνιστή GnRH προτείνεται για υψηλές απαντήτριες και γυναίκες με PCOS, καθώς παρουσιάζει παρόμοια αποτελεσματικότητα με τα υπόλοιπα πρωτόκολλα, μειώνοντας παράλληλα τον κίνδυνο εμφάνισης OHSS (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH

Στο μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH, η χορήγηση αγωνιστή GnRH ξεκινά στην μέση του προηγούμενου εμμηνορρυσιακού κύκλου και διαρκεί 2 εβδομάδες. Περίπου 10-15 ημέρες μετά την έναρξη της χορήγησης αγωνιστή GnRH, τα επίπεδα E2 είναι ≤ 50 pg/ml στον ορό των ασθενών λόγω απευαισθητοποίησης της υπόφυσης, ενώ κλινικά μέσω διακολπικού υπερηχογραφήματος παρατηρείται απουσία ωοθυλακίων και πάχος ενδομητρίου ≤ 6 mm. Σε αυτή τη φάση, ξεκινά η χορήγηση rFSH, με δοσολογία παρόμοια με εκείνη του πρωτοκόλλου

ανταγωνιστή GnRH. Η παρακολούθηση της απόκρισης των ωθηκών των γυναικών από τον κλινικό ιατρό τους είναι απαραίτητη, για την προσαρμογή της δόσης μετά από διέγερση 5 ημερών. Την ημέρα έναρξης χορήγησης της FSH, η δόση του αγωνιστή GnRH μειώνεται και συνεχίζεται μέχρι και την ημέρα πρόκλησης της ωθηλακιορρηξίας (Sunkara, Coomarasamy, et al., 2014).

Κατά το βραχύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH, ο αγωνιστής GnRH χορηγείται την 2^η ή 3^η ημέρα του κύκλου αφού υπερηχογραφικά επιβεβαιωθεί η παρουσία λεπτού ενδομητρίου περίπου 5 mm. Μια μέρα μετά, ξεκινά η ταυτόχρονη χορήγηση rFSH και αγωνιστή GnRH έως την ημέρα πρόκλησης της ωθηλακιορρηξίας (C.-H. Ho et al., 2008). Και για τα δύο πρωτόκολλα, δεν συνίσταται η χρήση αγωνιστή GnRH για την πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Τα πρωτόκολλα αγωνιστή GnRH προτείνονται για γυναίκες με υψηλή ωθηκική απάντηση και για το σύνδρομο PCOS, ωστόσο, θα πρέπει να χρησιμοποιείται μειωμένη δόση γοναδοτροπίνης για τη μείωση του κινδύνου OHSS. Επίσης, προτείνεται το μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH σε σχέση με το βραχύ λόγω της αποτελεσματικότητάς του για την αποφυγή αύξησης της LH. Επιπλέον, με τη χρήση του έχουν διαπιστωθεί μειωμένα ποσοστά ακύρωσης κύκλου, αυξημένος αριθμός ωαρίων που ανακτήθηκαν και υψηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης. Ωστόσο, το βραχύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH φαίνεται να βελτιώνει το αποτέλεσμα του κύκλου και προτείνεται σε πτωχές απαντήτριες και γυναίκες προχωρημένης ηλικίας (Advanced Maternal Age -AMA) (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Ήπια διέγερση των ωθηκών

Το χαρακτηριστικό των πρωτοκόλλων ήπιας διέγερσης ωθηκών είναι ότι χορηγούνται χαμηλότερες δόσεις γοναδοτροπινών (FSH ή hMG) ή/και για μικρότερο χρονικό διάστημα. Συνηθέστερα, χορηγείται μια σταθερή χαμηλή δόση FSH ή hMG έως 150 IU/ημέρα σε συνδυασμό με ανταγωνιστή GnRH. Για την πρόκληση ωθυλακιορρηξίας χορηγείται hCG, ενώ προτείνεται και η υποστήριξη ωχρινικής φάσης. Η ήπια διέγερση ωθηκών συνήθως οδηγεί στην ανάκτηση 2-7 ωαρίων (Nargund et al., 2007; Revelli et al., 2011). Είναι δυνατό για διέγερση των ωθηκών να χρησιμοποιηθούν αντι-οιστρογόνα όπως η κιτρική κλομιφαίνη ή η ταμοξιφαίνη, με σκοπό την αύξηση της έκκρισης γοναδοτροπινών από την πρόσθια υπόφυση, ή αναστολείς αρωματάσης όπως η λετροζόλη, με σκοπό την μείωση της παραγωγής

οιστρογόνων. Σύμφωνα με την ESHRE, για τη διέγερση των ωθηκών πτωχών απαντητριών προτείνεται η χρήση κεντρικής κλομιφαίνης μόνο ή σε συνδυασμό με γοναδοτροπίνες, αλλά όχι η προσθήκη λετροζόλης στις γοναδοτροπίνες. (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Τροποποιημένος φυσικός κύκλος

Κατά τον τροποποιημένο φυσικό κύκλο χρησιμοποιούνται εξωγενείς ορμόνες ή οποιαδήποτε φάρμακα για την ανάκτηση ενός μόνο ωαρίου. Αυτή η προσέγγιση, μειώνει την πιθανότητα ακύρωσης του κύκλου, ωστόσο μπορεί να αυξάνεται η πιθανότητα αποτυχίας ανάκτησης του μοναδικού ωαρίου. Ο τροποποιημένος φυσικός κύκλος μπορεί να περιλαμβάνει τη χορήγηση GnRH ανταγωνιστή σε συνδυασμό ή χωρίς τη χορήγηση γοναδοτροπινών. Για την πρόκληση της ωθηλακιορρηξίας χορηγείται ένεση hCG και υποστήριξη ωχρινική φάσης (Nargund et al., 2007). Η κλινική παρακολούθηση της ανάπτυξης των ωθυλακίων και του πάχους του ενδομητρίου πραγματοποιείται με διαδοχικά υπερηχογραφήματα, αλλά και με διαδοχικές μετρήσεις οιστραδιόλης και LH ορού.

Προγεστίνες

Μία εναλλακτική προσέγγιση για την καταστολή της αύξησης της LH είναι η χρήση προγεστινών έναντι των αναλόγων GnRH. Σύμφωνα με αυτό το πρωτόκολλο, κατά την 3^η ημέρα του κύκλου ξεκινά η χορήγηση γοναδοτροπινών και προγεστινών (DYG ή MPA), ενώ η προσαρμογή της δοσολογίας των γοναδοτροπινών γίνεται με βάση την ανάπτυξη των ωθυλακίων περίπου την 6^η – 8^η ημέρα. Η πρόκληση ωθηλακιορρηξίας πραγματοποιείται με αγωνιστή GnRH και/ή hCG, όταν τρία κυρίαρχα ωθυλάκια φτάνουν σε διάμετρο 18 mm (Yu et al., 2018). Η χορήγηση προγεστίνης σε όλη τη διάρκεια της διέγερσης κρατά την υπόφυση σε καταστολή ενώ έχει φανεί ότι αποτρέπει την αύξηση της LH. Ωστόσο, η χρήση προγεστινών απαιτεί την κρυσυντήρηση όλων των εμβρύων και τη μεταφορά τους σε επόμενο κύκλο, καθώς η δράση τους καθιστά το ενδομήτριο μη δεκτικό (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020)

Κατά την ωχρινική φάση σχηματίζεται το ωχρό σωματίο το οποίο εξασφαλίζει την παραγωγή ορμονών, όπως της προγεστερόνης η οποία διεγείρει την αύξηση του ενδομητρίου, ώστε να το προετοιμάσει για την εμφύτευση. Λόγω της ανάκτησης των ωαρίων, το ωχρό σωματίο δεν παράγει επαρκή ποσότητα προγεστερόνης, συνεπώς είναι σημαντική η εξωγενής χορήγηση ορμονών για την υποστήριξη της ωχρινικής φάσης. Η υποστήριξη της ωχρινικής φάσης μπορεί να περιλαμβάνει τη χορήγηση προγεστερόνης, hCG, η οποία διεγείρει την παραγωγή προγεστερόνης ή αγωνιστών GnRH. Η χορήγηση μπορεί να γίνει είτε μέσω της στοματικής ή κολπικής οδού ή ενδομυϊκά με ενέσεις. Οι αγωνιστές GnRH οδηγούν στην παραγωγή GnRH και αποκαθιστώντας τα επίπεδα της LH υποστηρίζουν την ωχρινική φάση με φυσικό τρόπο (Linden et al., 2015). Οι κατευθυντήριες οδηγίες της ESHRE, για την χορήγηση ενδομυϊκής προγεστερόνης προτείνουν 50 mg μία φορά την ημέρα, για υποδόρια προγεστερόνη 25 mg μία φορά την ημέρα, για κολπική γέλη προγεστερόνης 90 mg μία φορά την ημέρα, για μικρές κάψουλες σε έλαιο κολπικής προγεστερόνης 200 mg τρεις φορές ημερησίως, ενώ για κολπική προγεστερόνη σε υπόθετα αμύλου προτείνουν 100 mg δύο ή τρεις φορές ημερησίως (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Η χορήγηση της προγεστερόνης πρέπει να ξεκινάει μεταξύ του απογεύματος της ημέρας της λήψης των ωαρίων και της 3ης ημέρας μετά την λήψη και θα πρέπει να συνεχίζεται τουλάχιστον μέχρι την ημέρα του τεστ εγκυμοσύνης. Εναλλακτικά της φυσικής προγεστερόνης μπορεί να χορηγηθεί υδρογεστερόνη με ημερήσιες δόσεις 30 mg ή hCG (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Ωστόσο, φαίνεται ότι η hCG αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης OHSS, ειδικά σε γυναίκες με υψηλή ωοθηκική απάντηση, για αυτό τον λόγο η χορήγησή της δεν συνιστάται (Linden et al., 2015; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org & Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2020).

3.3 Εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF)

Τον Ιούλιο του 1978, οι Robert Edwards και Patrick Steptoe κατέγραψαν την πρώτη επιτυχημένη γέννηση νεογνού από IVF. Η γέννηση της Louise Brown ήταν μια επανάσταση για

την θεραπεία υπογόνιμων ζευγαριών. Μετά από αυτό το επίτευγμα, το πεδίο της αναπαραγωγικής ενδοκρινολογίας και υπογονιμότητας υπέστη ραγδαία εξέλιξη. Μέχρι σήμερα, διάφορες τεχνολογίες έχουν αναπτυχθεί, όπως η ελεγχόμενη διέγερση ωθηκών, η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος και η κρυοσυντήρηση γαμετών και εμβρύων, οι οποίες έδωσαν την δυνατότητα σε ζευγάρια με προβλήματα υπογονιμότητας να αποκτήσουν παιδιά.

Αρχικά, η επιλογή της IVF γινόταν σε γυναίκες που έπασχαν από υπογονιμότητα λόγω σαλπινγικού παράγοντα. Ωστόσο τα αυξανόμενα ποσοστά επιτυχίας συνέβαλλαν στο να συμπεριληφθούν και οι περιπτώσεις υπογονιμότητας όπως η ενδομητρίωση, η κακή ποιότητα σπέρματος, το πτωχό ή μειωμένο απόθεμα των ωθηκών και η ανεξήγητη υπογονιμότητα (Choe & Shanks, 2023, p. 202). Σήμερα, υπολογίζεται ότι 1,6% και 4,5% όλων των γεννήσεων ζώντων νεογνών στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ευρώπη αντίστοιχα προέρχονται από τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Choe & Shanks, 2023).

Ωστόσο, τα οφέλη της εξωσωματικής γονιμοποίησης συνοδεύονται από την αύξηση των πολύδυμων κυήσεων, λόγω της μεταφοράς πολλαπλών εμβρύων. Οι πολύδυμες κυήσεις εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο επιπλοκών, τόσο για το κύημα όσο και για τη γυναίκα. Για την αποφυγή πολύδυμων κυήσεων, προτιμάται η εκλεκτική μεταφορά ενός εμβρύου, ωστόσο αυτό δεν εφαρμόζεται σε πολλές χώρες λόγω των χαμηλότερων ποσοστών επιτυχούς εγκυμοσύνης.

Πλέον, οι διαδικασίες εξωσωματικής γονιμοποίησης σε εργαστήρια εμβρυολογίας, είναι τυποποιημένες και διαφορές στα πρωτόκολλα οφείλονται στο ιατρικό ιστορικό του ζευγαριού. Πριν από την έναρξη του κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης, απαιτείται διαγνωστική αξιολόγηση της γονιμότητας του ζευγαριού.

Αναφορικά με το κατάλληλο πρωτόκολλο για τη διέγερση των ωθηκών παρατηρούνται αντικρουόμενα αποτελέσματα στη διεθνή βιβλιογραφία. Ωστόσο, σε όλα τα πρωτόκολλα παρατηρούνται τρία βασικά στοιχεία. Πρώτον, η χορήγηση γοναδοτροπινών για τη διέγερση της ωρίμανσης πολλαπλών ωθυλακίων. Τα ανάλογα GnRH που χορηγούνται για την καταστολή της λειτουργίας της υπόφυσης και την πρόληψη πρόωρης ωορρηξίας. Τέλος, η πρόκληση ωοθυλακιωρρηξίας για την τελική ωρίμανση των ωαρίων, γίνεται 36 ώρες πριν από την ωοληψία (Gallos et al., 2017).

Η ωοληψία πραγματοποιείται με τη χρήση διακολλικού υπερηχογραφήματος και με

ταυτόχρονη χορήγηση ενδοφλέβιας καταστολής. Κατά την ωληψία, μέσω μιας λεπτής βελόνας, η οποία εισάγεται σε έναν οδηγό πραγματοποιείται η αναρρόφηση του ωοθυλακικού υγρού και των ωαρίων.

Το σπέρμα απομονώνεται με φυσικές μεθόδους ή εξειδικευμένες διαδικασίες, εάν απαιτείται όπως σε περιπτώσεις αζωοσπερμίας. Η ενεργοποίηση του σπέρματος περιλαμβάνει φυγοκέντρηση με διαλύματα διαβαθμισμένης πυκνότητας για την απομόνωση των κινητών σπερματοζωαρίων. Ακολουθεί η πλύση τους, με στόχο την συγκέντρωση κινητών σπερματοζωαρίων σε μικρό όγκο, για να επιτευχθεί η διαδικασία της γονιμοποίησης (Choe & Shanks, 2023).

Τεχνικές Γονιμοποίησης

Στη συνέχεια πραγματοποιείται η γονιμοποίηση του ωοκυττάρου. Η παραδοσιακή γονιμοποίηση αποτελεί την πιο απλή τεχνική εξωσωματικής γονιμοποίησης ενώ συνιστά την πρώτη διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε για την *in vitro* γονιμοποίηση. Εν συντομία, κατά την διαδικασία αυτή, τα ωάρια που ανακτήθηκαν επάζονται με ενεργοποιημένα σπερματοζωάρια και στη συνέχεια πραγματοποιείται αξιολόγηση της γονιμοποίησης, μικροσκοπικά. Η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα περίπου 40 ώρες μετά την πρόκληση ωοθυλακιορηξίας, δηλαδή γύρω στις 4 ώρες μετά την ωληψία εφόσον αυτή πραγματοποιείται 36 ώρες μετά την χορήγηση της hCG.

Τα καλλιεργητικά υλικά που χρησιμοποιούνται για την διαδικασία παρασκευάζονται από την προηγούμενη ημέρα και επάζονται στον κλίβανο, ώστε να γίνει εξισορρόπηση μεταξύ των συστατικών των μικροσταγόνων. Κατά τη γονιμοποίηση πρέπει να αποφεύγονται αλλαγές στο pH ή τη θερμοκρασία (Steel & Sutcliffe, 2009). Η αξιολόγηση της γονιμοποίησης πραγματοποιείται 16 έως 20 ώρες μετά.

Η τεχνική της ενδοκυτταροπλασματική σπερματέγχυσης (Intracytoplasmic Sperm Injection - ICSI) εφαρμόζεται σε περίπτωση ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας, όπου η κινητικότητα, ο αριθμός ή η μορφολογία των σπερματοζωαρίων είναι χαμηλής ποιότητας. Επιτρέπει στο σπερματοζωάριο την παράκαμψη των φυσικών φραγμών, όπως τη διαυγή ζώνη, για την γονιμοποίηση του ωαρίου (Haddad et al., 2021; Palermo et al., 1995). Πλέον, η χρήση

της ICSI δεν περιορίζεται μόνο στην ανδρική υπογονιμότητα αλλά έχει διευρυνθεί και σε παράγοντες που σχετίζονται με τη γυναίκα, όπως η προχωρημένη ηλικία και οι πτωχές απαντήτριες. Μάλιστα, από πολλές κλινικές ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής χρησιμοποιείται ως τεχνικής ρουτίνας (Carrell et al., 2015). Η αυξανόμενη χρήση της ICSI εγείρει ανησυχίες. Όλο και περισσότερα κέντρα εφαρμόζουν ICSI σε ασθενείς με φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος, με στόχο την εξασφάλιση γονιμοποιημένου ωαρίου. Αυτό αντιτίθεται στα επιστημονικά δεδομένα, τα οποία υποστηρίζουν ότι η χρήση της ICSI μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένα ποσοστά εγκυμοσύνης (Sustar et al., 2019).

Το ICSI προσφέρει υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης σε σύγκριση με την παραδοσιακή γονιμοποίηση, ωστόσο ελλοχεύει κινδύνους κυρίως για τα ωάρια λόγω της επεμβατικής φύσης της μεθόδου. Παλαιότερη έρευνα στο πεδίο έχει δείξει ότι και οι δύο μέθοδοι γονιμοποίησης σχετίζονται με πρόωρο τοκετό, χαμηλό βάρος νεογνών, καθώς και με συγγενείς ανωμαλίες (Steel & Sutcliffe, 2009). Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον προσδιορισμό των βραχυπρόθεσμων και μακροπρόθεσμων επιπτώσεων της εξωσωματικής γονιμοποίησης στην υγεία των απογόνων (Steel & Sutcliffe, 2009). Ωστόσο, η πιο πρόσφατη βιβλιογραφία υποδεικνύει ότι οι περισσότερες από τις διαταραχές επιλύονται έως την ενηλικίωση, με εξαίρεση τα προβλήματα στην αρτηριακή πίεση και τις παθήσεις του αναπαραγωγικού συστήματος (Wennerholm & Bergh, 2020).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΤΩΧΗ ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ

Ο όρος «Πτωχό ωοθηκικό απόθεμα» (poor ovarian reserve, POR) αναφέρεται σε μείωση της ποσότητας του ωοθηκικού δυναμικού μιας γυναίκας σε αναπαραγωγική ηλικία και αποτελεί σημαντικό παράγοντα υπογονιμότητας (Jirge, 2016). Η αυξανόμενη χρήση της IVF ως θεραπεία για την υπογονιμότητα έχει αναδείξει την πτωχή ωοθηκική απόκριση ως αιτία υπογονιμότητας. Η επίπτωση της πτωχής ωοθηκικής απόκρισης μετά τη διέγερση των ωοθηκών κυμαίνεται παγκοσμίως μεταξύ 5,6 και 35,1% (Y. Zhang et al., 2020). Πρέπει να ληφθεί υπόψιν, όμως, πως ένα μεγάλο μέρος του υπογόνιμου πληθυσμού είναι αδιάγνωστο, καθώς δεν θα αναζητήσει θεραπεία μέσω IVF.

Το φαινόμενο του μειωμένου ωοθηκικού αποθέματος (Diminished Ovarian Reserve, DOR) εμφανίζεται κυρίως σε γυναίκες από την τρίτη δεκαετία της ζωής τους και αργότερα. Ωστόσο, μπορεί να παρουσιαστεί και σε νεότερες γυναίκες. Στην ηλικία των 37-38, όταν το απόθεμα φτάσει τον κρίσιμο αριθμό των 25,000, παρατηρείται μια απότομη ταχεία μείωση στο ωοθηκικό δυναμικό (Giannelou et al., 2020). Η κατάληξη είναι το χρονικό παράθυρο μιας γυναίκας για να κυοφορήσει αποκλειστικά με το δικό της ωάριο, να γίνει πολύ περιορισμένο.

Ταυτόχρονα με την ραγδαία μείωση στον αριθμό των ωαρίων, παρατηρείται και μια ταυτόχρονη μείωση στην ποιότητα των εναπομεινάντων ωοκυττάρων. Μελέτες έδειξαν πως η μειωμένη πιθανότητα εγκυμοσύνης στις POR δεν συνδέεται με την ηλικία (Khader et al., 2013). Επίσης, παρατηρείται αυξημένη συχνότητα αποβολών σε γυναίκες με POR (Sunkara, Khalaf, et al., 2014).

Η απουσία διεθνώς αποδεκτών διαγνωστικών κριτηρίων για την POR έχει περιορίσει την ανάπτυξη θεραπευτικών παρεμβάσεων σε αυτήν την κατηγορία γυναικών. Η πλειονότητα αυτής της κατηγορίας στρέφεται στην πρακτική της IVF, ενώ παρατηρείται μειωμένος αριθμός λήψης ωοκυττάρων σε σύγκριση με τις γυναίκες με φυσιολογικό απόθεμα (Jirge, 2016).

4.1 Αιτιολογία

Από την γέννησης της γυναίκας μέχρι την εμμηνόπαυση, η γήρανση της αναπαραγωγικής ικανότητας είναι διαρκής (Hansen et al., 2008). Οι γυναίκες διαθέτουν πεπερασμένο αριθμό γαμετών. Την 20^η εβδομάδα κύησης φτάνουν στον μέγιστο αριθμό τους, τα 6 με 7 εκατομμύρια. Κατά την αναπαραγωγική περίοδο, πραγματοποιείται μια ανεπίστρεπτη πτώση του αριθμού των γεννητικών κυττάρων (Moghadam et al., 2022).

Η γονιμότητα μιας γυναίκας πιστεύεται ότι φτάνει στο μέγιστο στην ηλικία των 30 ετών και έπειτα μειώνεται σταδιακά. Η ωορρηξία, αλλά κυρίως η ατρησία των ωοθυλακίων που παρατηρείται, είναι υπεύθυνες για την πτώση του αριθμού των αρχέγονων ωοθυλακίων (Jirge, 2016). Έχει φανεί ότι η μείωση των ωοθυλακίων οφείλεται σε ένα προοδευτικά αυξανόμενο ποσοστό ατρησίας καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου (Hansen et al., 2008). Επίσης, πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν και η διαφορά στο μέγεθος του αποθέματος των μη αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων (nongrowing follicles, NGF) μεταξύ των

γυναικών. Ακόμα και μεταξύ γυναικών με "φυσιολογικό ωοθηκικό απόθεμα" που ανήκουν στην ίδια ηλικιακή ομάδα, το μέγεθος του αποθέματος των ωοθυλακίων μπορεί να διαφέρει έως και εκατό φορές. Ωστόσο, προς το παρόν δεν είναι σαφές αν αυτό οφείλεται σε διαφορά στο μέγεθος της αρχικής δεξαμενής ωοθυλακίων ή σε διαφορές στον ρυθμό εξάντλησής της. Τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα NGFs σε διαφορετικές ηλικίες μπορεί να έχουν διαφορετική απόκριση στις μεταβολές των επιπέδων ορμονών που σχετίζονται με την ηλικία (Hansen et al., 2008).

Η ατρησία των ωοθυλακίων έχει σημαντικές κλινικές επιπτώσεις για τη διέγερση των ωοθηκών, καθώς ο αριθμός των ωοθυλακίων που θα ανακτηθούν είναι ανάλογος με τον αριθμό των NGFs. Επιπροσθέτως, γυναίκες από όλες τις ηλικιακές ομάδες, με NGF κάτω του φυσιολογικού, θα μπορούσαν να έχουν μια λιγότερο επιθυμητή απόκριση σε πρωτόκολλο ωοθηκικής διέγερσης και να επέλθει μειωμένη διάρκεια της αναπαραγωγικής ικανότητας. Λαμβάνοντας υπόψιν πως ο χρόνος ανάμεσα στο τέλος της γονιμότητας και στην εμμηνόπαυση είναι σταθερός, οι γυναίκες αυτής της κατηγορίας θα έρθουν σε πρώιμη εμμηνόπαυση (Kwee et al., 2008).

Πέραν της φυσικής διαδικασίας της γήρανσης, υπάρχουν πολλοί παράγοντες που συμβάλλουν στην περαιτέρω εξάντληση του ωοθηκικού αποθέματος. Εστίες ενδομητρίωσης, πυελικές φλεγμονές, επεμβάσεις στις ωοθήκες είναι ικανά να μειώσουν το απόθεμα των ωοθυλακίων. Αυτοί οι αιτιολογικοί παράγοντες πιστεύεται ότι προκαλούν εξασθένιση της ενδοκρινολογικής λειτουργίας των ωοθηκών και άλλων ρυθμιστικών μηχανισμών, μειώνουν την δραστικότητα της αρωματάσης και την δράση των γοναδοτροπινών (Jirge, 2016).

Μια γνωστή αιτία POR είναι η ενδομητρίωση και η χειρουργική αφαίρεση των εστιών της (Seyhan et al., 2015). Οι μηχανισμοί με τους οποίους την προκαλούν περιλαμβάνουν μηχανική πίεση στο φλοιό της ωοθήκης, βλάβες στο αγγειακό δίκτυο και μεταβολές στο ίδιο το στρώμα (Jirge, 2016).

Φυματίωση του γεννητικού συστήματος, είναι μια αυξανόμενα αναγνωρίσιμη αιτία πρόκλησης POR. Γνωστές ενδείξεις γυναικών με γεννητική φυματίωση αποτελούν οι μη φυσιολογικές τιμές κατά την αξιολόγηση του ωοθηκικού αποθέματος και σημάδια πτωχής απόκρισης (Malhotra et al., 2012). Σε αυτή την περίπτωση απαιτούνται υψηλές δόσεις γοναδοτροπινών για την διέγερση των ωοθηκών, αν και ο αριθμός των ωοκυττάρων που λαμβάνονται κατά την IVF είναι μειωμένος (Dam et al., 2006).

Οι χημειοθεραπείες και οι ακτινοθεραπείες, στις οποίες υποβάλλονται ασθενείς με καρκίνο έχουν αρνητικό αντίκτυπο στα αποθέματα ωαρίων με συνέπεια την περιορισμένη απόκριση των ωοθηκών (Bala et al., 2016). Άλλοι παράγοντες που έχουν ενοχοποιηθεί είναι το κάπνισμα και η παχυσαρκία (Jirge, 2016).

Πτωχή ωοθηκική απάντηση σε νεαρές γυναίκες, μπορεί να οφείλεται στην διαφορετική έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων (Jindal et al., 2012). Ένα σημαντικό αίτιο απρόσμενης πτωχής απάντησης σε γυναίκες κατά την διάρκεια IVF είναι ο πολυμορφισμός σε υποδοχείς FSH. Διαφορετικές μεταλλάξεις στα γονίδια των υποδοχέων μπορούν να έχουν διαφορετική επίδραση. Οι δομικές αλλαγές που επέρχονται στον υποδοχέα μειώνουν την δεσμευτική ικανότητα της ορμόνης επηρεάζοντας το σηματοδοτικό μονοπάτι (Desai et al., 2013). Επίσης, έχει παρατηρηθεί μειωμένη ωοθηκική λειτουργία σε γυναίκες που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο FMR1 (Jirge, 2016).

4.2 Διάγνωση

Οι γυναίκες που πάσχουν από POR παρουσιάζουν μειωμένα ποσοστά εγκυμοσύνης και αυξημένη συχνότητα αποβολών σε σύγκριση με γυναίκες παρόμοιας ηλικίας με φυσιολογική ωοθηκική απόκριση. Έτσι, η διάγνωση της POR κρίνεται ύψιστης σημασίας (Elter et al., 2005; Sunkara, Khalaf, et al., 2014).

Μία ένδειξη της POR είναι η βράχυνση του εμμηνορυσιακού κύκλου λόγω της πρόωρης ωοθηκικής ανάπτυξης (N. A. Klein et al., 2002). Ωστόσο, η τυχαιότητα αυτού του γεγονότος, δεν επιτρέπει να αξιοποιηθεί ως διαγνωστικό κριτήριο.

Η διαγνωστική αξιολόγηση του ωοθηκικού αποθέματος (ovarian reserve tests, ORTs) έχει χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της απάντησης στην ωοθηκική διέγερση και την μέτρηση του αποθέματος των ωοθηκών (Jirge, 2011). Η αύξηση της ηλικίας έχει συσχετιστεί με την μείωση του αριθμού των ωαρίων που συλλέγονται σε έναν κύκλο IVF, όπως και με την συχνότητα εγκυμοσύνης (Galey-Fontaine et al., 2005). Παρ' όλα αυτά, η POR μπορεί να εμφανιστεί σε νεαρότερες ηλικίες.

Είναι αναγκαίο να αναπτυχθούν επιπλέον δείκτες για την ταυτοποίηση γυναικών με πτωχή ωοθηκική απόκριση, που διαφορετικά θα τοποθετούνταν στην κατηγορία της

ανεξήγητης υπογονιμότητας. Η μέτρηση των ωθυλακίων άντρου (antral follicle count, AFC) και της AMH είναι οι πιο ευαίσθητοι δείκτες ωθηκικής απόκρισης (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Οι δείκτες αυτοί είναι αλληλένδετοι και μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ακρίβεια και αξιοπιστία, επιτρέποντας την πρόγνωση όλου του φάσματος της ωθηκικής απόκρισης. Αυτό τους καθιστά ιδανικούς δείκτες για το σχεδιασμό πρωτοκόλλων ωθηκικής διέγερσης (La Marca & Sunkara, 2014).

Κριτήρια Bologna

Το 2011, η ESHRE εισήγαγε τα κριτήρια της Μπολόνια, με σκοπό να προσδιορίσει τις ασθενείς με χαμηλή απόκριση στη διέγερση των ωθηκών. Σύμφωνα με αυτά, απαιτείται η παρουσία τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα κριτήρια για την διάγνωση της POR: γυναίκες 40 ετών και άνω ή άλλοι παράγοντες κινδύνου για POR, προηγούμενο επεισόδιο πτωχής απόκρισης (τρία ή λιγότερα ωκύτταρα με ένα συμβατικό πρωτόκολλο διέγερσης, μη φυσιολογικό ORT (δηλαδή $AFC < 5-7$, $AMH < 0.5-1.1$ ng/ml) (Ferraretti et al., 2011).

Απουσία προχωρημένης ηλικίας και παρουσία φυσιολογικού ORT, δύο επεισόδια POR μετά από διέγερση είναι αρκετά για να ορίσουν μια ασθενή ως πτωχή απαντήτρια. Ωστόσο, αυτός ο ορισμός ακολουθεί μια αναδρομική διάγνωση μετά από δύο κύκλους διέγερσης. Γυναίκες άνω των 40 με μη φυσιολογικό ORT μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως «αναμενόμενες πτωχές απαντήτριες» (Ferraretti et al., 2011).

Τα κριτήρια Bologna έχουν δεχθεί κριτική κυρίως λόγω των πολλών διαφορετικών παραγόντων κινδύνου που περιλαμβάνουν, όπως οι εστίες ενδομητρίωσης, πυελική φλεγμονή, επεμβάσεις στις ωθήκες και περιωθηκικές συμφύσεις, καθώς η επίδραση καθενός από αυτούς τους παράγοντες στην ωθηκική εφεδρεία είναι εξαιρετικά μεταβλητή (Ferraretti & Gianaroli, 2014). Ωστόσο, η πρωτοβουλία της ESHRE αναγνωρίζεται ως το σημαντικότερο βήμα προς έναν ενιαίο ορισμό της POR και ότι τα κριτήρια αυτά θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε κάθε μελλοντική τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή που περιλαμβάνει στρατηγικές παρέμβασης για την POR (Ferraretti & Gianaroli, 2014).

Οι παράγοντες κινδύνου που οδηγούν στην πτωχή ωθηκική απάντηση δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως, ενώ απουσιάζουν κριτήρια για την ποιότητα των συλλεγμένων

ωοκυττάρων (Parathanasiou, 2014). Το κύριο ζήτημα που απασχολεί τους ειδικούς όμως, είναι ο εκσεσημασμένος βαθμός ετερογένειας που παρουσιάζεται ακόμα και μέσα στον ίδιο πληθυσμό πτωχών απαντητριών που έχουν κατηγοριοποιηθεί με βάση τα κριτήρια Bologna. Ο συνδυασμός παραγόντων κινδύνου, μη φυσιολογικών αποτελεσμάτων ORT και προηγούμενων προσπαθειών IVF, επέδειξαν διάφορα μοντέλα διαχωρισμού σε υποομάδες ανάμεσα στις πτωχές απαντήτριες (Parathanasiou, 2014).

Οι υποομάδες αυτές παρουσιάζουν διαφορετικά κοινά χαρακτηριστικά, όπως την ηλικία, με συνέπεια την ποικιλία στην πρόγνωση της αναμενόμενης απάντησης. Έρευνες που έχουν γίνει επιβεβαίωσαν την ετερογένεια στις υποομάδες, με τις νεαρότερες επιβεβαιωμένες φτωχές απαντήτριες να έχουν το πιο επωφελές αποτέλεσμα (Parathanasiou, 2014). Μια μελέτη έδειξε ότι οι νεαρές γυναίκες με μειωμένη ωθηκική απόκριση έχουν καλύτερα ποσοστά γέννησης ζώντων νεογνών. Η μελέτη επίσης ανέδειξε την μεγάλη ετερογένεια ανάμεσα στις διάφορες υποομάδες των κριτηρίων Bologna (Romito et al., 2020).

Αντίστοιχα, μία μελέτη με δεκαπενταετές follow-up γυναικών που είχαν κατηγοριοποιηθεί ως πτωχές απαντήτριες, έδειξε πως ο ρυθμός γεννήσεων για γυναίκες κάτω των 30 είναι 22%, γυναίκες 31-34 ετών 18.3%, γυναίκες 35-37 ετών 17.2%, γυναίκες 38-40 ετών 13.5%, γυναίκες 41-43 ετών 10.5%, γυναίκες άνω των 43 4.4% (B. Xu et al., 2018). Είναι εμφανής η ανάγκη να δοθεί η απαραίτητη σημασία στην ηλικία και στην ετερογένεια ανάμεσα στον πληθυσμό των πτωχών απαντητριών.

Το γεγονός της ετερογένειας που συναντάται στις πτωχές απαντήτριες μπορεί να δικαιολογήσει την μειωμένη αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών πρωτοκόλλων που υιοθετούνται (Drakopoulos et al., 2019) και τον δισταγμό των ειδικών να χρησιμοποιήσουν τα κριτήρια Bologna στις έρευνες πτωχής απόκρισης (Boza et al., 2018).

Κριτήρια Poseidon

Σε μια ακόμα προσπάθεια να υπερνικηθούν τα μειονεκτήματα των κριτηρίων Bologna, έχει προταθεί ένας νέος ορισμός για την μειωμένη ωθηκική απάντηση από την ομάδα POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualised Oocyte Number) (Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number) et al., 2016). Αυτή η νεότερη κατηγοριοποίηση εισάγει μια καλύτερη τοποθέτηση του ασθενή

χαμηλής πρόγνωσης και προτείνει τέσσερις υποομάδες, βασισμένες σε ποσοτικές και ποιοτικές παραμέτρους, όπως η ηλικία και τα αναμενόμενα ποσοστά ανευπλοειδίας, δείκτες ωθητικού αποθέματος και ωθητική απόκριση εφόσον έχει προηγηθεί ένας κύκλος διέγερσης.

Ένας νέος δείκτης που εισήγαγε το Poseidon group για την μέτρηση της επιτυχίας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι ο αριθμός των ωκυττάρων που απαιτούνται για έναν συγκεκριμένο ασθενή για να αποκτήσει έναν ευπλοειδικό έμβρυο (Humaidan et al., 2016). Σε αυτό το πλαίσιο, δημιουργήθηκε ένα προγνωστικό μοντέλο για τον υπολογισμό του αριθμού των ώριμων ωαρίων που απαιτείται να συλλεχθούν, ώστε να επιτευχθεί ο σχηματισμός τουλάχιστον μίας ευπλοειδικής βλαστοκύστης (Esteves et al., 2019).

Κατά την κατηγοριοποίηση Poseidon, ο συνδυασμός της ηλικίας, του αριθμού ωαρίων που ανακτήθηκαν και της ωθητικής απόκρισης επιτρέπουν την δημιουργία δύο μεγάλων κατηγοριών, των μη αναμενόμενων και των αναμενόμενων πτωχών απαντητριών. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι ομάδες 1 και 2, ενώ στην δεύτερη οι ομάδες 3 και 4.

Η επιτυχία ενός κύκλου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αξιολογείται από το ποσοστό γεννήσεων ζώντων νεογνών ανά εμβρυομεταφορά ή ανά κύκλο διέγερσης γνωστό και ως αθροιστικό ποσοστό γεννήσεων ζώντων νεογνών. Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, το Poseidon group εισήγαγε μία νέα μέτρηση, τον αριθμό των ωκυττάρων που απαιτούνται για να επιτευχθεί τουλάχιστον μία εμβρυομεταφορά ευπλοειδικής βλαστοκύστης σε έναν συγκεκριμένο ασθενή (Humaidan et al., 2016). Το 50-60% όλων των ευπλοειδικών βλαστοκύστεων εμφυτεύονται σε όλες τις ηλικιακές ομάδες (Forman et al., 2013).

Είναι γνωστό ότι το αποτέλεσμα ενός κύκλου συνδέεται άμεσα με τον αριθμό ωαρίων που λαμβάνεται κατά την ωοληψία (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee for the Society for Assisted Reproductive Technologies. Electronic address: ASRM@asrm.org, 2021). Λόγω της ελλιπούς βιβλιογραφίας, δεν είναι γνωστό αν αυτό ισχύει και στις πτωχές απαντήτριες. Έχει προταθεί πως η λήψη ενός παραπάνω ωκυττάρου έχει σημαντικό αντίκτυπο στα ποσοστά γεννήσεων ζώντων νεογνών (Sunkara et al., 2011). Συνεπώς, η λήψη τριών ωαρίων αντί για δύο οδηγεί σε σχετική αύξηση του ρυθμού γέννησης ζώντων νεογνών κατά 25% σε όλες τις ηλικιακές ομάδες. Η ίδια αύξηση ποσοστού παρατηρείται και σε πτωχές απαντήτριες με < 5 ώαρια και σε περιορισμένη ωθητική απόκριση με < 5-9 ώαρια (Drakopoulos et al., 2016; Sunkara et al., 2011).

Όσο πιο μεγάλος ο αριθμός των ωαρίων που συλλέγονται, τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα να σχηματιστεί μια ευπλοειδική βλαστοκύστη (Esteves et al., 2019). Έχουν αναπτυχθεί δύο εργαλεία για την εκτίμηση του ελάχιστου αριθμού ωοκυττάρων που απαιτούνται για να επιτύχει μια πτωχή απαντήτρια τουλάχιστον μία ευπλοειδική βλαστοκύστη. Ο υπολογισμός και η αύξηση της πιθανότητας να προκύψει μία ευπλοειδική βλαστοκύστη, γίνεται με τον δείκτη ωοθυλάκιο προς ωοκύτταρο (follicle-to-oocyte index, FOI) και τον υπολογισμό ART (ART calculator) (Abu-Musa et al., 2020).

Το FOI είναι ένα νέο μοντέλο που αναπτύχθηκε για να εκτιμήσει την μειωμένη απόκριση ή την ανθεκτικότητα των ωοθηκών στις γοναδοτροπίνες σε ένα πρωτόκολλο ωοθηκικής διέγερσης (Alviggì, Conforti, Esteves, et al., 2018). Το FOI υπολογίζει την αναλογία ανάμεσα στον συνολικό αριθμό των ωαρίων που ανακτήθηκαν και στον αριθμό των διαθέσιμων ωοθυλακίων άντρου που εκτιμήθηκαν κατά την έναρξη του πρωτοκόλλου διέγερσης. Χαμηλές τιμές του δείκτη FOI συναντάμε όταν λιγότερα από τα μισά ωοθυλάκια αποδίδουν ωοκύτταρα κατά την ωοληψία. Χαμηλός δείκτης FOI μπορεί επίσης να εμφανιστεί σε γυναίκες με φυσιολογικούς δείκτες ωοθηκικής απόκρισης, όπου όμως επιστρατεύτηκε μόνο ένας μικρός αριθμός ωοθυλακίων κατά την διέγερση. Έτσι, ασθενείς με ιστορικό χαμηλού FOI μπορούν να επωφεληθούν από μια επιπλέον διέγερση ή πρόκληση ωορρηξίας, ώστε δυνητικά να αυξηθούν τα ωοθυλάκια που θα επιστρατευτούν (Haahr et al., 2019). Με αυτόν τον τρόπο μπορούν να αυξηθούν οι πιθανότητες ανάπτυξης τουλάχιστον μιας ευπλοειδικής βλαστοκύστης για εμβρυομεταφορά (Abu-Musa et al., 2020).

Ως προγνωστικό μοντέλο για τον σχεδιασμό θεραπείας, ο ART calculator αναπτύχθηκε από το Poseidon group για να συμβάλλει στην εκτίμηση του αριθμού των ωαρίων που απαιτούνται για να εξασφαλιστεί τουλάχιστον μία ευπλοειδική βλαστοκύστη (Esteves et al., 2019). Ο ART calculator παρέχει δύο τύπους προβλέψεων: η πρώτη δίνει μια εκτίμηση πριν την έναρξη της θεραπείας για τον αριθμό των ώριμων ωοκυττάρων που είναι απαραίτητος για να αναπτυχθεί τουλάχιστον μία ευπλοειδική βλαστοκύστη, και η άλλη χρησιμοποιεί τον αριθμό των ωοκυττάρων που συλλέχθηκαν για να υπολογίσει τις πιθανότητες να σχηματιστεί μια ευπλοειδική βλαστοκύστη από αυτόν τον αριθμό των ωαρίων που ανακτήθηκαν (Esteves et al., 2019). Τα εργαλεία αυτά προσφέρουν την δυνατότητα στους ειδικούς να παρέχουν αποτελεσματική συμβουλευτική υποστήριξη στους ασθενείς για την πρόγνωση της θεραπείας και να σχεδιάσουν το κατάλληλο εξατομικευμένο πρωτόκολλο. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιεί ο ART Calculator περιλαμβάνουν την ηλικία και τον τύπο του σπέρματος. Αυτές

οι μεταβλητές βρέθηκε ότι έχουν τον μεγαλύτερο αντίκτυπο όσον αφορά την ευπλοειδία της βλαστοκύστης (Abu-Musa et al., 2020).

4.3 Διαχείριση

Πρωτόκολλα διέγερσης

Οι προτεινόμενες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη διαχείριση των ασθενών με POR αποτελούν πρόκληση και αμφιλεγόμενο θέμα για τους κλινικούς γιατρούς τα τελευταία χρόνια. Το αθροιστικό ποσοστό γεννήσεων ζώντων νεογνών ανά κύκλο θεωρείται το σημαντικότερο αποτέλεσμα στην εξωσωματική γονιμοποίηση και βρίσκεται σε άμεση σχέση με τον αριθμό των ωαρίων που ανακτώνται μετά από ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών (COS) (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018). Κατά συνέπεια, είναι κομβικής σημασίας για τη θεραπευτική στρατηγική η μεγιστοποίηση του αριθμού ωαρίων που θα ανακτηθούν με βάση το ωοθηκικό απόθεμα μιας ασθενούς κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

Ένα από τα ερωτήματα που έχουν τεθεί αφορά το τι θα πρέπει να συνιστάται για την POR, μεταξύ της χρήσης πρωροκόλλων GnRH ανταγωνιστή και GnRH αγωνιστή. Τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές (RCT) και ορισμένες μετα-αναλύσεις έχουν διεξαχθεί για να αναφέρουν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των πρωτοκόλλων αγωνιστών και ανταγωνιστών GnRH. Πολυάριθμα άρθρα συγκρίνουν πρωτόκολλα διέγερσης για πτωχές απαντήτριες, υποδεικνύοντας την ανωτερότητα ή την κατωτερότητα των πρωτοκόλλων που δοκιμάστηκαν. Είναι ενδιαφέρον ότι πολλές από αυτές τις αναφορές αποτυγχάνουν να αντιμετωπίσουν τη σημαντική διακύμανση που υπάρχει στα ποσοστά εγκυμοσύνης, αποτυγχάνοντας να παράσχουν ολοκληρωμένα δεδομένα (Lambalk et al., 2017). Τον Οκτώβριο του 2019, η ομάδα κατευθυντήριων οδηγιών της ESHRE για την αναπαραγωγική ενδοκρινολογία δημοσίευσε τις κατευθυντήριες οδηγίες της ESHRE για τη διέγερση των ωοθηκών για κύκλους IVF/ICSI, συνιστώντας ότι οι ανταγωνιστές GnRH και οι αγωνιστές GnRH συνιστώνται εξίσου και δεν υπάρχουν διαφορές όσον αφορά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα μεταξύ αυτών των πρωτοκόλλων για τη θεραπεία της POR (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Το 2017, οι Lensen et al. δημοσίευσαν μια μετα-ανάλυση που διερευνούσε τις δόσεις γοναδοτροπίνης για τη θεραπεία της POR (Lensen et al., 2018). Στην εν λόγω έκθεση, οι

συγγραφείς περιλαμβάνουν πέντε RCT και τρεις ομάδες σύγκρισης που προέκυψαν. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δόσεων γοναδοτροπίνης 150 IU έναντι 300/450 IU, 300 IU έναντι 400/450 IU και 450 IU έναντι 600 IU όσον αφορά τα ποσοστά γεννήσεων ζώντων νεογνών και εγκυμοσύνης. Παρ' όλα αυτά, τα δεδομένα δείχνουν ότι η χορήγηση γοναδοτροπίνης σε δόση υψηλότερη από 150 IU οδηγεί σε μεγαλύτερο αριθμό ωαρίων που ανακτώνται σε ασθενείς με POR. Ωστόσο, δεν υπάρχει διαφορά στα ποσοστά γεννήσεων ζώντων νεογνών και εγκυμοσύνης (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα, παραμένει ασαφές εάν η αύξηση της δόσολογίας των γοναδοτροπινών πάνω από 150 IU θα μπορούσε να βελτιώσει το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Αξιόπιστα δεδομένα υποδεικνύουν ότι δεν υπάρχει ευεργετική επίδραση της χορήγησης γοναδοτροπινών σε δόση άνω των 300 IU (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Το πρωτόκολλο ήπιας ή ελάχιστης διέγερσης ορίζεται από τη χρήση χαμηλότερης δόσης ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) ή ανθρώπινης εμμηνοπαυσιακής γοναδοτροπίνης (hMG) για μικρό χρονικό διάστημα σε κύκλο συνθεραπείας με ανταγωνιστή GnRH (Nargund et al., 2007). Συνήθως, ακολουθώντας ένα ήπιο πρωτόκολλο σε έναν κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης αναμένουμε να ανακτήσουμε 2-7 ωάρια ανά κύκλο (Jamaludin et al., 2019, p. 201). Σε μια άλλη πρόσφατη μετα-ανάλυση, οι Jamaludin et al. πρότειναν σαφώς τα ήπια πρωτόκολλα διέγερσης ως το συνιστώμενο πρωτόκολλο πρώτης επιλογής για την αντιμετώπιση περιπτώσεων POR, υποδεικνύοντας αυξημένο ποσοστό γεννήσεων ζώντων νεογνών με ελάχιστο αριθμό ληφθέντων ωαρίων (Jamaludin et al., 2019, p. 201). Η ίδια έκθεση παρουσιάζει τα πρωτόκολλα ήπιας διέγερσης ως μια φιλική προς τον ασθενή και οικονομικά αποδοτική επιλογή για την αντιμετώπιση της POR (Jamaludin et al., 2019, p. 201). Το προαναφερθέν πλεονέκτημα της επίτευξης συγκρίσιμων ποσοστών επιτυχίας για τις ασθενείς με POR με τη χορήγηση χαμηλότερων δόσεων σε συνδυασμό με το χαμηλότερο κόστος οδήγησε την Επιτροπή Πρακτικής της Αμερικανικής Εταιρείας Αναπαραγωγικής Ιατρικής να συστήσει τα πρωτόκολλα ήπιας διέγερσης των ωοθηκών για την αντιμετώπιση των ασθενών με POR (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: ASRM@asrm.org, 2018).

Μια άλλη έντονη συζήτηση έχει σημειωθεί στον τομέα σχετικά με τα πρωτόκολλα διέγερσης που χρησιμοποιούν λετροζόλη και κιτρική κλομιφαίνη για τη βελτίωση του αποτελέσματος της διέγερσης σε ασθενείς με POR (Y. Zhang et al., 2020).

Η λετροζόλη αποτελεί έναν εκλεκτικό, μη στεροειδές αναστολέα αρωματάσης τρίτης γενιάς (Mitwally & Casper, 2002). Έχει εκφραστεί η άποψη ότι η χορήγηση λετροζόλης που αναστέλλει τη δραστηριότητα του ενζύμου αρωματάση μειώνει την παραγωγή οιστραδιόλης από την ανδροστενεδιόνη και την τεστοστερόνη (Mitwally & Casper, 2002). Τα δεδομένα καταδεικνύουν ότι στην πρώιμη ωοθυλακική φάση, η μείωση που παρατηρείται στη σύνθεση της οιστραδιόλης, μετά τη χορήγηση λετροζόλης, μειώνει την αρνητική ανατροφοδότηση των οιστρογόνων στα επίπεδα υποθαλάμου-υπόφυσης, προάγοντας τη σύνθεση και έκκριση ενδογενών γοναδοτροπινών (Mitwally & Casper, 2002). Λαμβάνοντας υπόψιν τα προαναφερθέντα, προτείνεται ότι η λετροζόλη θα μπορούσε να λειτουργήσει ως φαρμακευτικός παράγοντας για την πρόκληση ήπιας διέγερσης και η χρήση της έχει διερευνηθεί τόσο σε αναμενόμενη υψηλή όσο και σε χαμηλή ωοθηκική απόκριση (Ebrahimi et al., 2017). Παρά το γεγονός ότι έχουν διεξαχθεί μέχρι στιγμής αρκετές μελέτες που διερευνούν την αποτελεσματικότητα της λετροζόλης όσον αφορά την ενίσχυση των αποτελεσμάτων της διέγερσης σε ασθενείς με αναμενόμενη πτωχή απόκριση, τα αποτελέσματα εξακολουθούν να παραμένουν αμφιλεγόμενα (Y. Zhang et al., 2020). Η χορήγηση λετροζόλης μαζί με γοναδοτροπίνες οδήγησε σε παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά την αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με τις υψηλές δόσεις γοναδοτροπινών (Bastu et al., 2016). Σε αντίθεση με τα προαναφερθέντα συμπεράσματα, έχει αναφερθεί ότι δεν υπάρχει καμία ένδειξη που να υποδηλώνει ότι η λετροζόλη θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά τα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης ή της γέννησης ζώντος νεογνού (Kamath et al., 2017). Το 2017, μια μετα-ανάλυση, ανέφερε ότι η λετροζόλη με FSH σε πρωτόκολλο με ανταγωνιστή GnRH δεν διέφερε από τη συμβατική διέγερση των ωοθηκών για IVF/ICSI όσον αφορά την κλινική εγκυμοσύνη ή τον αριθμό ωαρίων που ανακτήθηκαν (Bechtejew et al., 2017). Δύο χρόνια αργότερα, οι κατευθυντήριες οδηγίες της ESHRE συμπεριέλαβαν στη σύστασή τους ότι η προσθήκη λετροζόλης στις γοναδοτροπίνες στα πρωτόκολλα διέγερσης δεν συνιστάται για τη θεραπεία της POR. Επιπλέον, εκφράστηκαν ανησυχίες σχετικά με πιθανή τερατογένεση που σχετίζεται με τη λετροζόλη (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Η κιτρική κλομφαίνη είναι ένας εκλεκτικός ανταγωνιστής των οιστρογονικών υποδοχέων και παρουσιάζει τόσο οιστρογονικές όσο και αντιοιστρογονικές δράσεις (Giannelou et al., 2020). Σε επίπεδο υποθαλάμου-υπόφυσης, η CC συνδέεται με τους υποδοχείς οιστρογόνων, μειώνει την αρνητική ανατροφοδότηση οιστρογόνων και στη συνέχεια προάγει τη σύνθεση και έκκριση γοναδοτροπινών. Ομοίως με τη λετροζόλη, η CC

χρησιμοποιείται ευρέως στην κλινική πρακτική για την πρόκληση ήπιας διέγερσης (Haas & Casper, 2017). Όσον αφορά τη χρήση της CC για τη διαχείριση των ασθενών με POR, έχουν διεξαχθεί μέχρι στιγμής αρκετές μελέτες, συμπεριλαμβανομένων RCTs και συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων, ωστόσο τα αποτελέσματα φαίνεται να είναι αμφιλεγόμενα. Έχει αναφερθεί ότι τα πρωτόκολλα, που χρησιμοποιούν CC και χορήγηση FSH συν GnRH ανταγωνιστή για ασθενείς με POR, συσχετίζονται με μειωμένα ποσοστά εγκυμοσύνης, αριθμό ώριμων ωαρίων που λαμβάνονται και πάχος ενδομητρίου σε σύγκριση με τα πρωτόκολλα που χρησιμοποιούν FSH συν GnRH αγωνιστή. Επιπλέον, τα δεδομένα δείχνουν ότι η χορήγηση CC δεν καταφέρνει να αυξήσει τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων ή τον αριθμό των εμβρύων που σχηματίζονται και επιπλέον δεν συμβάλλει στη μείωση της δόσης γοναδοτροπινών στα πρωτόκολλα διέγερσης (Schimberni et al., 2016). Ωστόσο, τα δεδομένα που παρέχονται από συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις παρουσιάζουν διαφορετικά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, δεδομένα από μια μετα-ανάλυση, υπέδειξαν ότι τα πρωτόκολλα διέγερσης σε συνδυασμό με CC μπορεί να οδηγήσουν σε παρόμοια αποτελέσματα εγκυμοσύνης σε σύγκριση με τα συμβατικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούν μόνο γοναδοτροπίνες (Song et al., 2016). Μία άλλη μετα-ανάλυση ανέφερε ότι η χορήγηση CC θα μπορούσε να μειώσει την δόση FSH σε γυναίκες με αναμενόμενη POR, παρέχοντας παρόμοια αναπαραγωγικά αποτελέσματα με μειωμένο κόστος (Bechtejew et al., 2017). Παρόμοια δεδομένα παρέχονται επίσης από άλλες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις (Kamath et al., 2017). Φαίνεται ότι η χορήγηση CC σε γυναίκες με POR θα μπορούσε να μειώσει την απαιτούμενη δόση γοναδοτροπινών προκειμένου να επιτευχθεί επιτυχής διέγερση ωθηκών, χωρίς να διακυβεύονται τα αποτελέσματα της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Παρ' όλο που τα προαναφερθέντα ευρήματα μπορούν να στραφούν υπέρ της χρήσης CC, είναι σαφές ότι η ποιότητα των στοιχείων που υποδεικνύουν τη χρήση της χορήγησης CC σε ασθενείς με POR είναι χαμηλή, κυρίως λόγω της μεγάλης ετερογένειας που παρατηρήθηκε μεταξύ των μελετών (Kamath et al., 2017). Το 2019 εκδόθηκαν οι κατευθυντήριες οδηγίες της ESHRE οι οποίες ανέφεραν ότι στην POR δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ της χορήγησης μόνο CC, της CC σε συνδυασμό με γοναδοτροπίνες ή της διέγερσης μόνο με γοναδοτροπίνες όσον αφορά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα. Επομένως, αν και η ποιότητα των δεδομένων είναι χαμηλή, φαίνεται ότι η CC μόνη της ή σε συνδυασμό με γοναδοτροπίνες και η διέγερση γοναδοτροπινών μόνη της συνιστώνται εξίσου για τη θεραπεία των ατόμων με πτωχή ωθηκική απόκριση (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Εν κατακλείδι, τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν ότι η λετροζόλη δεν θα πρέπει να θεωρείται αποτελεσματικός παράγοντας για τη βελτίωση της ωθηκικής διέγερσης των γυναικών με POR (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Αντίθετα, η χορήγηση CC μόνη της ή σε συνδυασμό με γοναδοτροπίνες ή η διέγερση μόνο με γοναδοτροπίνες φαίνεται να είναι ασφαλείς στρατηγικές με την ίδια αποτελεσματικότητα (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Ωστόσο, απαιτείται ακόμη έρευνα προκειμένου να διευκρινιστεί η αποτελεσματικότητα καθώς και το κατάλληλο σχήμα χορήγησης, συμπεριλαμβανομένης της κατάλληλης δόσης, όσον αφορά τη χρήση λετροζόλης και πρωτοκόλλων CC για τη διαχείριση της POR (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Συμπληρωματικές θεραπείες

Εκτός από τη χρήση λετροζόλης και CC, διάφορες μελέτες προτείνουν τη συγχορήγηση επικουρικών θεραπειών, συμπεριλαμβανομένων συμπληρωμάτων ανδρογόνων όπως η τεστοστερόνη και η δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) (Bosdou et al., 2012; Nagels et al., 2015, p. 201; Saharkhiz et al., 2018), η αυξητική ορμόνη (GH) (Y.-M. Xu et al., 2019), στεροειδείς ορμόνες όπως η οιστραδιόλη και η προγεστερόνη (Davar et al., 2018; DiLuigi et al., 2011), ανασυνδυασμένη LH (rLH) (Humaidan et al., 2017), μυσίνοσιτόλη (Caprio et al., 2015) και συνένζυμο Q10 (CoQ10) (Y. Xu et al., 2018). Δεδομένης της μεγάλης ποικιλίας των διαφορετικών μηχανισμών δράσης τους, όλες οι προαναφερθείσες επικουρικές θεραπείες έχουν προταθεί για τη βελτίωση της έκβασης του κύκλου στοχεύοντας, από τη βελτίωση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων και της ωρίμανσης των ωαρίων έως την ενίσχυση της ποιότητας των εμβρύων και της δεκτικότητας του ενδομητρίου (Y. Zhang et al., 2020).

Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι τα συμπληρώματα ανδρογόνων, όπως η τεστοστερόνη και η δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA), θα μπορούσαν να βελτιώσουν την απόκριση των γυναικών με POR (Bosdou et al., 2012; Nagels et al., 2015, p. 201; Saharkhiz et al., 2018). Το 2018, μια μετα-ανάλυση υπογράμμισε ότι τα ανδρογόνα μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ωοθυλακιόγνεση αυξάνοντας την ωθηκική απόκριση στις γοναδοτροπίνες, γεγονός που υποδηλώνει ότι ίσως υπάρχει θετική επίδραση των ανδρογόνων στη διαδικασία της ωοθυλακιόγνεσης, αν και η ακριβής μοριακή οδός είναι ακόμη ασαφής

(Noventa et al., 2019).

Από την άλλη πλευρά, αναφέρεται ότι η χορήγηση χαμηλής δόσης GH θα μπορούσε να αυξήσει τα ποσοστά επιτυχίας των ασθενών με POR που υποβάλλονται σε θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης (Y.-M. Xu et al., 2019). Έχει προταθεί ότι η GH θα μπορούσε να αυξήσει την ευαισθησία των κοκκιωδών κυττάρων στις γοναδοτροπίνες μέσω του μονοπατιού του ινσουλινομιμητικού παράγοντα 1 (IGF-1), προωθώντας τη στρατολόγηση των ωοθυλακίων (Hart, 2019). Τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η συμπληρωματική χορήγηση GH θα μπορούσε να αυξήσει τον αριθμό των ανακτηθέντων ωαρίων και θα μπορούσε να μειώσει τη διάρκεια της ωοθηκικής διέγερσης (Hart, 2019). Ωστόσο, η ποιότητα των στοιχείων που υποστηρίζουν τη χρήση της GH για τη διαχείριση της POR εξακολουθεί να παραμένει χαμηλή και δεν μπορούν να διεξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα όσον αφορά τη χρήση της GH στην κλινική πράξη (Y. Zhang et al., 2020).

Επιπλέον, οι στεροειδείς ορμόνες του φύλου, συμπεριλαμβανομένης της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης (Davar et al., 2018; DiLuigi et al., 2011; Y.-M. Xu et al., 2019), έχουν διερευνηθεί στη βιβλιογραφία ως πιθανές επικουρικές θεραπείες για την POR. Έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση οιστρογόνων και προγεστερόνης θα μπορούσε να βελτιώσει τα αποτελέσματα της διέγερσης καθώς και τη υποδεκτικότητα του ενδομητρίου. Ωστόσο, ο ρόλος τους στη διαχείριση της POR παραμένει ασαφής (Y. Zhang et al., 2020).

Η ανασυνδυασμένη LH (rLH) είναι μια άλλη επικουρική θεραπεία που προτείνεται για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων της εξωσωματικής γονιμοποίησης των ασθενών με POR (Y. Zhang et al., 2020). Ωστόσο, δεδομένα υποδεικνύουν ότι η χορήγηση rLH δεν συσχετίζεται με βελτιωμένη απόδοση των πρωτοκόλλων διέγερσης, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα ενδογενή επίπεδα LH στον ορό υποστηρίζουν επαρκώς την ωοθυλακική στεροειδογένεση. Επιπλέον, η βέλτιστη ημερήσια δόση και ο χρόνος χορήγησης της rLH εξακολουθούν να βρίσκονται υπό εξέταση (Humaidan et al., 2017).

Όσον αφορά στη χορήγηση μυοϊνοσιτόλης και CoQ10, τα δεδομένα είναι ακόμη ασαφή. Η μυοϊνοσιτόλη έχει αποδειχθεί ότι είναι ευεργετική όσον αφορά την ποιότητα των ωαρίων σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Ωστόσο, η ευεργετική επίδρασή της ως συμπληρωματική θεραπεία για γυναίκες με POR δεν έχει αποδειχθεί μέχρι στιγμής (Carprio et al., 2015). Το 2018, μια RCT ανέφερε ότι η προετοιμασία των ασθενών πριν τη θεραπεία με συνένζυμο Q10 (CoQ10) μπορεί να βελτιώσει την ωοθηκική ανταπόκριση και την ποιότητα των εμβρύων σε γυναίκες με κακή πρόγνωση κατά τη διάρκεια της

εξωσωματικής γονιμοποίησης (Y. Xu et al., 2018).

Το 2020, διεξήχθη μία συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση δικτύου που διερευνούσε την αποτελεσματικότητα των διαφόρων στρατηγικών επικουρικής θεραπείας στη διαχείριση των ασθενών με POR που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση (Y. Zhang et al., 2020). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης φαίνεται ότι τα πρωτόκολλα διέγερσης που συνοδεύονται από συμπληρωματικές θεραπείες, συμπεριλαμβανομένων των DHEA, CoQ10 και GH, συσχετίζονται με υψηλότερες πιθανότητες επίτευξης εγκυμοσύνης, καθώς και με χαμηλότερη δόση γοναδοτροφινών για τη στρατολόγηση ωοθυλακίων (Y. Zhang et al., 2020). Ωστόσο, στην ίδια μελέτη, οι συγγραφείς υπογράμμισαν το γεγονός ότι, παρά την πληθώρα των δημοσιεύσεων, είναι προφανές ότι δεν μπορούν ακόμη να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα όσον αφορά τη χρήση επικουρικών θεραπειών για τη διαχείριση της POR.

Συμπερασματικά, η χρήση των επικουρικών θεραπειών δεν έχει ακόμη αναδειχθεί ως κοινώς αποδεκτή θεραπεία για την POR λόγω της διφορούμενης αποτελεσματικότητάς τους. Δεδομένα που παρέχονται από μεγάλες και καλά σχεδιασμένες RCTs είναι υψίστης σημασίας προκειμένου να διερευνηθούν σωστά οι παράμετροι που σχετίζονται με τις επικουρικές θεραπείες, συμπεριλαμβανομένου του βέλτιστου πρωτοκόλλου χορήγησης καθώς και ζητήματα ασφάλειας.

Φυσικοί κύκλοι

Στην ART, ο φυσικός κύκλος περιλαμβάνει τη διαδικασία της συλλογής ωαρίων μετά τον εντοπισμό του γραφιανού ωοθυλακίου κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης ενός εμμηνορρυσιακού κύκλου. Το ωάριο που ανακτάται στη συνέχεια γονιμοποιείται, ενώ ο φυσικός κύκλος ολοκληρώνεται με εμβρυομεταφορά (Nargund et al., 2007). Ο αυξημένος κίνδυνος ακύρωσης που ενέχει ένας φυσικός κύκλος ώθησε τους κλινικούς ιατρούς να διερευνήσουν περαιτέρω επιλογές που μπορούν να διασφαλίσουν τη συλλογή ενός αυξημένου αριθμού ωαρίων, διατηρώντας τον ελάχιστο δυνατό κίνδυνο. Έτσι, αναπτύχθηκε η έννοια του τροποποιημένου φυσικού κύκλου και εγκαταλείφθηκε η ιδέα της εκτέλεσης αυστηρά φυσικών κύκλων (J. R. Ho & Paulson, 2017). Ο ελάχιστος επεμβατικός χαρακτήρας αυτής της διαδικασίας και η απουσία ορμονικής θεραπείας αναγνωρίστηκαν ως θετικά,

καθιστώντας τον φυσικό κύκλο μια βιώσιμη εναλλακτική λύση (J. R. Ho & Paulson, 2017). Πολυάριθμες μελέτες στη βιβλιογραφία προτείνουν φυσικούς και τροποποιημένους φυσικούς κύκλους για τη θεραπεία της POR. Σε δύο RCT όπου οι συγγραφείς συγκρίνουν τα αποτελέσματα μεταξύ των φυσικών κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης και του ήπιου πρωτοκόλλου με μικρές δόσεις και υψηλής δόσης ανταγωνιστή, δεν αναφέρθηκε καμία διαφορά στα ποσοστά κλινικής εγκυμοσύνης κυήσεων και γέννησης ζώντων νεογνών (C.-H. Kim et al., 2009; Morgia et al., 2004).

Παρ' όλα αυτά, στην βιβλιογραφία δεν υπάρχουν υψηλής ποιότητας δεδομένα, που να υποστηρίζουν ότι ο τροποποιημένος φυσικός κύκλος ή η εξωσωματική γονιμοποίηση με φυσικό κύκλο σε ασθενείς σε πτωχή ωοθηκική απάντηση, αποτελούν έγκυρη ή βέλτιστη επιλογή για την POR (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020). Από μια άποψη, η συμβατική διέγερση των ωοθηκών με τη χρήση υψηλότερων δόσεων γοναδοτροφινών συνδέεται συχνά με ποικίλες παρενέργειες, υψηλότερο κόστος και πρόσθετη ψυχολογική μετά από αποτυχημένες προσπάθειες (Y. Zhang et al., 2020). Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα της εξωσωματικής γονιμοποίησης με φυσικό κύκλο για την POR μπορεί να είναι χαμηλή και πιθανώς δεν συστήνεται εξ' αιτίας των υψηλών ποσοστών ακύρωσης κύκλων λόγω του χαμηλού αριθμού ανάκτησης ωαρίων (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Αποθήκευση ωαρίων και εμβρύων

Μεγάλη πρόοδος έχει σημειωθεί όσον αφορά την κρυοσυντήρηση ωαρίων και εμβρύων, μετά την εισαγωγή της υαλοποίησης στην κλινική πράξη, η οποία συνέβαλλε στην διερεύνηση μίας νέας στρατηγικής για την αποτελεσματική διαχείριση των ασθενών με POR. Στόχος αυτής της στρατηγικής είναι η δημιουργία μιας "τράπεζας" κατεψυγμένων ωαρίων ή/και εμβρύων για την αποθήκευσή τους μετά από έναν αριθμό κύκλων ωοθηκικής διέγερσης ή ακόμη και μέσω φυσικών ή τροποποιημένων φυσικών κύκλων (Chatziparasidou et al., 2013; Cobo et al., 2012). Η λογική πίσω από αυτή την προσέγγιση, για τη διαχείριση των ασθενών με POR, είναι ότι το ποσοστό επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης θα μπορούσε να βελτιωθεί και το ποσοστό ασθενών που εγκαταλείπουν την προσπάθεια θα μπορούσε να μειωθεί εάν αυξηθεί ο αριθμός των διαθέσιμων εμβρύων για μεταφορά.

Όσον αφορά την αποθήκευση ωαρίων, τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι αυτή θα μπορούσε να είναι μια αποτελεσματική προσέγγιση για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε ασθενείς με POR (Chatziparasidou et al., 2013; Cobo et al., 2012). Οι Datta et al. πρότειναν την αποθήκευση εμβρύων μέσω πολλαπλών τροποποιημένων φυσικών κύκλων, η οποία θα μπορούσε να δώσει τη δυνατότητα επιλογής και μεταφοράς του καλύτερου εμβρύου, οδηγώντας σε βελτιωμένα αποτελέσματα εγκυμοσύνης στην POR (Datta et al., 2019). Επιλέγοντας αυτή τη στρατηγική, η συντριπτική πλειονότητα των γυναικών, που έχει υποβληθεί σε τουλάχιστον τρεις επαναλαμβανόμενους κύκλους μπορεί να έχει τουλάχιστον ένα έμβρυο για μεταφορά, ξεπερνώντας τον υψηλό κίνδυνο ακύρωσης του κύκλου που συνδέεται με έναν μόνο φυσικό κύκλο (Datta et al., 2019).

Παρ' όλα αυτά, δεν υπάρχουν αξιόπιστα δεδομένα που να υποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια αυτής της στρατηγικής αναφορικά με τα έμβρυα και τα ωάρια. Επιπλέον, σημαντικά ερωτήματα, όπως "ποιος είναι ο κατάλληλος αριθμός ωαρίων και εμβρύων που πρέπει να συλλεχθούν πριν από την εμβρυομεταφορά;" και "ποια είναι η καλύτερη στρατηγική για τη συλλογή", παραμένουν προς απάντηση. Απαιτούνται μεγάλες προοπτικές μελέτες ή ακόμη και RCT για την παροχή αξιόπιστων δεδομένων προκειμένου να επαληθευτεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια αυτής της στρατηγικής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΔΕΥΤΕΡΟ ΩΟΘΥΛΑΚΙΚΟ ΚΥΜΑ

Η μεγάλη πρόκληση στην ιατρικώς υποβοηθούμενη αναπαραγωγή είναι η εφαρμογή του κατάλληλου θεραπευτικού πρωτοκόλλου σε κάθε ασθενή που ανήκει στην ετερογενή ομάδα της χαμηλής πρόγνωσης. Ο τελικός σκοπός είναι η επίτευξη ενός θετικού αποτελέσματος και η γέννηση ενός υγιούς νεογνού.

Με στόχο την επίτευξη αυτού του στόχου έχουν αναπτυχθεί πολλά πρωτόκολλα για την αύξηση της ωοθηκικής απόκρισης. Σε αυτά περιλαμβάνονται GnRH ανάλογα (Pandian et al., 2010), συνδυασμοί γοναδοτροπινών (Bosdou et al., 2012), πρωτόκολλα με κιτρική κλομιφαίνη και γοναδοτροπίνες (D'Amato et al., 2004) και πρωτόκολλα που χρησιμοποιούν hCG, μελατονίνη, μουϊνοσιτόλη, ασπιρίνη, ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους και DHEA (Chern et al., 2018; Filicori et al., 2005; Patrono et al., 2005; Waldenström et al., 2005). Οι πιο συχνά επιλεγμένες παρεμβάσεις είναι το πρωτόκολλο με ανταγωνιστές, το ήπιο πρωτόκολλο

με χαμηλές δόσεις και το μακρύ πρωτόκολλο καταστολής (Parathanasiou et al., 2016, p. 201).

Έχει υποστηριχθεί ότι η χορήγηση γοναδοτροφινών δεν μπορεί να αντισταθμίσει την απουσία ωοθυλακίων στην ωοθήκη, επομένως η διέγερση ωοθηκών σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται, δεν μπορεί να αυξήσει την απόδοση ωαρίων ή το ποσοστό επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Είναι ενδιαφέρον ότι η διέγερση ωοθηκών μπορεί να παρέχει πρόσθετο όφελος στο πλαίσιο της εκμετάλλευσης πολλαπλών ωοθυλακικών κυμάτων εντός ενός εμμηνορρυσιακού κύκλου. Τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί ένα νέο πρότυπο ωοθυλακιογένεσης σύμφωνα με το οποίο παρατηρείται ένα δεύτερο ωοθυλακικό κύμα που ακολουθεί το γνωστό που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης (A. R. Baerwald et al., 2003). Τα τρέχοντα δεδομένα έχουν εγείρει προβληματισμούς που αμφισβητούν την έννοια της ενιαίας ωοθυλακιογένεσης, ενώ εισάγουν την έννοια δύο ή ακόμη και τριών περαιτέρω τέτοιων φάσεων (A. R. Baerwald et al., 2003).

Η πιο σημαντική παράμετρος σε γυναίκες με πτωχή ωοθηκική απάντηση και προχωρημένης ηλικίας είναι ο χρόνος (Gonda et al., 2018). Λαμβάνοντας υπόψιν αυτό, διερευνώνται νέες μέθοδοι για να καθοριστεί ο χρόνος κι ο αριθμός των ωοκυττάρων που θα ληφθούν. Οι έρευνες για την αποδοτικότερη θεραπεία της POR έχουν επικεντρωθεί στο φαινόμενο του δεύτερου ωοθυλακικού κύματος (second follicular wave, SFW). Έχουν γίνει προσπάθειες για να ενσωματωθεί αυτό το φαινόμενο στις διαθέσιμες στρατηγικές για τις πτωχές απαντήτριες (Sfakianoudis, Simoroulou, Maziotis, et al., 2019).

Σε μια προσπάθεια να αξιοποιηθεί στο έπακρο το SFW με την εξάσφαλιση του μεγαλύτερου δυνατού αριθμού ωοκυττάρων και από τις δύο φάσεις, έχουν αναπτυχθεί πρωτόκολλα διπλής ελεγχόμενης διέγερσης (Kuang et al., 2014). Ο όρος “Duo Stim” έχει προταθεί για την περιγραφή αυτής της μεθόδου (F. M. Ubaldi et al., 2016).

Διάφορες μελέτες έχουν προσπαθήσει να συγκρίνουν τα αποτελέσματα των κύκλων IVF διπλής διέγερσης μέσα στον ίδιο εμμηνορρυσιακό κύκλο. Οι περισσότερες μελέτες έδειξαν πως μετά από ένα πρωτόκολλο DuoStim δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ωοθυλακικής και ωχρινικής φάσης όσον αφορά στον αριθμό των συμπλεγμάτων ωοκυττάρου-κοκκιωδών κυττάρων και των ώριμων ωαρίων που ανακτήθηκαν (Vaiarelli et al., 2017). Επιπροσθέτως, φαίνεται πως τα ωοκύτταρα που λήφθηκαν μέσω διέγερσης στην ωχρινική φάση παρουσιάζονται με τον ίδιο βαθμό ωριμότητας και ποσοστό γονιμοποίησης με αυτά της ωοθυλακικής φάσης (Kuang et al., 2014).

Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι ένα πρωτόκολλο διπλής διέγερσης μπορεί να αποδώσει ωκύτταρα υψηλής ποιότητας (Kuang et al., 2014). Αντίστοιχα, δεδομένα που αφορούν στην ωληψία κατά την ωχρινική φάση (Luteal Phase Oocyte Retrieval, LuPOR) υποδεικνύουν ότι ο αριθμός των ωκυττάρων και το ποσοστό γονιμοποίησης (Kuang et al., 2014), ο σχηματισμό εμβρύων στο στάδιο της αυλάκωσης (Liu et al., 2017) και το ποσοστό σχηματισμού βλαστοκύστης (Cardoso et al., 2017), καθώς και το χρωμοσωμικό προφίλ των εμβρύων που προέρχονται από ώαρια του SFW (F. M. Ubaldi et al., 2016) δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους κύκλους διέγερσης είτε σε ωοθυλακική είτε σε ωχρινική φάση.

5.1 Θεωρίες ωοθυλακικής ανάπτυξης

Η ωοθυλακική ανάπτυξη είναι μια δυναμική διαδικασία. Σύμφωνα με την κλασική θεωρία (μοναδικό επεισόδιο στρατολόγησης), μία μοναδική ομάδα ωοθυλακίων άντρου αναπτύσσονται κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης. Η συγκεκριμένη θεωρία έχει ανατραπεί από την εμφάνιση δεδομένων που υποστηρίζουν την παρουσία πολλαπλών κυμάτων μέσα σε έναν εμμηνορυσιακό κύκλο και προέρχονται από μελέτες που έγιναν σε θηλαστικά (Ginther et al., 2009).

Τα δεδομένα αυτά παρατηρήθηκαν πρώτα σε μοντέλα μεγάλων ζώων και επιβεβαιώθηκαν σε έρευνες σε ανθρώπους. Αυτό οδήγησε στην δημιουργία δύο ακόμη θεωριών σχετικά με την ωοθυλακική ανάπτυξη (A. R. Baerwald et al., 2012). Σύμφωνα με την θεωρία συνεχούς στρατολόγησης, τα ωοθυλάκια αυξάνονται και μειώνονται σε μέγεθος συνεχώς μέσα σε έναν ωοθυλακικό κύκλο. Σύμφωνα με την θεωρία των κυμάτων, 2 με 3 ομάδες ωοθυλακίων άντρου επιλέγονται σε κάθε ωοθυλακικό κύκλο.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται η επιλογή των ωοθυλακίων δεν είναι απόλυτα κατανοητοί. Πολλοί ενδοωθητικοί ρυθμιστές, τα επίπεδα FSH και προγεστερόνης, ακόμη και δείκτες φλεγμονής, έχουν προταθεί για την ρύθμιση των δυναμικών σχέσεων πίσω από την προέλευση των ωοθηκικών κυμάτων (A. R. Baerwald et al., 2003). Από κλινικής άποψης, η προσδευτική γνώση για την ύπαρξη των ωοθηκικών κυμάτων στους ανθρώπους, άνοιξε νέες οδούς για την βελτίωση των πρωτοκόλλων διέγερσης, ώστε να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα και η αποδοτικότητα της IVF (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

5.2 Φυσιολογία του Δεύτερου Ωοθυλακικού Κύματος

Μια γυναίκα που υποβάλλεται σε πρωτόκολλο διέγερσης κατά την διάρκεια ενός κύκλου IVF, αμέσως μετά την ωοληψία στην ωοθηκική φάση και λόγω των υψηλών επιπέδων FSH, θα παρουσιάσει ένα δεύτερο ωοθηκικό κύμα (A. R. Baerwald et al., 2003). Το κύμα αυτό είναι εμφανές από τα αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης και από την εκτίμηση στον υπερηχογραφικό έλεγχο (A. R. Baerwald et al., 2003).

Λόγω όμως των υψηλών επιπέδων προγεστερόνης, μετά την κανονική ωορρηξία και είσοδο στην ωχρινική φάση (Child et al., 2018), το δεύτερο ωοθυλακικό κύμα δεν καταφέρνει να φτάσει σε ωορρηξία το γραφιανό ωοθυλάκιο της ωχρινικής φάσης. Η προγεστερόνη που παράγεται από το ωχρό σωματίο στην ωχρινική φάση μπορεί να συνεισφέρει στην καταστολή της υπόφυσης μέσω αρνητικής ανάδρασης, με αποτέλεσμα έναν ανωορρηκτικό κύμα (Kuang et al., 2014).

Ο συνδυασμός της αυξημένης οιστραδιόλης με την καταστολή της υπόφυσης από την προγεστερόνη μπορεί να οδηγήσει στην δημιουργία κυστικού μορφώματος. Έτσι, καθώς τα επίπεδα των ορμονών δεν επιτρέπουν την φυσική απελευθέρωση της ωορρηξίας στην ωχρινική φάση, αναμένεται το γραφιανό ωοθυλάκιο να γίνει κυστικό θυλάκιο λόγω της συνύπαρξης προγεστερόνης και οιστραδιόλης (Sfakianoudis, Simopoulou, Maziotis, et al., 2019).

Η αρνητικά προσκείμενη κατάσταση αυτή μπορεί να ανατρέψει τις προσπάθειες για γονιμοποίηση και να διακινδυνεύσει έναν επόμενο κύκλο. Μια πιθανή αντιμετώπιση είναι η αναμονή έως η κύστη να υποχωρήσει μόνη της αυτόματα. Ο πεπερασμένος χρόνος μιας πτωχής απαντήτριας είναι κάτι που πρέπει να λάβουμε υπόψιν, όμως, όπως επίσης και το ψυχολογικό βάρος στο οποίο θα υποβληθεί. Λαμβάνοντας τα παραπάνω υπόψιν, η αναρρόφηση του ωχρινικού θυλακίου εξυπηρετεί διπλό σκοπό: παρέχει στην ασθενή ένα επιπλέον ωκύτταρο και βοηθάει στην επανέναρξη του δεύτερου ωοθυλακικού κύματος, εξασφαλίζοντας μια καλύτερη πρόγνωση για έναν επόμενο κύκλο (Sfakianoudis, Simopoulou, Maziotis, et al., 2019).

5.3 Πρωτόκολλο DuoStim

Τα στοιχεία που δείχνουν την ύπαρξη πολλαπλών ωοθηκικών κυμάτων μέσα σε έναν εμμηνορυσιακό κύκλο, εμφάνισαν ένα νέο μοντέλο για την περιγραφή της ανθρώπινης παραγωγής ωοθυλακίων (A. R. Baerwald et al., 2012). Βοήθησαν στην εισαγωγή νέων, μη συμβατικών πρωτοκόλλων στην κλινική πράξη, ώστε να εξασφαλιστεί η καλύτερη δυνατή αντιμετώπιση ομάδων ασθενών με υπογονιμότητα (Massin, 2017).

Η μεταβλητότητα και η δυναμική της ωοθυλακιογένεσης έχει καταρρίψει την κλασική θεωρία όπου μόνο μία ομάδα ωοθυλακίων αναπτύσσεται κατά την διάρκεια ενός ωοθηκικού κύκλου. Οι θεωρίες που αναφέρθηκαν πιο πάνω υποστήριξαν την δημιουργία τεσσάρων νέων πρωτοκόλλων για ωοθηκική διέγερση:

I. Τυχαία έναρξη

Το πρωτόκολλο διέγερσης ξεκινάει σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή του ωοθηκικού κύκλου. Αυτό το πρωτόκολλο επιλέγεται συχνά σε ασθενείς που θα υποβληθούν σε ογκολογική θεραπεία με σκοπό την διατήρηση της γονιμότητας.

II. Διέγερση όψιμης ωοθηλακικής φάσης

Η διέγερση ξεκινά μετά την επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου ή αμέσως πριν την ωορρηξία, σε περίπτωση διατήρησης της γονιμότητας

III. Διέγερση ωχρινικής φάσης

Το πρωτόκολλο διέγερσης ξεκινάει με χορήγηση γοναδοτροπινών ανάμεσα στην 17^η και 21^η μέρα του κύκλου. Η στρατηγική αυτή έχει προταθεί σε ασθενείς με μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα ή ιστορικό ακύρωσης κύκλων IVF λόγω μειωμένης ωοθηκικής απάντησης.

IV. Διπλή διέγερση στον ίδιο κύκλο (DuoStim)

Συνδυάζονται τα πρωτόκολλα ωοθυλακικής και ωχρινικής διέγερσης στον ίδιο εμμηνορυσιακό κύκλο. Η στρατηγική αυτή έχει προταθεί σε ασθενείς που έχουν χαρακτηριστεί ως πτωχές απαντήτριες, ειδικά λόγω της προχωρημένης ηλικίας και του

μειωμένου ωοθηκικού αποθέματος, καθώς και για λόγους διατήρησης της γονιμότητας (Kuang et al., 2014; Vaiarelli et al., 2017).

Το πρωτόκολλο DuoStim είναι χρήσιμο σε όλες τις ασθενείς που μπορούν να ωφεληθούν από την αύξηση του αριθμού των ωαρίων που θα συλλεχθούν. Με αυτόν τον τρόπο μεγιστοποιείται κατά το δυνατόν το ποσοστό γεννήσεων ζώντων νεογνών. Επιπλέον, φαίνεται πως μειώνεται ο χρόνος για την απόκτηση μιας ευπλοειδικής βλαστοκύστης και αποφεύγεται η ακύρωση των κύκλων (Vaiarelli, Cimadomo, Alviggi, et al., 2020).

Ενδείξεις

Η κρυσυντήρηση ωαρίων αποτελεί μεγάλη δοκιμασία για τον ογκολογικό ασθενή που έχει άμεση ανάγκη για διατήρηση γονιμότητας πριν υποβληθεί σε ακτινοθεραπεία ή χημιοθεραπεία (Cobo et al., 2016). Σε αυτούς τους ασθενείς, είναι απαραίτητο να μεγιστοποιηθεί ο αριθμός των ωοκυττάρων που θα κρυσυντηρηθούν μετά από ένα πρωτόκολλο ελεγχόμενης διέγερσης μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα για να αυξηθεί η πιθανότητα για εγκυμοσύνη στο μέλλον.

Σε αυτό το πλαίσιο, ο ιδανικός αριθμός ωοκυττάρων για κρυσυντήρηση θεωρείται τουλάχιστον 10 με 15. Ο αριθμός αυτός εξαρτάται στον μεγαλύτερο βαθμό από την ηλικία της μέλλουσας μητέρας (Cobo et al., 2016; Sunkara et al., 2011). Για αυτό το λόγο ένα πρωτόκολλο τυχαίας έναρξης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιταχυνθεί η διατήρηση της γονιμότητας και να μειωθεί η καθυστέρηση της έναρξης της θεραπείας για τον καρκίνο. Η χρήση ενός τέτοιου πρωτοκόλλου είναι εφικτή διότι δεν υπάρχει η ανάγκη συγχρονισμού ωοθηκών-ενδομητρίου.

Πολλοί ασθενείς βιώνουν το δυσάρεστο γεγονός να μην συμπληρώνουν τον απαιτούμενο αριθμό ωοκυττάρων για να εξασφαλίσουν καλές πιθανότητες εγκυμοσύνης. Έτσι, όταν ο χρόνος είναι περιορισμένος και τα ωοκύτταρα που συλλέχθηκαν μετά από μια διέγερση δεν είναι επαρκή, η χρήση του πρωτοκόλλου DuoStim είναι μια πιθανή εναλλακτική για την διατήρηση της γονιμότητας (Venturella et al., 2019).

Το πρωτόκολλο DuoStim, δηλαδή δύο συνεχόμενες διεγέρσεις με κενό 5 ημερών, αποτελεί μία σημαντική επιλογή για την θεραπεία ασθενών με χαμηλή πρόγνωση, όπως γυναίκες προχωρημένης ηλικίας, ή γυναίκες με μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα. Ο στόχος λοιπόν είναι η μεγιστοποίηση του αριθμού των ωοκυττάρων που θα συλλεχθούν σε έναν

ωοθηκικό κύκλο, ή να βοηθηθούν οι ασθενείς στους οποίους δεν μπόρεσαν να απομονωθούν ωοκύτταρα ή δεν παράχθηκαν ικανοποιητικά έμβρυα μετά από διέγερση στην ωοθυλακιορρηκτική φάση (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

Μέχρι σήμερα, δεν έχει καθιερωθεί ένα ιδανικό πρωτόκολλο για τις ασθενείς με πτωχή πρόγνωση. Αντιθέτως, έχει καταγραφεί σταθερά χαμηλός αριθμός γεννήσεων ζώντων νεογνών ανεξάρτητα από το εκάστοτε χρησιμοποιούμενο πρωτόκολλο διέγερσης. Συγκεκριμένα, έχει σημειωθεί σημαντική πτώση στην ποιότητα και ποσότητα των ωαρίων σε αυτή την κατηγορία γυναικών.

Είναι γνωστό ότι τα ωάρια γυναικών προχωρημένης ηλικίας έχουν μειωμένη ικανότητα λόγω βλαβών στα μιτοχόνδρια, και μείωση των τελομερών (Cimadomo et al., 2018). Τα ανευπλοειδικά ωοκύτταρα έχουν την μεγαλύτερη αύξηση πληθυσμού πριν την εμμηναρχή και αμέσως πριν την εμμηνόπαυση. Οι γυναίκες 25 ετών εμφανίζουν την μικρότερη συχνότητα τέτοιων ωοκυττάρων (Gruhn et al., 2019).

Γυναίκες στην ηλικία των 40 εμφανίζουν σταθερή ικανότητα ωαρίων για ανάπτυξη βλαστοκύστεων. Μετά από αυτήν την ηλικία σημειώνεται απότομη μείωση (Maggiulli et al., 2020). Γυναίκες κάτω των 35 έχουν 25-30% πιθανότητα ανευπλοειδικής βλαστοκύστης ενώ σε γυναίκες άνω των 42 το ποσοστό φθάνει πάνω από το 90% (Caralbo et al., 2017).

Τα παραπάνω στοιχεία επηρεάζουν την επιλογή του κατάλληλου πρωτοκόλλου διέγερσης ανάλογα με την ηλικία της ασθενούς (F. M. Ubaldi et al., 2019). Εκτός από την μειωμένη πιθανότητα αναπαραγωγής, οι ανευπλοειδίες είναι υπεύθυνες για χρωμοσωμικές ανωμαλίες και αυξημένο κίνδυνο αποβολών (Cimadomo et al., 2018). Κατάλληλη θεραπεία για την αποφυγή αυτών δεν έχει βρεθεί ακόμα. Η μόνη διαθέσιμη οδός για την αντιστάθμιση της απόπτωσης στην ικανότητα ωοκυττάρων και εμβρύων είναι η συλλογή του μεγαλύτερου δυνατού αριθμού ώριμων ωοκυττάρων (F. M. Ubaldi et al., 2019).

Διαδικασία πρωτοκόλλου DuoStim

Το πρωτόκολλο DuoStim περιλαμβάνει δύο συνεχόμενες διεγέρσεις μέσα στον ίδιο εμμηνορυσιακό κύκλο. Ο στόχος είναι να αυξηθούν τα ωοκύτταρα που θα συλλεχθούν και κατ' επέκταση οι διαθέσιμες βλαστοκύστες για εμβρυομεταφορά.

Τα πρωτόκολλα διέγερσης ωοθυλακικής φάσης περιλαμβάνουν ένα μακρύ και ένα βραχύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH, ένα πρωτόκολλο ανταγωνιστή GnRH, ή ένα πρωτόκολλο ήπιας διέγερσης. Η διέγερση ωοθυλακικής φάσης ολοκληρώνεται με την αναρρόφηση (34-36 ώρες μετά την ενεργοποίηση) ωαρίων από τα ωοθυλάκια διαμέτρου ≥ 12 mm, ενώ τα ωοθυλάκια ≤ 11 mm σε διάμετρο θα μπορούσαν να αφεθούν για διέγερσης ωχρινικής φάσης. Όταν υπάρχει τουλάχιστον ένα ωοθυλάκιο διαμέτρου 6-11 mm η διέγερση ωχρινικής φάσης μπορεί να πραγματοποιηθεί με την ημερήσια χορήγηση γοναδοτροπίνης εντός 1-3 ημερών μετά το πέρας της ωληψίας. Στην συνέχεια, όταν ένα ή δύο ωοθυλάκια φθάσουν διάμετρο 18 mm, χορηγείται hCG για την τελική ωρίμανση των ωοθυλακίων (Liu et al., 2017). Ως εκ τούτου, όλα τα ληφθέντα ώριμα ωάρια θα μπορούσαν να γονιμοποιηθούν και να κρυσταλλωθούν, προκειμένου να μεταφερθούν σε έναν επόμενο κύκλο.

Η χρήση των γοναδοτροπινών στην ωχρινική φάση του κύκλου επιτρέπει την διάσωση των μικρών ωοθυλακίων του άντρου τα οποία σε άλλη περίπτωση θα είχαν χαθεί, ως μέρος ενός φυσιολογικά ανωοθυλακιορρηκτικού ωχρινικού κύματος (Massin, 2017).

Η επιλογή για συμπληρωματική θεραπεία με r-LH κατά την διάρκεια του DuoStim βασίζεται στην ιδιότητά της να προωθεί την στερεοειδογένεση και την ωοθυλακιογένεση (Mochtar et al., 2017). Η LH προωθεί την παραγωγή ανδρογόνων, διεγείρει τα αρχικά στάδια της ωοθυλακιογένεσης, αυξάνει την στρατολόγηση των θυλακίων του άντρου και προωθεί την έκφραση των υποδοχέων FSH στα κοκκιώδη κύτταρα (Balasch & Fábregues, 2003). Σε γυναίκες προχωρημένης ηλικίας, τα οφέλη αυτά είναι σημαντικά, γνωρίζοντας ότι η μειωμένη παραγωγή ενδογενών ανδρογόνων συνάδει με μειωμένη ευαισθησία ωοθηκών και απόκριση σε εξωγενή χορήγηση FSH (Alviggi, Conforti, Esteves, et al., 2018).

Αν και δεν υπάρχει διεθνής συμφωνία για την μέτρηση της LH και τον χρόνο χορήγησής της, έχει παρατηρηθεί πως η χορήγησή της σε πρωτόκολλο ελεγχόμενης διέγερσης βοηθάει στην διαχείριση γυναικών προχωρημένης ηλικίας που υποβάλλονται σε πρωτόκολλο διέγερσης GnRH ανταγωνιστών, δείχνοντας μικρότερες απαιτήσεις σε δόσεις rFSH και καλύτερα αποτελέσματα στον εκάστοτε κύκλο IVF χωρίς να σημειωθεί αύξηση στο κόστος (Vaiarelli, Cimadomo, Alviggi, et al., 2020).

Η εξατομίκευση ενός πρωτοκόλλου ελεγχόμενης διέγερσης έχει αλλάξει τα δεδομένα στην αντιμετώπιση των πτωχών απαντητριών (Conforti et al., 2019). Η επιλογή της χρήσης του πρωτοκόλλου DuoStim πρέπει να γίνεται με βάση τα αναμενόμενα οφέλη του. Είναι λογικό ένα νέο σχετικά πρωτόκολλο, όπως το DuoStim, να εμφανίζει ελλιπή βιβλιογραφία. Είναι

σημαντικό να διερευνηθούν τα οφέλη και οι αδυναμίες του DuoStim σε σύγκριση με το πρωτόκολλο διέγερσης ωοθυλακικής φάσης. Η ανάγκη για την κρυσυντήρηση όλων των ληφθέντων ωαρίων αποτελεί έναν σημαντικό περιορισμό (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018). Επιπλέον, περισσότερη έρευνα απαιτείται αναφορικά με την κλινική και βιολογική του ασφάλεια τόσο όσον αφορά τις γυναίκες στις οποίες εφαρμόζεται όσο και τα έμβρυα και τα παιδιά που γεννιούνται με τη χρήση της συγκεκριμένης μεθόδου. Είναι επιτακτική ανάγκη να σχεδιαστεί ένα γενικά αποδεκτό πρωτόκολλο που να καθορίζει τον χρόνο και την δοσολογία των φαρμακευτικών σκευασμάτων που χορηγούνται στο πλαίσιο της ωχρινικής διέγερσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Μέχρι σήμερα, εκατομμύρια γεννήσεις παγκοσμίως έχουν πραγματοποιηθεί με τη χρήση της IVF. Η ανάγκη για τη θεραπεία της υπογονιμότητας ωθεί την ολοένα αυξανόμενη έρευνα για την βελτιστοποίηση των πρωτοκόλλων και των ποσοστών επιτυχίας (Eskew & Jungheim, 2017). Παρά τα σαράντα χρόνια εφαρμογής της IVF, παραμένει επίκαιρη, λόγω της συνεχούς ανάπτυξης καινούριων τεχνικών, όπως η ωρίμανση ωαρίων *in vitro* (IVM) και η τεχνητή ωρίμανση ωαρίων (AOA) (Simopoulou et al., 2016) και μεταφορά ατράκτου (oocyte spindle transfer) για την αποτροπή μιτοχονδριακών ασθενειών (J. Zhang et al., 2017).

Πολλά πράγματα μας είναι άγνωστα ακόμα και στον ίδιο τον κύκλο της φυσιολογικής αναπαραγωγής, όπως ο τρόπος και οι μηχανισμοί που ενέχονται στην εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου στη μήτρα και οι διεργασίες που πραγματοποιούνται στη συνέχεια ή με ποιους τρόπους μπορούμε να ελέγξουμε και να αντιμετωπίσουμε ή να θεραπεύσουμε ιδιοπαθείς καταστάσεις όπως η ενδομητρίωση (Macer & Taylor, 2012). Επόμενο είναι λοιπόν, να ερχόμαστε συχνά αντιμέτωποι με νέα φαινόμενα. Ένα από αυτά αποτελεί το φαινόμενο της ανάπτυξης ωοθυλακίων κατά την ωχρινική φάση μετά από ωληψία (J. Zhang, 2015) όπως παρατηρήθηκε σε πτωχές απαντήτριες στην εξωσωματική γονιμοποίηση, το οποίο αποτελεί και αντικείμενο της παρούσας διατριβής.

Αν και ο ορισμός της πτωχής απόκρισης σε ελεγχόμενη διέγερση σε έναν κύκλο

εξωσωματικής δεν είναι ευρέως αποσαφηνισμένος, πτωχές απαντήτριες είναι γυναίκες στις οποίες απομονώθηκε ανεπαρκής αριθμός διεγερμένων ωοθυλακίων μέσω ελεγχόμενης ωοθηκικής διέγερσης με γοναδοτροπίνες (Pandian et al., 2010, p. 201). Ο όρος “πτωχή απαντήτρια” περιλαμβάνει πολλές υποομάδες, με βάση γνωστούς ή άγνωστους, μηχανισμούς πρόκλησης μειωμένης απάντησης, όπως η μείωση της διάρκειας του εμμηνορυσιακού κύκλου, η ετερόπλευρη ωοθηκεκτομή, οι χημειοθεραπείες, το χρόνιο κάπνισμα, κληρονομικό ιστορικό, ανωμαλίες του χρωμοσώματος X κ.λ.π. (Younis et al., 2015).

Για να χαρακτηριστεί μια γυναίκα ως “πτωχή απαντήτρια” πρέπει να πληρεί τα κριτήρια γνωστά ως “Κριτήρια Μπολόνια” (Bologna Criteria). Σύμφωνα με αυτά, μια γυναίκα πρέπει να παρουσιάζει τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

-Προχωρημένη ηλικία μητρότητας (άνω των 40 ετών) ή κάποιον άλλον παράγοντα κινδύνου για πτωχή απάντηση.

-Προηγούμενο περιστατικό πτωχής απάντησης (λιγότερα από 3 ωοκύτταρα με συμβατική διέγερση)

-Παθολογικό αποτέλεσμα σε τεστ αποθέματος ωοθηκών (AFC<5-7 ή AMH<0.5-1.1 ng/ml) (Ferraretti et al., 2011).

Επί του παρόντος, οι λύσεις που μπορούμε να προσφέρουμε στις πτωχές απαντήτριες είναι δύο (i) η ορμονική διέγερση στο πλαίσιο του controlled ovarian stimulation (COS) με χρήση γοναδοτροπίνων και (ii) η συλλογή και αποθήκευση εμβρύων (embryo banking) μετά από φυσικούς κύκλους. Στην δεύτερη περίπτωση πραγματοποιείται ένας κύκλος IVF και καταψύχονται όλα τα έμβρυα στη φάση του ζυγωτού, τα οποία στη συνέχεια ενδεχομένως να αναμειγνύονται με φρέσκα έμβρυα ενός δεύτερου κύκλου IVF (Orris et al., 2010).

Το φαινόμενο της ανάπτυξης ωοθυλακίων κατά την ωχρινική φάση μετά από ωοληψία σε πτωχές απαντήτριες στην εξωσωματική γονιμοποίηση, παρατηρήθηκε ως τυχαίο εύρημα κατά τον έλεγχο μετά την ωοληψία στην ωχρινική φάση όπου και παρατηρήθηκαν αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια, τα οποία μετά από διερεύνηση φάνηκε ότι έδιναν ώριμα ωάρια. Συγκεκριμένα, μετρώντας τη FSH και την οιστραδιόλη τη δεύτερη ή τρίτη μέρα μετά από ένα κύκλο, βρέθηκε σε ορισμένες γυναίκες ασυνήθιστα υψηλή E2, πάρα την ωοληψία που έχει προηγηθεί στο τέλος της παραγωγικής φάσης του ίδιου κύκλου. Μέσω υπερηχογραφήματος ανακαλύφθηκαν αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια τα οποία επιστρατεύθηκαν κατά την ωχρινική φάση, υπόθεση που επιβεβαιώθηκε με δεύτερο υπερηχογράφημα και συλλογή ωαρίων μέσω

ωληψίας με διακοπική παρακέντηση.

Τα εν λόγω ωάρια δείχνουν τις ίδιες αναπτυξιακές δυνατότητες σε σύγκριση με ωάρια που συλλέχθηκαν κατά την παραγωγική φάση, αντίστοιχα ποσοστά γονιμοποίησης και εγκυμοσύνης (J. Zhang, 2015). Το παράδοξο αυτό βιολογικά φαινόμενο δεν έχει διερευνηθεί σε βάθος ενώ μεγαλύτερες κλινικές μελέτες με μεγαλύτερο δείγμα ασθενών είναι απαραίτητες προκειμένου να προσεγγίσουμε το φαινόμενο και να σταθμίσουμε τα οφέλη του λεγόμενου “Δεύτερου ωοθυλακικού κύματος”/ “Διπλή διέγερση ωχρινικής φάσης” (“Double Follicular Wave”/“Double luteal stimulation”) με ειδικό ενδιαφέρον στην υποομάδα των πτωχών απαντητριών και των ασθενών με μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα (Diminished Ovarian Reserve-DOR).

Σύμφωνα με την επικρατέστερη θεωρία, ο εμμηνορυσιακός κύκλος στη γυναίκα παρουσιάζει ένα μόνο ωοθυλακικό κύμα. Παρ’ όλα αυτά, πρόσφατα δεδομένα αμφισβητούν αυτήν τη θεωρία με την παρουσία ενός δεύτερου ωοθυλακικού κύματος στον ίδιο κύκλο (A. R. Baerwald et al., 2003). Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε πρώτα σε οικόσιτα ζώα και σε άλογα. Στη συνέχεια, η ίδια παρατήρηση έγινε και στις γυναίκες (Evans, 2003).

Παρόλο που οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί έχουν προσφέρει πολύτιμη γνώση, η οποία έχει συμβάλει στην καλύτερη κατανόηση γύρω από αυτό το φαινόμενο, οι βασικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για την δημιουργία αυτού του δεύτερου κύματος δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί (Vaiarelli et al., 2017).

Το δεύτερο ωοθυλακικό κύμα (A. R. Baerwald et al., 2003; Evans, 2003) παρουσιάστηκε ως ένα ενθαρρυντικό μέσο για την βελτιστοποίηση της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε υπογόνιμες γυναίκες και κυρίως σε εκείνες που παρουσιάζονται με περιστατικά πτωχής απάντησης. Η πτωχή απάντηση στην ωοθηκική διέγερση σε γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση αποτελεί μια διαρκή πρόκληση στην αντιμετώπιση ασθενών με τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

Η συχνότητα των επεισοδίων πτωχής απόκρισης κυμαίνεται από 5 έως 35% στις υπογόνιμες γυναίκες (Esteves et al., 2018). Η πτωχή ωοθηκική απόκριση μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικά μειωμένο ρυθμό γεννήσεων (Devine et al., 2015), ενώ το 50% των ακυρωμένων κύκλων IVF οφείλονται σε πτωχή ωοθηκική απάντηση, σύμφωνα με την Society for Assisted Reproductive Technology (SART) (Society for Assisted Reproductive Technology & American

Society for Reproductive Medicine, 2007).

Η πτωχή ωθηκική απόκριση διαθέτει διάφορους ορισμούς και διαφορετικά κριτήρια συμπερίληψης ασθενών σε αυτήν την κατηγορία. Αυτό αντανακλά και την ετερογένεια των ασθενών που κατατάσσονται στις ομάδες αυτές (Ferraretti et al., 2011; Humaidan et al., 2016).

Η ετερογένεια των ασθενών, και το αυξημένο εύρος της συχνότητας εμφάνισης επεισοδίων πτωχής ωθηκικής απάντησης, έχει παρατηρηθεί και μπορεί να αποδοθεί στους διαφορετικούς ορισμούς που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της πάθησης αυτής. Τα κριτήρια Bologna ήταν η πρώτη εμπειριστατωμένη προσπάθεια για την διατύπωση ενός ορισμού της πτωχής ωθηκικής απάντησης (Ferraretti et al., 2011). Τα κριτήρια αυτά συνεχίζουν να χαίρουν διεθνούς αναγνώρισης.

Είναι σημαντικό να τονιστεί αυτό που αναφέρθηκε πιο πάνω, πως, ακόμα και με τα κριτήρια Bologna, οι γυναίκες που κατατάσσονται στην οικογένεια των πτωχών απαντητριών, παραμένουν ένας εκτενώς ετερογενής πληθυσμός. Η ευθύνη αυτού μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η πτωχή ωθηκική απάντηση έχει πολλούς πιθανούς αιτιολογικούς παράγοντες.

Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη, η διαφορετική έκφραση συγκεκριμένων αλληλουχιών micro-RNA ενοχοποιείται για την παθοφυσιολογία της πτωχής ωθηκικής απάντησης. Οι διάφορες υποκατηγορίες ασθενών που δημιουργούνται από την εκτίμηση αυτή υπόσχονται να ομαδοποιήσουν τον πληθυσμό ασθενών σε καθορισμένα προφίλ (Rapani et al., 2020). Μια επιτυχημένη θεραπεία για πτωχή απόκριση οφείλει να λάβει υπόψιν την προχωρημένη ηλικία της γυναίκας και την εκτίμηση του εκάστοτε ωθηκικού αποθέματος (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

Νέα πρωτόκολλα έχουν προταθεί σε μία προσπάθεια να καταπολεμηθεί το φαινόμενο της πτωχής ωθηκικής απάντησης. Πολλά υποσχόμενος φαίνεται ο συνδυασμός ενός συμβατικού πρωτοκόλλου διέγερσης στην ωοθυλακική φάση με μία δεύτερη διέγερση στην ωχρινική φάση (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018). Το πρωτόκολλο αυτό είναι γνωστό ως DuoStim και παρουσιάζει ενδιαφέρον καθώς στοχεύει να μεγιστοποιήσει τον αριθμό των ωαρίων που θα συλλεχθούν σε μικρότερο χρονικό διάστημα (F. M. Ubaldi et al., 2016).

Πολλές μελέτες διεξάγουν συγκρίσεις μεταξύ του δυναμικού ανάπτυξης ωαρίων που λήφθηκαν κατά την ωοθυλακική φάση και την ωχρινική φάση. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν πως δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ωρίμανση, στα ποσοστά

γονιμοποίησης, στην εμβρυική ανάπτυξη και στο ποσοστό γεννήσεων ζώντων νεογνών (Konstantinos et al., 2020; Sfakianoudis, Simopoulou, Maziotis, et al., 2019).

Παράλληλα με αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι η πρακτική της ωληψίας στην ωχρινική φάση έχει και άλλα οφέλη στην ασθενή. Τα υψηλά επίπεδα προγεστερόνης και οιστραδιόλης κατά την διάρκεια αυτής της τεχνικής έχουν προστατευτική δράση ενάντια στην δημιουργία κυστικού μορφώματος στην ωθήκη (Sfakianoudis, Simopoulou, Maziotis, et al., 2019).

Ακόμη, συγκρίνοντας κύκλους διπλής διέγερσης (DuoStim) και πρωτόκολλα συμβατικής διέγερσης, αποκαλύφθηκε αυξημένος αριθμός ώριμων ωοκυττάρων στην φάση MII και έμβρυα καλής ποιότητας μετά από ένα πρωτόκολλο διπλής διέγερσης (Sfakianoudis, Pantos, et al., 2020). Παρ' όλα αυτά, έχουν σημειωθεί ακυρωμένες προσπάθειες με την χρήση ωχρινικής διέγερσης σε αυξημένο βαθμό (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018). Η εξήγηση αυτού μπορεί να δοθεί από τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού στον οποίο αποδίδεται η τεχνική LuPOR, δηλαδή γυναίκες που εμφανίζουν πτωχή ωθηκική απάντηση ή προχωρημένη ηλικία. Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν είναι ασυνήθιστος ένας μεγάλος αριθμός ακυρωμένων κύκλων.

Ο στόχος πίσω από αυτήν τη μελέτη πηγάζει από το γεγονός ότι η νέα τεχνική LuPOR βρίσκεται υπό εξέταση παρά τα ενθαρρυντικά δεδομένα που έχουν διαμορφωθεί μέχρι και σήμερα. Στην εποχή της εξατομικευμένης ιατρικής και της ιατρικής ακριβείας, δεν είναι αρκετό να στηριζόμαστε σε γενικευμένες διαγνώσεις, όπως αυτή της πτωχής ωθηκικής απόκρισης, για να καθοριστεί η αντιμετώπιση των ομάδων που χαρακτηρίζονται ως πτωχές απαντήτριες.

Έχοντας υπόψιν το γεγονός ότι η παρούσα βιβλιογραφία αποτυγχάνει να φτάσει σε ένα καθοριστικό αποτέλεσμα για την λήψη αποφάσεων σε σχέση με την εφαρμογή του LuPOR, η παρούσα μελέτη στοχεύει να ερευνήσει και να αναγνωρίσει κοινά χαρακτηριστικά μεταξύ ασθενών τα οποία μπορούν να υποδείξουν την επιτυχημένη εφαρμογή της ωχρινικής διέγερσης. Είναι πολύ σημαντικό να αναπτυχθεί ένας αλγόριθμος με αυτήν την λειτουργία, καθότι θα συντελέσει καθοριστικά στην υλοποίηση πολλών στόχων της επιστημονικής κοινότητας.

Με βάση τις τρέχουσες ορολογίες, υπάρχει μεγάλη ετερογένεια στον πληθυσμό των πτωχών απαντητριών. Υπάρχει λοιπόν η ανάγκη ταξινόμησης των πτωχών απαντητριών σε ομάδες με καλύτερο και πιο σαφή διαχωρισμό. Με αυτόν τον τρόπο, θα μπορεί να

αντιμετωπιστεί η κάθε ασθενής εξατομικευμένα και να λάβει καλύτερα αποτελέσματα.

Μια σαφέστερη κατηγοριοποίηση θα βοηθήσει, επίσης, στην αναγνώριση των γυναικών στις οποίες η διέγερση ωχρινικής φάσης θα μπορέσει να αποδώσει το επιθυμητό αποτέλεσμα, δηλαδή την λήψη ωοκυττάρων. Έτσι, θα περιοριστεί ο αριθμός των ανώφελων προσπαθειών καθώς θα επιλέγεται η κατάλληλη θεραπεία.

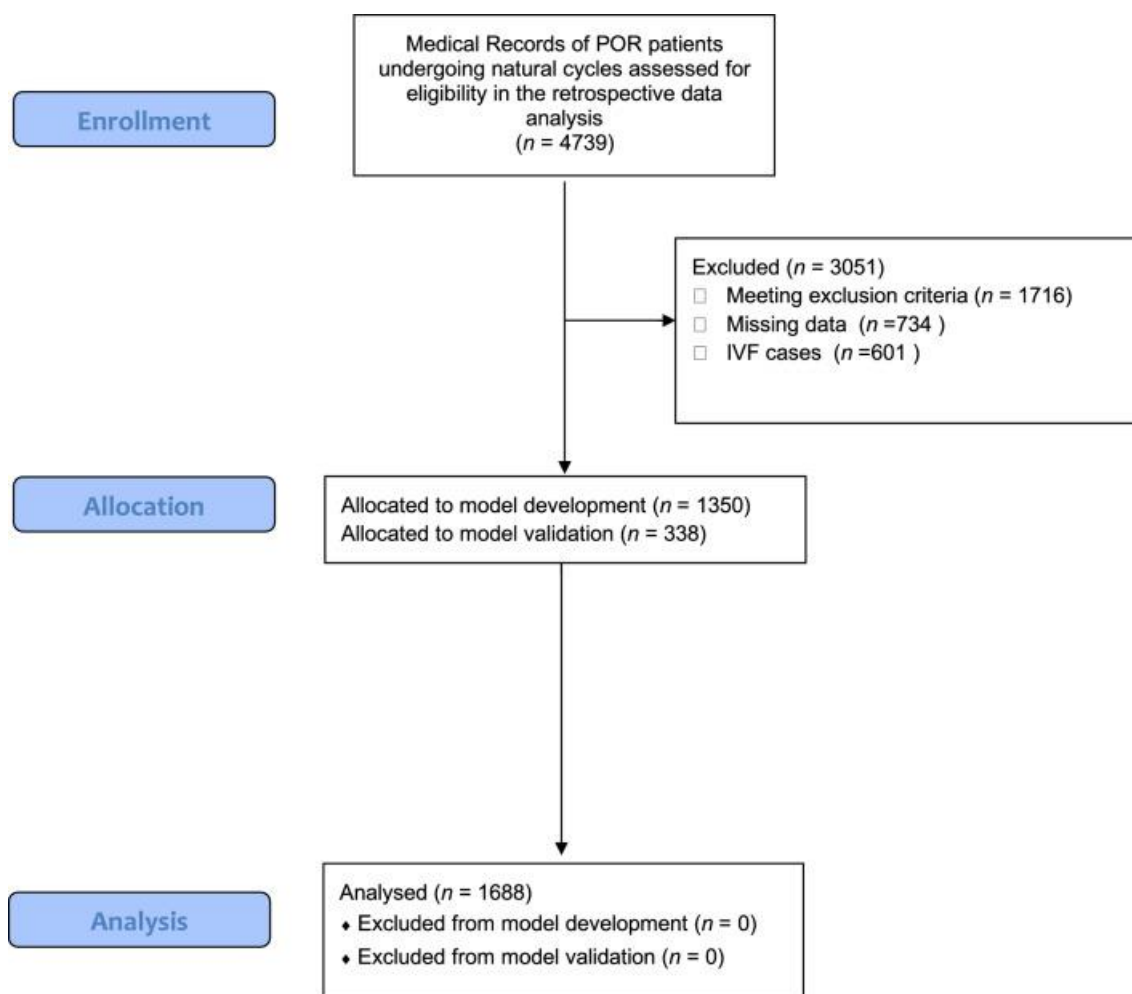
Παράλληλα με την βελτίωση των πιθανοτήτων επιτυχίας, ο σχεδιασμός ενός τέτοιου πρωτοκόλλου θα επιτρέψει την τελειοποίηση των παραμέτρων για κάθε κύκλο διέγερσης ώστε να εξασφαλιστεί η λήψη τουλάχιστον ενός ωαρίου, αλλά και η λήψη του μεγαλύτερου δυνατού αριθμού ωοκυττάρων στον μικρότερο δυνατό χρονικό διάστημα.

Επιτυχημένη θεωρείται η λήψη τουλάχιστον ενός ώριμου ωοκυττάρου φάσης MII. Σε κλινικό επίπεδο, ο στόχος αυτής της μελέτης είναι η δημιουργία ενός προγνωστικού μοντέλου που θα αναγνωρίζει την βέλτιστη ομάδα πληθυσμού πτωχών απαντητριών που θα ωφεληθούν από την LuPOR.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μία αναδρομική μελέτη παρατήρησης και περιλαμβάνει γυναίκες που υποβλήθηκαν σε φυσικό κύκλο IVF, από το 2012 έως το 2020. Για τη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης εξετάστηκαν 4739 ιατρικά αρχεία γυναικών εκ των οποίων 1688 περιστατικά πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού. Το διάγραμμα ροής για την διαχείριση των ασθενών που εντάχθηκαν στην μελέτη απεικονίζεται στην Εικόνα 1. Η παρούσα μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή δεοντολογίας της κλινικής Γένεσις Αθηνών και είναι σύμφωνη με τη διακήρυξη του Ελσίνκι (Ref. No: 129/26-03-2018).



Εικόνα 1: Τροποποιημένη έκδοση του διαγράμματος ροής CONSORT που παρέχει λεπτομερή περιγραφή της επιλογής των συμμετεχόντων, της κατανομής και της τελικής ανάλυσης.

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν γυναίκες με φυσιολογική ωορρηξία και σταθερό εμμηνορυσιακό κύκλο, ο οποίος κυμαινόταν από 24 έως 35 ημέρες, με διαφορά στη διάρκεια μεταξύ των κύκλων < 7 ημέρες. Επιπλέον, γυναίκες με πτωχή ωοθηκική απόκριση με βάση τα κριτήρια Βολογνα εντάχθηκαν στην μελέτη. Σύμφωνα με τα κριτήρια Βολογνα, προκειμένου να χαρακτηριστεί μία γυναίκα ως πτωχή απαντήτρια, θα πρέπει να πληρούνται δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια: (i) ηλικία της γυναίκας > 40 ετών, (ii) Τιμές AMH < 1,1 ng/ml ή AFC < 5-7 και (iii) ανάκτηση 3 ή λιγότερων ωαρίων σε προηγούμενο κύκλο με ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών (Ferraretti et al., 2011). Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν ζευγάρια που υποβλήθηκαν σε μικρογονιμοποίηση (ICSI) λόγω ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας και έπειτα από σπερμοδιάγραμμα με μη φυσιολογικές παραμέτρους. Αυτό επέτρεψε την ταυτοποίηση του σταδίου ωρίμανσης του ωαρίου μετά την ωοληψία. Όλες οι γυναίκες που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη υποβλήθηκαν τόσο σε ωοληψία ωοθυλακικής (FoPOR) όσο και σε ωοληψία ωχρινικής φάσης (LuPOR) στον ίδιο κύκλο. Μόνο ο πρώτος κύκλος από κάθε ζευγάρι έγινε δεκτός για αξιολόγηση.

Από την μελέτη αποκλείστηκαν γυναίκες με αμηνόρροια ή διαταραχές κύκλου ή άλλα εμμηνοπαυσιακά ή περιεμμηνοπαυσιακά συμπτώματα. Επίσης, γυναίκες με διάγνωση ενδομητρίωσης, σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα, διάγνωση καρκίνου ή ιστορικό προηγούμενης διάγνωσης καρκίνου, γενετικές ή ενδοκρινολογικές διαταραχές, BMI πάνω από 30 ή κάτω από 18.5, γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) και πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (POI), δεν συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη. Όλα τα ζευγάρια υποβλήθηκαν σε βασικό έλεγχο υπογονιμότητας.

7.1 Βασικός Έλεγχος Υπογονιμότητας

Ο βασικός έλεγχος υπογονιμότητας περιλαμβάνει την ανάλυση των παραμέτρων του σπέρματος μέσω της διεξαγωγής σπερμοδιαγράμματος, υστεροσαλπιγγογραφία ώστε να εκτιμηθεί η διαβατότητα των σαλπίνγων και αξιολόγηση της ωοθηκικής λειτουργίας με την

μέτρηση των δεικτών AFC, FSH, LH, οιστραδιόλη, AMH και προγεστερόνη κατά την διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου σε συνδυασμό με τακτικό υπερηχογραφικό έλεγχο. Οποιαδήποτε διαταραχή παρατηρήθηκε στην κοιλότητα της μήτρας ή στην λειτουργικότητα των ωαγωγών, όπως εκτιμήθηκαν κατά την διενέργεια της υστεροσαλπιγγογραφίας, οδήγησε στην εξαίρεση της ασθενούς από την μελέτη.

7.2 Πρωτόκολλο Φυσικού Κύκλου IVF

Το πρωτόκολλο φυσικού κύκλου IVF που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη έχει περιγραφεί από τον Σφακιανούδη και τους συνεργάτες του (Konstantinos et al., 2020). Στο πρώτο ραντεβού, καταγράφεται το βασικό ορμονικό προφίλ των ασθενών, το οποίο περιλαμβάνει την μέτρηση των FSH, LH, AMH και προλακτίνης, καθώς επίσης και του AFC, την 2^η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου. Η τιμή της προγεστερόνης υπολογίζεται την 21^η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου, ενώ η E₂ αξιολογείται την ημέρα χορήγησης της hCG, τόσο στην ωληψία της ωοθυλακικής φάσης (FoPOR), όσο και στην ωληψία της ωχρινικής φάσης (LuPOR).

Την 8^η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου, η ανάπτυξη των ωοθυλακίων αξιολογείται μέσω διακολπικού υπερηχογραφήματος, σε συνδυασμό με συχνές, ενδεχομένως καθημερινές, αξιολογήσεις των επιπέδων LH και E₂ στον ορό. Ο χρόνος της περαιτέρω παρακολούθησης προσδιορίζεται με βάση την ανάπτυξη των ωοθυλακίων και τα επίπεδα E₂. Μόλις το κυρίαρχο ωοθυλάκιο αποκτήσει διάμετρο 17 mm ή μεγαλύτερη, σε συνδυασμό με επίπεδα E₂ στον ορό > 100 pg/ml, χορηγείται ενδομυϊκή ένεση 6500 IU ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG) με σκοπό την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας. Μετά από 36 ώρες, διενεργείται αναρρόφηση των ωοθυλακίων για την ανάκτηση των ωαρίων υπό την καθοδήγηση διακολπικού υπερηχογραφήματος και υπό ήπια αναισθησία. Η αναρρόφηση πραγματοποιείται σε ωοθυλάκια μεγέθους τουλάχιστον 13mm. Ωοθυλάκια με μέγεθος μεταξύ 8 έως 12 mm καταγράφονται ως μικρά ωοθυλάκια και δεν αναρροφώνται.

Το ωοθυλακικό υγρό που συλλέγεται κατά την ωληψία τοποθετείται σε τρυβλίο Petri, προκειμένου να εντοπιστούν τα ωάρια. Τα ωάρια που ανακτώνται τοποθετούνται σε καλλιεργητικό μέσο γονιμοποίησης (ORIGIO Sequential Media) για 2 ώρες. Στη συνέχεια, 38 ώρες μετά την χορήγηση hCG, τα κοκκιώδη κύτταρα που περιβάλλουν τα ωάρια

απομακρύνονται ενζυματικά, με τη χρήση 80 IU/ml υαλουρονιδάσης (FertiPro) αλλά και μηχανικά με τη χρήση πιπέτας. Με την απογύμνωση των ωαρίων, καθίσταται δυνατή η παρατήρηση και η καταγραφή του σταδίου ωρίμανσής τους. Ένα ωάριο θεωρείται ώριμο όταν βρίσκεται στο στάδιο της Μετάφασης II (MII) κατά την δεύτερη μειωτική διαίρεση, ενώ ανώριμο όταν βρίσκεται στην Μετάφαση I (MI) ή στο στάδιο του βλαστικού κυστιδίου (Germinal Vesicle, GV). Μη φυσιολογικά χαρακτηρίζονται τα ωάρια με βάση τη μορφολογία τους δηλαδή το σχήμα, το μέγεθος, το κυτταρόπλασμα (ooplasm), το χώρο μεταξύ της διαφανούς ζώνης και της κυτταρικής μεμβράνης του ωαρίου (perivitelline space-PVS), τη διαυγή ζώνη (zona pellucida-ZP) ή τη μορφολογία του πολικού σωματίου (polar body-PB) των ωαρίων (Lazzaroni-Tealdi et al., 2015). Μετά την απογύμνωση, τα ώριμα ωάρια τοποθετούνται σε τρυβλίο με θρεπτικό καλλιεργητικό υλικό για 1 ώρα.

Τα ώριμα ωάρια γονιμοποιήθηκαν με ICSI 39 ώρες μετά τη χορήγηση hCG. Η διαδικασία ICSI πραγματοποιείται με τη χρήση ανάστροφου μικροσκοπίου κατάλληλα διαμορφωμένου που περιλαμβάνει μια πιπέτα συγκράτησης, που βοηθάει στην ακινητοποίηση των ωαρίων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας και μια πιπέτα έγχυσης, η οποία διεισδύει στο ωάριο και εναποθέτει το ακινητοποιημένο σπερματοζωάριο στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου (Merchant et al., 2011). Μετά τη διαδικασία ICSI, τα ωάρια καλλιεργούνται σε τρυβλία που περιέχουν θρεπτικό μέσο και φυλάσσονται σε επωαστήρας στους 37 °C, με 5% O₂, 6% CO₂, 89% N₂ και 95% υγρασία.

Η εκτίμηση της γονιμοποίησης πραγματοποιείται 16 με 18 ώρες μετά την ICSI. Τα γονιμοποιημένα ωάρια κατηγοριοποιούνται ως 1PN (με 1 προπυρήνα), 2PN (με 2 προπυρήνες) και 3PN (με 3 προπυρήνες), ενώ τα ωάρια που δεν έχουν γονιμοποιηθεί, αποσύρονται. Οι φυσιολογικά γονιμοποιημένοι ζυγώτες χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση δύο προπυρήνων και του δεύτερου πολικού σωματίου, ενώ οι υπόλοιποι κατηγοριοποιούνται ως μη φυσιολογικά γονιμοποιημένοι ή ως κύτταρα που έχουν υποστεί λύση. Η μορφολογία των εμβρύων 3^{ης} ημέρας αξιολογείται σύμφωνα με την Veck (Veck & Clark, 2001). Τα κριτήρια ταξινόμησης των εμβρύων σύμφωνα με τον Veck παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Σύστημα ταξινόμησης εμβρύων με βάση τον Veck.

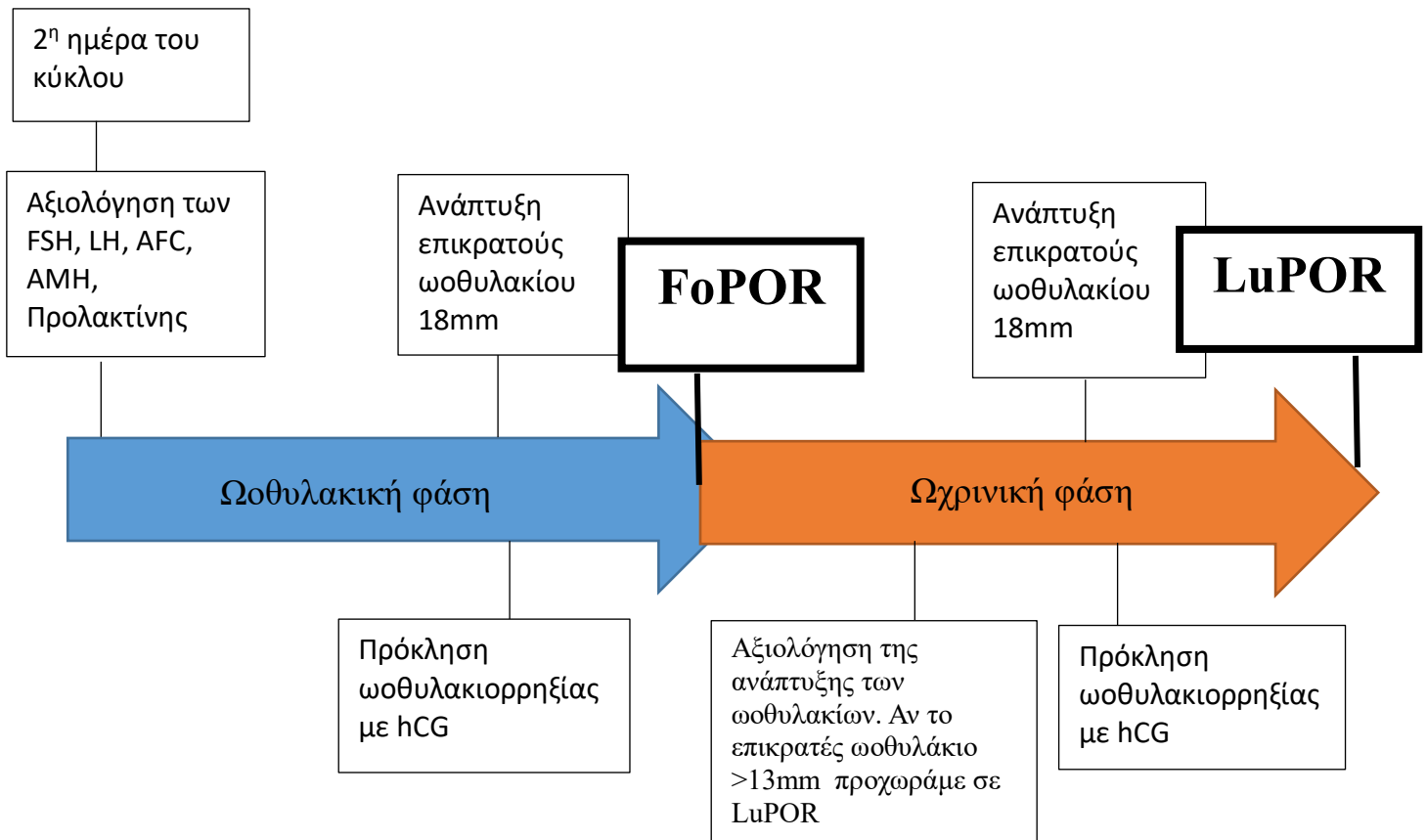
Βαθμός	Περιγραφή
Βαθμός 1	Ισομεγέθη βλαστομερίδια χωρίς θραυσματοποίηση
Βαθμός 2	Ισομεγέθη βλαστομερίδια με ελάχιστη θραυσματοποίηση

Βαθμός 3	Βλαστομερίδια άνισου μεγέθους χωρίς ή με ελάχιστη θραυσματοποίηση
Βαθμός 4	Βλαστομερίδια ίσου ή άνισου μεγέθους με σημαντικό βαθμό θραυσματοποίησης
Βαθμός 5	<4 βλαστομερίδια οποιουδήποτε μεγέθους και σημαντική ή ολική θραυσματοποίηση

Τα έμβρυα κορυφαίας, καλής και μέτριας ποιότητας στο στάδιο της αυλάκωσης, που βαθμολογούνται ως 1, 2 και 3, αντίστοιχα, υαλοποιούνται. Η υαλοποίηση εμβρύων πραγματοποιείται είτε στο στάδιο της αυλάκωσης είτε στο στάδιο της βλαστοκύστης, καθώς τα στοιχεία δείχνουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τα αναπαραγωγικά αποτελέσματα μεταξύ της κρυοσυντήρησης στο στάδιο της αυλάκωσης και της βλαστοκύστης (Alviggi, Conforti, Carbone, et al., 2018). Λόγω του χαμηλού αριθμού εμβρύων που προκύπτουν κατά την εφαρμογή πρωτοκόλλων φυσικών κύκλων, προτιμήθηκε η υαλοποίηση στο στάδιο της αυλάκωσης.

Εφτά ημέρες μετά την ωληψία ωοθυλακικής φάσης, πραγματοποιήθηκε μέσω κοιλιακού υπερηχογράφου η αξιολόγηση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων των ασθενών. Οι γυναίκες με ωοθυλάκια πάνω από 13 mm παρακολουθούνταν κάθε δύο μέρες με διακοιλικό υπερηχογράφημα. Κριτήρια για την απόφαση της προώθησης της ασθενούς σε ωληψία στην ωχρινική φάση είναι η ύπαρξη επικρατούς ωοθυλακίου πάνω από 17 mm σε διάμετρο και επίπεδα οιστραδιόλης στον ορό του αίματος πάνω από 100 pg/ml.

Για πρόκληση ωορρηξίας στην ωχρινική φάση χορηγούνται 6500IU hCG ενδομυϊκά. Έχει προταθεί ότι η φυσιολογική καταστολή του υποθαλάμου από την προγεστερόνη δεν επιτρέπει την αύξηση της LH που θα οδηγούσε σε ωορρηξία (Kuang et al., 2014). Συνεπώς, μπορεί να είναι επιτακτική η ανάγκη χορήγησης είτε hCG είτε αγωνιστή GnRH για την πρόκληση της ωοθυλακιωρρηξίας στην ωχρινική φάση. Ακολουθεί η διαδικασία ωληψίας, γονιμοποίησης και κρυοσυντήρησης των εμβρύων, όπως αναφέρθηκαν παραπάνω. Έτσι, στον ίδιο εμμηνορυσιακό κύκλο έχουμε έναν ακόμη κύκλο κρυοσυντήρησης εμβρύων. Οι γυναίκες που υποβλήθηκαν σε FoPOR αλλά δεν παρουσίασαν κυρίαρχο ωοθυλάκιο διαμέτρου ≥ 18 mm, σε συνδυασμό με επίπεδο E2 στον ορό > 100 pg/mL, δεν προχώρησαν σε LuPOR. Παρόλα αυτά, συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση. Η διαδικασία της διπλής ανάκτησης ωαρίων περιγράφεται στην Εικόνα 2. Όταν οι ασθενείς συγκέντρωσαν τουλάχιστον 3 κρυοσυντηρημένα έμβρυα, εκ των οποίων ένα έμβρυο άριστης ποιότητας, πραγματοποιήθηκε ένα κύκλος εμβρυομεταφοράς.



Εικόνα 2: Διαδικασία διπλής ανάκτησης ωαρίων

7.3 Μετρήσεις αποτελεσμάτων

Το κύριο αποτέλεσμα που αξιολογείται στην παρούσα μελέτη είναι η ανάκτηση τουλάχιστον ενός ώριμου ωαρίου MII, αποτέλεσμα που καθορίζει και την επιτυχία της LuPOR. Η παρούσα μελέτη επιχειρεί να ταυτοποιήσει τα χαρακτηριστικά των ασθενών που πρέπει να λάβουν υπόψιν οι κλινικοί ιατροί, κατά την λήψη αποφάσεων σχετικά με την χρήση της LuPOR ως πιθανή μέθοδο για την αντιμετώπιση των πτωχών απαντητριών. Για την επίτευξη αυτού του στόχου, συμπεριλήφθηκαν μόνο φυσικοί κύκλοι, για να αποφευχθούν συγχυτικοί παράγοντες όπως τα πρωτόκολλα ελεγχόμενης ωοθηκικής διέγερσης.

Ο λόγος που το κύριο αποτέλεσμα είναι η λήψη τουλάχιστον ενός ώριμου ωαρίου MII κατά την ωληψία στην ωχρινική φάση, και όχι δεδομένα που αφορούν στην πιθανότητα γονιμοποίησης, είναι για να αποφευχθεί ένας ακόμα συγχυτικός παράγοντας όπως η τεχνική ICSI, η οποία προσθέτει ένα ακόμα επίπεδο πολυπλοκότητας στην αξιολόγηση της ανάπτυξης των ωαρίων, καθώς ο ανδρικός παράγοντας υπογονιμότητας έχει συσχετιστεί με πτωχότερο αποτέλεσμα γονιμοποίησης (Pantos et al., 2021).

Ως δευτερογενή αποτελέσματα αξιολογήθηκαν ο αριθμός των ωαρίων που ανακτήθηκαν, τα ποσοστά γονιμοποίησης καθώς και τα ποσοστά αυλάκωσης. Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθεί ότι ο στόχος αυτού του μοντέλου ήταν να προβλέψει την ανάκτηση των ωαρίων MII μετά από LuPOR, χωρίς να προσδιορίζει τον αριθμό των ωαρίων. Η αποτυχία ανάκτησης ωαρίων αποτελεί συνήθως δευτερεύον αποτέλεσμα στη βιβλιογραφία. Ωστόσο, η αξία του είναι πρωταρχική στον τομέα της ART, καθώς είναι συνώνυμο της ακύρωσης του κύκλου.

7.4 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της στατιστικής γλώσσας προγραμματισμού R μέσω του RStudio (Boston, MA, USA). Το πακέτο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το “cutpointr” έκδοση 1.0.32. Η μελέτη στοχεύει να συσχετίσει τα χαρακτηριστικά των ασθενών με την πιθανότητα ανάκτησης ενός τουλάχιστον ωαρίου MII κατά την ωληψία ωχρινικής φάσης, εφόσον μόνο ωάρια MII μπορούν να χρησιμοποιηθούν για γονιμοποίηση. Έτσι, το πρωτογενές αποτέλεσμα μετατράπηκε σε μία διχότομη μεταβλητή όπου η μία τιμή αναφέρεται στην αποτελεσματικότητα της LuPOR να ανακτήσει ένα ωάριο MII, ενώ η άλλη τιμή αναφέρεται στην αποτυχία της LuPOR να οδηγήσει στην ανάκτηση ενός ωαρίου MII.

Για την επίτευξη αυτού του στόχου, υπολογίστηκε η καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (receiver operating characteristics, ROCs) και χρησιμοποιήθηκε το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη ROC (area under the curve, AUC) για τον καθορισμό της προγνωστικής αξίας κάθε χαρακτηριστικού. Το AUC μπορεί να κυμαίνεται από 0.5 έως 1, με το 0.5 να αντιπροσωπεύει την απουσία προγνωστικής αξίας, καθώς το αποτέλεσμα θεωρείται τυχαίο και το 1 αντιπροσωπεύει την απόλυτη προγνωστική ικανότητα. Ο δείκτης Youden (Youden’s index) χρησιμοποιήθηκε για να καθοριστεί η βέλτιστη κατωφλική τιμή (threshold

value). Έτσι, το AUC της καμπύλης ROC υπολογίστηκε με την χρήση του ποσοστού των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων (ευαισθησία, sensitivity) έναντι του ποσοστού ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (1 - ειδικότητα, 1-specificity) σε όλες τις πιθανές οριακές τιμές.

Οι ασθενείς που δεν είχαν ωάρια διαμέτρου >17mm δεν υποβλήθηκαν σε ωληψία ωχρινικής φάσης. Παρ' όλα αυτά, τα αποτελέσματά τους καταγράφηκαν και τα αντίστοιχα δεδομένα συμπεριλήφθηκαν στο προγνωστικό μοντέλο αντιπροσωπεύοντας την αποτυχία λήψης ωαρίου. Τα δεδομένα των ασθενών κατηγοριοποιήθηκαν με βάση την ηλικία τους σε τεταρτημόρια. Ένα τυχαίο 20% από κάθε τεταρτημόριο χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση (validation) του προγνωστικού μοντέλου, ενώ το υπόλοιπο 80% χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη του μοντέλου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η λήψη τουλάχιστον ενός ωαρίου MII κατά την ωληψία στην ωχρινική φάση περιγράφεται στην παρούσα μελέτη ως επιτυχημένη πρακτική της LuPOR. Παράμετροι, όπως η ηλικία της μητέρας, οι προηγούμενοι αποτυχημένοι κύκλοι IVF, ο BMI, η FSH, η LH, ο λόγος FSH/LH, η προλακτίνη, η προγεστερόνη, η AMH, ο AFC, τα επίπεδα E₂ όπως καταγράφηκαν τις ημέρες πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας τόσο κατά την ωοθυλακική όσο και κατά την ωχρινική φάση και ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων διαμέτρου μεταξύ 12 και 17 mm, αξιολογήθηκαν για την προγνωστική τους αξία για την επιτυχημένη εφαρμογή της πρακτικής LuPOR. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Περιγραφική στατιστική των γενικών χαρακτηριστικών των γυναικών που συμμετείχαν στην μελέτη.

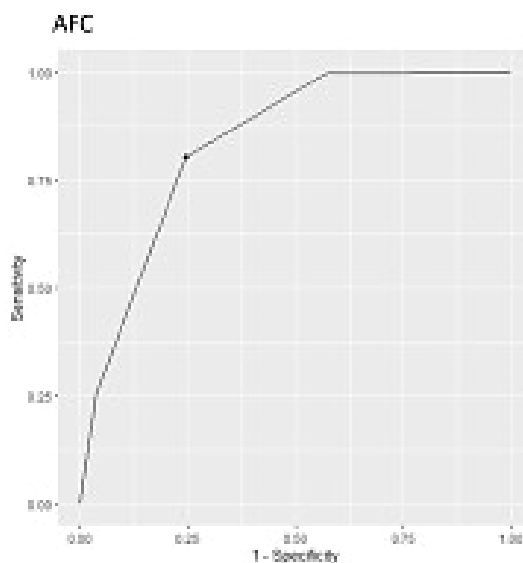
	Mean ± SD
Ηλικία	40.70 ± 1.69

Αποτυχημένοι κύκλοι IVF με διέγερση ωοθηκών	4.36 ± 1.35
BMI	23.76 ± 4.82
FSH	11.61 ± 6.15
LH	9.43 ± 5.76
AMH	0.89 ± 0.43
Προλακτίνη	21.78 ± 5.43
Ε₂ την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας FoPOR	260.16 ± 50.01
Προγεστερόνη	14.35 ± 3.28
AFC	4.78 ± 0.90
FoPOR αριθμός ωαρίων που ανακτήθηκαν	1.03 ± 0.55
FoPOR αριθμός MII ωαρίων που ανακτήθηκαν	0.83 ± 0.45
Αριθμός μικρών ωοθυλακίων	2.71 ± 0.89
Ε₂ την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας LuPOR	243.37 ± 49.41
LuPOR αριθμός ωαρίων που ανακτήθηκαν	1.01 ± 0.40
LuPOR αριθμός MII ωαρίων που ανακτήθηκαν	0.77 ± 0.42

Προβλεπτική ικανότητα παραμέτρων

AFC

Όσον αφορά τις παραμέτρους ηλικία, αριθμός προηγούμενων αποτυχημένων προσπαθειών IVF, BMI, FSH, LH, AMH, προλακτίνη και προγεστερόνη, το AUC ήταν κάτω από 0.6 που υποδεικνύει ότι δεν μπορούν να προβλέψουν την έκβαση του LuPOR. Ο αριθμός AFC την 2^η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου, βρέθηκε να έχει προγνωστική αξία για έναν αποτελεσματικό κύκλο LuPOR με AUC 0.86. Η ευαισθησία ήταν 0.8 και η ειδικότητα 0.75, ενώ η ακρίβεια υπολογίστηκε 0.79. Η βέλτιστη κατωφλική τιμή ήταν 4.47. Αυτό σημαίνει ότι από τους ασθενείς με επιτυχημένη LuPOR το 80% με AFC > 4.47 ανέκτησαν τουλάχιστον ένα ώριμο ωάριο MII κατά το LuPOR. Η προβλεπτική ικανότητα του AFC παρουσιάζεται στον Πίνακα 3 και η καμπύλη ROC στην Εικόνα 3.



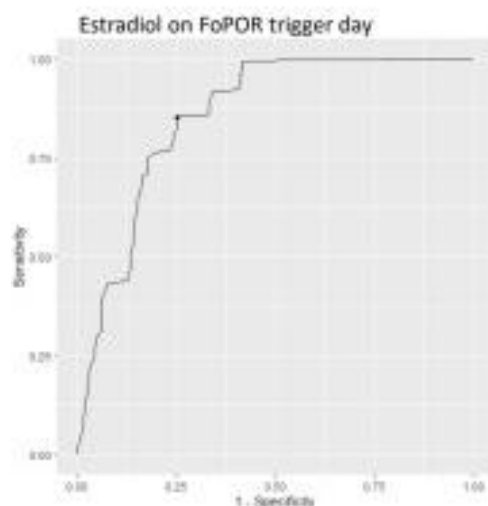
Εικόνα 3: Καμπύλη ROC για την αξία του AFC ως προβλεπτικός δείκτης για την έκβαση των LuPOR.

Πίνακας 3: Προβλεπτική ικανότητα των παραμέτρων που μελετώνται και του μοντέλου που αναπτύχθηκε.

	Ευαισθησία	Ειδικότητα	Ακρίβεια
AFC	0.8	0.75	0.79
E₂ την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας FoPOR	0.75	0.86	0.82
Αριθμός μικρών ωοθυλακίων	0.75	0.76	0.75
E₂ την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας LuPOR	0.85	0.95	0.92
Μοντέλο	0.73	0.94	0.89

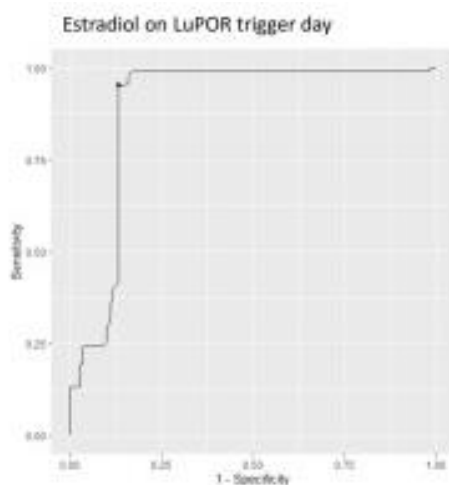
Οιστραδιόλη

Τα επίπεδα E₂ την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας κατά την διάρκεια ωοηψίας στην ωοθυλακική φάση, είχαν AUC 0.86. Η ειδικότητα ήταν 0.75, η ευαισθησία 0.86 και η ακρίβεια 0.82. Η βέλτιστη κατωφλική τιμή τέθηκε στα 232.66 pg/ml. Η προβλεπτική ικανότητα της E₂ παρουσιάζεται στον Πίνακα 3 και η καμπύλη ROC στην Εικόνα 4.



Εικόνα 4: Καμπύλη ROC για την αξία των επιπέδων E_2 την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας στο FoPOR ως προβλεπτικός δείκτης για την έκβαση των LuPOR.

Η E_2 που μετρήθηκε την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας κατά την διάρκεια ωοληψίας στην ωχρινική φάση, παρουσίασε AUC 0.89, ειδικότητα 0.85, ευαισθησία 0.95 και ακρίβεια 0.92. Η βέλτιστη κατωφλική τιμή τέθηκε στα 200.89 pg/ml. Η προβλεπτική ικανότητα της E_2 παρουσιάζεται στον Πίνακα 3 και η καμπύλη ROC στην Εικόνα 5. Φαίνεται ότι τα επίπεδα E_2 μπορούν να προβλέψουν μια επιτυχημένη LuPOR, δηλαδή την ανάκτηση τουλάχιστον ενός ώριμου ωαρίου MII κατά την ωοληψία στην ωχρινική φάση.

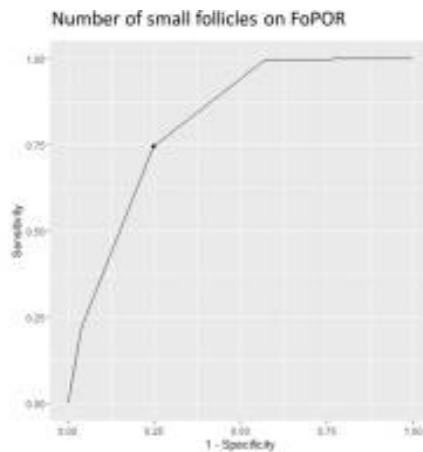


Εικόνα 5: Καμπύλη ROC για την αξία των επιπέδων E_2 την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας

στο LuPOR ως προβλεπτικός δείκτης για την έκβαση των LuPOR.

Αριθμός μικρών ωοθυλακίων

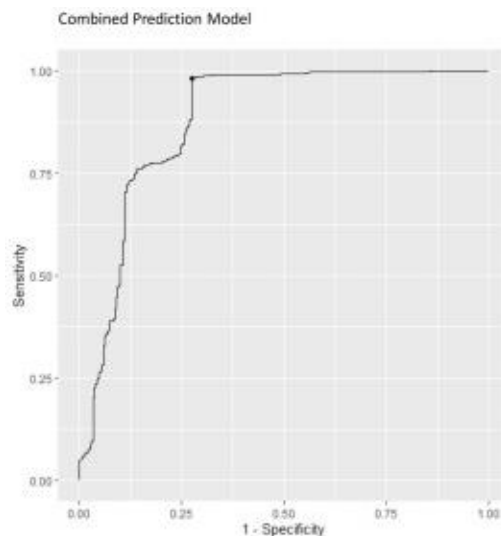
Ο αριθμό των μικρών ωοθυλακίων κατά την διάρκεια της ωοληψίας στην ωοθυλακική φάση βρέθηκε να είναι προγνωστικός παράγοντας για την ανάκτηση τουλάχιστον ενός ωαρίου MII στην ωοληψία ωχρινικής φάσης, με AUC 0.82. Η ειδικότητα ήταν 0.75, η ευαισθησία 0.76 και η ακρίβεια 0.75. Η βέλτιστη κατωφλική τιμή τέθηκε στο 2.94. Η προβλεπτική ικανότητα του αριθμού μικρών ωοθυλακίων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3 και η καμπύλη ROC στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6: Καμπύλη ROC για την αξία του αριθμού μικρών ωοθυλακίων στην ωοθυλακική φάση ως προβλεπτικός δείκτης για την έκβαση των LuPOR.

Προβλεπτικό μοντέλο

Συνδυάζοντας τα παραπάνω χαρακτηριστικά που εμφάνισαν προγνωστική αξία στην επιτυχή έκβαση ενός κύκλου LuPOR, σε ένα προγνωστικό μοντέλο, βρέθηκε AUC 0.88, η ειδικότητα 0.73, η ευαισθησία 0.94, η ακρίβεια 0.89. Η θετική προγνωστική αξία (positive predictive value, PPV) του μοντέλου ήταν 93.5% και η αρνητική προγνωστική αξία (negative predictive value, NPV) ήταν 46.8%. Η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου παρουσιάζεται στον Πίνακα 3 και η καμπύλη ROC στην Εικόνα 7.



Εικόνα 7: Καμπύλη ROC για την ικανότητα του συνδυαστικού μοντέλου να προβλέψει την έκβαση των LuPOR.

Σε μια προσπάθεια να παρέχεται πιο έγκαιρη πρόβλεψη, το μοντέλο αξιολογήθηκε για το κατά πόσον θα μπορούσε να παρέχει ακριβείς προβλέψεις νωρίτερα στην διάρκεια του κύκλου. Για το σκοπό αυτό αφαιρέθηκε από το μοντέλο η παράμετρος των επιπέδων E₂ που μετρήθηκε την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας κατά την διάρκεια ωοληψίας στην ωχρινική φάση. Το νέο μοντέλο παρουσίασε ελαφρώς χαμηλότερο AUC στο 0.85, ειδικότητα στο 0.75, ευαισθησία στο 0.87 και ακρίβεια στο 0.84. Η θετική προγνωστική αξία ήταν 84,4%, ενώ η αρνητική προγνωστική αξία ήταν 51,5%.

Ακύρωση κύκλων

Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην ακύρωση κύκλων μεταξύ των κύκλων ωοληψίας στην ωοθυλακική και στην ωχρινική φάση (309 vs. 487; RR 1.31; 95% CI 1.23–1.41; $p < 0.001$). Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι οι κύκλοι στους οποίους πραγματοποιείται ωοληψία στην ωχρινική φάση, έχουν 31% αυξημένη πιθανότητα να ακυρωθούν σε σύγκριση με κύκλους όπου η ωοληψία πραγματοποιείται μόνο στην ωοθυλακική φάση. Αναλύοντας τις αιτίες ακύρωσης, βρέθηκε ότι η πρόωρη ωοθυλακιορρηξία ήταν υπεύθυνη για 110 ακυρώσεις κατά τη διάρκεια του FoPOR και για 27 ακυρώσεις κατά τη διάρκεια του LuPOR. Κατά τη διάρκεια του FoPOR, 126 κύκλοι ακυρώθηκαν λόγω αποτυχίας ανάκτησης τουλάχιστον ενός

ωαρίου, ενώ 73 κύκλοι ακυρώθηκαν λόγω ανάκτησης μόνο ωαρίων GV ή MI. Κατά τη διάρκεια του LuPOR, 344 κύκλοι ακυρώθηκαν λόγω αποτυχίας ανάκτησης ωαρίου, ενώ 116 κύκλοι ακυρώθηκαν λόγω ανάκτησης μόνο ωαρίων GV ή MI.

Εργαστηριακά αποτελέσματα

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά γονιμοποίησης μεταξύ ωαρίων που προέρχονται από ωοληψία στην ωοθυλακική φάση σε σύγκριση με ωάρια που προέρχονται από ωοληψία στην ωχρινική φάση (0.74 ± 0.49 vs 0.68 ± 0.48). Ομοίως, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ποιότητα των εμβρύων την ημέρα 3 μεταξύ των εμβρύων που προέρχονταν από ωάρια FoPOR ή LuPOR. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό σχηματισμού βλαστοκύστης μεταξύ των ωαρίων που προέρχονταν από FoPOR ή LuPOR (0.49 ± 0.50 vs 0.45 ± 0.50). Τα δεδομένα που αφορούν στην ανάπτυξη των εμβρύων μεταξύ FoPOR και LuPOR παρουσιάζεται στον Πίνακα 5. Καμία από τις προαναφερθείσες παραμέτρους δεν κατάφερε να προβλέψει το ποσοστό γονιμοποίησης ή αυλάκωσης.

Πίνακας 5: Σύγκριση των means \pm sd των εργαστηριακών αποτελεσμάτων που αφορούν στην εμβρυική ανάπτυξη, καθώς και στην ταξινόμηση των εμβρύων 3^{ης} ημέρας μετά από FoPOR και LuPOR.

	FoPOR (n = 1688)	LuPOR (n = 1688)	p value
Ωάρια που ανακτήθηκαν	1.03 ± 0.56	1.01 ± 0.40	0.78
Ωάρια φάσης MII	0.83 ± 0.45	0.77 ± 0.41	0.45
Αριθμός κύκλων που ακυρώθηκαν	309 (18.31%)	487 (28.85%)	< 0.001
Πρώιμη ωοθυλακιορρηξία	110 (6.51%)	27 (1.60%)	< 0.001
Αριθμός κύκλων που δεν ανακτήθηκαν ωάρια	126 (7.4%)	344 (20.38%)	< 0.001
Ζυγώτες 2PN	0.64 ± 0.48	0.58 ± 0.49	0.37
Ποσοστά γονιμοποίησης (%)	$74\% \pm 49\%$	$68\% \pm 48\%$	0.41
Έμβρυα στο στάδιο της αυλάκωσης	0.59 ± 0.49	0.54 ± 0.50	0.38
Κορυφαίας ποιότητας έμβρυα	205 (20.69%)	187 (20.37%)	0.95
Καλής ποιότητας έμβρυα	352 (35.51%)	344 (37.47%)	
Μέτριας ποιότητας έμβρυα	289 (29.16%)	251 (27.31%)	
Πτωχής ποιότητας έμβρυα	145 (14.63%)	136 (14.80%)	

Αριθμός εμβρύων που κρυοσυντηρήθηκαν	0.50 ± 0.47	0.46 ± 0.49	0.63
Αριθμός βλαστοκύστεων	0.49 ± 0.50	0.45 ± 0.50	0.69

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

9.1 Εφαρμογή του πρωτοκόλλου DuoStim

Η εφαρμογή του LuPOR κερδίζει συνεχώς έδαφος στον τομέα της ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Έχουν δημοσιευθεί δεδομένα που υποστηρίζουν αυτή την πρακτική, αν και υπάρχουν ακόμη αναπάντητα ερωτήματα και οι επαγγελματίες μπορεί να βρεθούν σε αδιέξοδο όταν εξετάζουν την εφαρμογή της μεθόδου (Labarta, 2020). Το LuPOR αποτελεί μία από τις πολυάριθμες μεθόδους που μπορούν να χαρακτηριστούν ως "πρόσθετη θεραπεία". Αυτές οι πρόσθετες θεραπείες θα πρέπει να αξιολογούνται διεξοδικά πριν συμπεριληφθούν στην κλινική πρακτική (van de Wiel et al., 2020). Το σύστημα βαθμονόμησης του HFEA αποτελεί ένα βήμα προς αυτή την κατεύθυνση (*Fertility Treatment 2019: Trends and Figures / HFEA*, n.d.), ωστόσο ο κατάλογος περιλαμβάνει μόνο έναν περιορισμένο αριθμό νέων τεχνικών. Το LuPOR και το DuoStim δεν έχουν λάβει ακόμη αξιολόγηση στο σύστημα της HFEA, ωστόσο η διπλή διέγερση για πτωχές απαντήτριες έχει χαρακτηριστεί "μόνο για έρευνα" στις κατευθυντήριες οδηγίες της ESHRE του 2019 (The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation et al., 2020).

Λαμβάνοντας υπόψιν τα δεδομένα που προέρχονται από την παρούσα μελέτη, φαίνεται ότι η LuPOR έχει εξίσου καλές επιδόσεις με την FoPOR όσον αφορά τα εργαστηριακά αποτελέσματα. Χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο DuoStim, καταγράφεται ένας μεγαλύτερος αριθμός ληφθέντων ωοκυττάρων, μεγαλύτερος αριθμός ωοκυττάρων στην MII φάση και μεγαλύτερος αριθμός διαθέσιμων εμβρύων καλής ποιότητας σε σύγκριση με τα συμβατικά πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης (Sfakianoudis, Pantos, et al., 2020; Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018). Επιπλέον, με τη χρήση του πρωτοκόλλου DuoStim, αναμένεται υψηλότερο ποσοστό συνολικού αριθμού γεννήσεων ζώντων νεογνών και σημαντικά

χαμηλότερος χρόνος μέχρι τη εγκυμοσύνη (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι δημοσιευμένες μελέτες παρουσιάζουν περιορισμούς και θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή. Ο σημαντικότερος περιορισμός όσον αφορά το DuoStim είναι η έλλειψη τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών που να επιβεβαιώνουν τα οφέλη του. Μόνο η διεξαγωγή τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών (RCT) μπορεί να υποστηρίξει τη χρήση μιας νέας θεραπείας και να επιτρέψει τη μετάβασή της από την πειραματική διαδικασία στην κλινική πρακτική ρουτίνας. Επιπλέον, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, τα πρωτόκολλα DuoStim εφαρμόζονται με σκοπό την αύξηση των διαθέσιμων εμβρύων μέσω της διπλής διέγερσης ωθηκών μέσα σε έναν εμμηνορυσιακό κύκλο, προσθέτοντας έτσι ένα άλλο επίπεδο πολυπλοκότητας στην αξιολόγησή της. Ωστόσο, όλες οι μέχρι τώρα μελέτες περιλαμβάνουν μόνο μία διέγερση στην ομάδα ελέγχου, επομένως η τεχνική LuPOR δεν μπορεί να αξιολογηθεί ως στρατηγική αύξησης του αριθμού διαθέσιμων εμβρύων. Η ποικιλομορφία που υφίσταται μεταξύ των δύο επιλογών διαχείρισης καθιστά την αντίστοιχη σύγκριση δύσκολη. Αυτού του είδους η σύγκριση θα πρέπει να πραγματοποιείται πριν από την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την αποτελεσματικότητα του DuoStim (Labarta, 2020; Vaiarelli, Cimadomo, Conforti, et al., 2020). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση, που βασίστηκε σε μελέτες κούρτης, ανέφερε σημαντικά υψηλή ετερογένεια στα αποτελέσματα, παρά την προσπάθεια των συγγραφέων να πραγματοποιήσουν ανάλυση υποομάδων, ομογενοποιώντας έτσι τον πληθυσμό (Sfakianoudis, Pantos, et al., 2020). Αυτό το επίπεδο ετερογένειας μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι ο πληθυσμός POR είναι εξαιρετικά ετερογενής και ενδεχομένως το DuoStim και το LuPOR να μην αποτελούν τη βέλτιστη στρατηγική ούτε να ωφελούν καθολικά όλους τους ασθενείς με πτωχή ωθηκική απόκριση.

Ένα πρωτόκολλο διπλής διέγερσης για ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με πτωχή ωθηκική απάντηση προτάθηκε για πρώτη φορά το 2014 και ονομάστηκε πρωτόκολλο «Shanghai» (Kuang et al., 2014). Η κύρια διαφορά αυτού του πρωτοκόλλου από άλλα πρωτόκολλα όπως αυτό των Vaiarelli και συν. (Vaiarelli, Cimadomo, Conforti, et al., 2020), είναι οι χαμηλότερες δόσεις γοναδοτροπινών που χορηγήθηκαν. Μάλιστα, στο πρωτόκολλο Shanghai παρατηρείται διέγερση ωθυλακικής φάσης με ελάχιστες δόσεις και μετέπειτα διέγερση ωχρινικής φάσης με μέτριες δόσεις γοναδοτροπινών (225 IU από hMG/μέρα) σε σύγκριση με το ιταλικό πρωτόκολλο που αποτελείται από ημερήσιες δόσεις 300 rFSH και 150 rLH σε κάθε διέγερση. Ωστόσο, δεν είναι ξεκάθαρο ποιο από τα δύο πρωτόκολλα μπορεί να είναι καλύτερο για την αντιμετώπιση της πτωχής ωθηκικής απάντησης, καθότι φαίνεται πως

η ωοθηκική διέγερση με τη χρήση ελάχιστης δόσης γοναδοτροπινών δεν υστερεί έναντι ενός συμβατικού πρωτοκόλλου ελεγχόμενης διέγερσης στον πληθυσμούς ασθενών που αναμένεται να αποδώσουν μικρό αριθμό ωοκυττάρων (Labarta, 2020; Labarta et al., 2018). Για αυτό το λόγο πρέπει να διεξαχθούν τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες για να πραγματοποιηθούν συγκρίσεις ανάμεσα στις διαφορετικές διαθέσιμες δοσολογίες σε ένα πρωτόκολλο DuoStim (Labarta, 2020).

Αν και στην παρούσα φάση το πρωτόκολλο DuoStim φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη τακτική, υπάρχουν πολλά ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν πριν γίνει η εκτίμηση για την εφαρμογή σε ασθενείς με πτωχή απάντηση. Πρώτον, απαιτούνται αναλύσεις κόστους-οφέλους. Δεύτερον, αυτή η στρατηγική και τα αποτελέσματά της πρέπει να επικυρωθούν από άλλες ερευνητικές ομάδες. Τρίτον, πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι μετά την χορήγηση GnRH (gonadotropin-releasing hormone) η εμμηνορρυσία εμφανίζεται περίπου πέντε μέρες αργότερα. Ίσως είναι απαραίτητο να τροποποιηθεί ο ορισμός της διέγερσης ωχρινικής φάσης. Τέλος, οι τυχαιοποιημένες μελέτες οφείλουν να αναλύσουν εάν τα αποτελέσματα που παρατηρούνται με την εφαρμογή του πρωτοκόλλου DuoStim σε αυτόν τον ετερογενή πληθυσμό μπορεί να είναι τα ίδια με τα αποτελέσματα μετά από δύο συνεχόμενους κύκλους ελεγχόμενων διεγέρσεων (Labarta, 2020).

Η θεωρία των ωοθυλακικών κυμάτων υποδηλώνει ότι μετά από κάθε ωορρηξία μπορεί να επιστρατευτεί ένα δεύτερο κύμα ωοθυλακίων, λόγω της αύξησης της FSH (A. Baerwald & Pierson, 2020). Μετά την αύξηση της FSH στα μέσα του κύκλου, επιστρατεύεται το πρώτο κύμα ωοθυλακιορρηξίας ωχρινικής φάσης. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια της μέσης ωχρινικής φάσης, το ωχρό σωματίο εκκρίνει προγεστερόνη που καταστέλλει την έκκριση των γοναδοτροπινών της υπόφυσης και έτσι αποτρέπει την επιλογή κυρίαρχου ωοθυλακίου σε αυτό το κύμα (A. R. Baerwald et al., 2003). Όπως αναφέρθηκε πρόσφατα από τον Baerwald και τους συνεργάτες του, σύμφωνα με τη θεωρία του ωοθυλακικού κύματος, τα ωοθυλάκια μπορεί να αυξάνονται σε διάμετρο μετά το μείζον ωοθυλακικό κύμα, παρόλο που μπορεί να μην οδηγήσουν σε δεύτερη ωοθυλακιορρηξία (A. Baerwald & Pierson, 2020). Στην πλειονότητα των γυναικών, υπάρχει μόνο ένα μείζον κύμα κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου (A. R. Baerwald et al., 2003). Προκειμένου να παρακαμφθεί η φυσιολογία και να οδηγηθούμε σε ωορρηξία, στις περιπτώσεις που περιγράφονται στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε μια δεύτερη πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας, η οποία επέτρεψε την ωρίμανση και την ανάκτηση ωαρίων. Μπορεί να φαίνεται ότι σε έναν φυσικό

κύκλο χωρίς πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας με hCG, η δεύτερη ωορρηξία δεν θα ήταν δυνατή. Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι οι γυναίκες στην περιεμμηνόπαυση, οι οποίες συνήθως παρουσιάζονται ως POR σύμφωνα με τα Bologna κριτήρια, μπορεί να αποτελούν εξαίρεση από τα προαναφερθέντα, καθώς έχει παρατηρηθεί δεύτερη ωορρηξία κατά την ίδια εμμηνορρυσιακή περίοδο, χωρίς να χρησιμοποιηθεί κάποιο πρωτόκολλο πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας (Vanden Brink et al., 2015). Είναι πιθανό να προκαλείται διαφορετική αντίδραση στην φυσιολογία σε εμμηνορρυσιακούς κύκλους που περιλαμβάνουν δύο ωοθυλακικά κύματα αντί για ένα. Ωστόσο, αυτό χρήζει περαιτέρω έρευνας με τη διεξαγωγή μελετών που θα εστιάζουν στην διερεύνηση της φυσιολογίας του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος (A. Baerwald & Pierson, 2020). Μελλοντικές μελέτες που θα αναφέρουν το μεταγραφικό προφίλ αυτών των γυναικών και όχι τα κλινικά αποτελέσματα μπορεί να ρίξουν περισσότερο φως σε αυτό το φαινόμενο και να μας δώσουν απαντήσεις σχετικά με τη θεωρία των πολλαπλών ωοθυλακικών κυμάτων.

Η αρχική εφαρμογή της ωοληψίας κατά την ωχρινική φάση αφορούσε την διατήρηση γονιμότητας σε ασθενείς που έπρεπε να υποβληθούν άμεσα σε θεραπεία, η οποία απειλούσε το ωοθηκικό απόθεμα της ασθενούς, συνεπώς η μέθοδος είχε την ετικέτα του «κατ' επείγον» (Bedoschi et al., 2010; von Wolff et al., 2009). Παρ' όλα αυτά, από την αρχή της εφαρμογής της στις αρχές της δεκαετίας του 2010 (Benton et al., 2010; B. Xu & Li, 2013), η εφαρμογή της φαίνεται να απευθύνεται σε ασθενείς με μειωμένη ωοθηκική εφεδρεία και πτωχή ωοθηκική απόκριση.

Το πρωτόκολλο DuoStim παρέχει την ευκαιρία να ληφθούν περισσότερα ωοκύτταρα σε έναν εμμηνορρυσιακό κύκλο, αφού οι ωοθήκες διεγείρονται δύο φορές, μία στην ωοθυλακική φάση και μία στην ωχρινική, μερικές μέρες μετά την πρώτη ωοληψία. Αυτή η στρατηγική είναι εφαρμόσιμη σε ασθενείς και επιτρέπει την αύξηση των ωοκυττάρων σε μικρότερο χρονικό διάστημα για συγκεκριμένους σκοπούς, π.χ. όταν αναζητούνται ευπλοειδικά έμβρυα σε έναν κύκλο που εφαρμόζεται προεμφυτευτική διάγνωση για ανευπλοειδίες (PGT-A) ή όταν η ωοθηκική απόκριση αναμένεται να είναι εξαιρετικά χαμηλή (Labarta, 2020; F. M. Ubaldi et al., 2016). Επιπλέον, τα πρωτόκολλα DuoStim θα μπορούσαν να αυξήσουν την πιθανότητα να διατηρηθούν επιπλέον έμβρυα ώστε να αποκτηθεί έναν δεύτερο παιδί σε μετέπειτα χρόνο στο μέλλον, συμβάλλοντας έτσι την επέκταση της οικογένειας (Labarta, 2020).

Τα αυξημένα ποσοστά επιβίωσης καρκινοπαθών, η ανάπτυξη νέων τεχνικών

υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και το αυξανόμενο ενδιαφέρον για βελτίωση της ποιότητας ζωής έχουν φέρει στο προσκήνιο την διατήρηση της γονιμότητας για τους ογκολογικούς ασθενείς και κατ' επέκταση και τους ειδικούς ογκολόγους. Ενδεικτικά, τα ποσοστά επιβίωσης ασθενών με λέμφωμα Hodgkin και καρκίνο του μαστού έχουν φτάσει το 90% και 80%, αντίστοιχα. Παρ' όλα αυτά, πολλές από αυτές τις γυναίκες θα αντιμετωπίσουν υπογονιμότητα και πρόωρη εμμηνόπαυση, λόγω της τοξικότητας που προκαλείται στις ωοθήκη από την χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία στην περιοχή της πυέλου. Ωστόσο, το 70% αυτών των ασθενών θα επιθυμήσουν να αποκτήσουν απογόνους μετά το τέλος της ογκολογικής θεραπείας. Η αποκατάσταση της γονιμότητας αυτών των ασθενών αποτελεί κινητήριο μοχλό για την επιστημονική κοινότητα, ώστε να αναπτυχθούν αποτελεσματικές θεραπείες για την προστασία της αναπαραγωγικής ικανότητας από την ογκολογική θεραπεία και τις επιβλαβείς παρενέργειές της (von Wolff et al., 2009).

Η πρόοδος στην αναπαραγωγική ιατρική έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη πολλών νέων τεχνικών διατήρησης της γονιμότητας. Η διέγερση ωοθηκών με επακόλουθη κρυοσυντήρηση ωαρίων ή/και εμβρύων, η κρυοσυντήρηση των ωαρίων που έχουν ωριμάσει *in vitro*, η κρυοσυντήρηση και μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού και η προστασία της ωοθήκης *in vivo* με την χρήση GnRH ανάλογων (GnRH analogues, GnRH-a), αποτελούν παραδείγματα διατήρησης γονιμότητας για ιατρικούς λόγους. Η δράση των περισσότερων από αυτές τις τεχνικές είναι περιορισμένη και η εφαρμογή τους μπορεί να βρίσκεται σε πειραματικό στάδιο. Η διέγερση των ωοθηκών ακολουθούμενη από έναν κύκλο IVF και κρυοσυντήρηση των παραγόμενων έμβρυων είναι ευρέως παγιωμένη και μπορεί να πραγματοποιηθεί σε όλα τα κέντρα εξωσωματικής γονιμοποίησης. Αυτή η τεχνική προσφέρεται στην πλειοψηφία των ασθενών που επιθυμούν διατήρηση της γονιμότητάς τους πριν την χημειοθεραπεία ή/και την ακτινοθεραπεία.

Ένα μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το σχετικά ευρύ χρονικό διάστημα που απαιτείται για την εφαρμογή του πρωτοκόλλου διέγερσης ωοθηκών που μπορεί να διαρκέσει έως και έξι εβδομάδες, ειδικά αν οι ασθενείς βρίσκονται στην ωχρινική φάση του εμμηνορρυσιακού τους κύκλου. Επειδή το χρονικό πλαίσιο μέχρι την έναρξη της χημειοθεραπείας και ακτινοβολίας είναι περιορισμένο, αυτή η παρατεταμένη διάρκεια συχνά δεν μπορεί να γίνει αποδεκτή από τους ασθενείς. Γι' αυτό έχει αναπτυχθεί το πρωτόκολλο DuoStim το οποίο επιτρέπει την διέγερση ωοθηκών κατά την διάρκεια της ωχρινικής φάσης του εμμηνορρυσιακού κύκλου ώστε να επιταχυνθεί η συλλογή ωαρίων (von Wolff et al.,

2009).

Το πλεονέκτημα αυτής της πρακτικής είναι ότι το πρωτόκολλο επιτρέπει την ωοληψία σε καρκινοπαθείς μέσα σε δύο εβδομάδες ανεξάρτητα από την ημερομηνία της πρώτης συμβουλευτικής επίσκεψης σε σχέση με την ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου και την φάση του κύκλου στην οποία βρίσκεται η ασθενής. Το χρονικό πλαίσιο που προσφέρεται στους ασθενείς για την κρυσυντήρηση γονιμοποιημένων ωοκυττάρων κρίνεται ως αποδεκτό και μπορεί να προσφερθεί σε ασθενείς που πάσχουν από λέμφωμα Hodgkin ή οιστρογονο-ανεξάρτητο καρκίνο του μαστού (von Wolff et al., 2009).

Ο συνολικός αριθμός γεννήσεων ζώντων νεογνών ανά κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης θα πρέπει να θεωρείται ως ένας από τους πιο σημαντικούς δείκτες επιτυχίας στην IVF και ο αριθμός των ωοκυττάρων που θα ληφθούν μετά από ένα πρωτόκολλο ελεγχόμενης ωοθηκικής διέγερσης επηρεάζει σημαντικά το κλινικό αποτέλεσμα. Για αυτό η βελτιστοποίηση του λαμβανόμενου αριθμού ωοκυττάρων σε σχέση με το ωοθηκικό απόθεμα είναι μέγιστης σημασίας (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018).

Πρόσφατα, η διεθνής βιβλιογραφία έχει προσπαθήσει να εκτιμήσει τον ιδανικό αριθμό ωοκυττάρων που πρέπει να ανακτηθούν μετά από ένα πρωτόκολλο ελεγχόμενης διέγερσης για την μεγιστοποίηση του αριθμού γεννήσεων ζώντων νεογνών σε φρέσκους κύκλους εμβρυομεταφοράς. Σύμφωνα με τους Van der Gaast και συν., η ανάκτηση 13 ωαρίων μπορεί να εξασφαλίσει υψηλά ποσοστά εγκυμοσύνης ανά εμβρυομεταφορά και ανά κύκλο (31% και 28%, αντίστοιχα) (Mh et al., 2006). Αργότερα, το 2009 διεξήχθη μία μετα-ανάλυση σύμφωνα με την οποία η ανάκτηση 10 ωαρίων μπορεί να βελτιώσει τα ποσοστά εμφύτευσης εμβρύων (Verberg et al., 2009). Επιπλέον, άλλες μελέτες έχουν υπολογίσει ότι η ανάκτηση 18 (Fatemi et al., 2013) και 15 ωαρίων (Sunkara et al., 2011) έπειτα από πρωτόκολλο διέγερσης ωοθηκών μπορεί να βελτιώσει τα ποσοστά εγκυμοσύνης και γέννησης ζώντων νεογνών, αντίστοιχα. Συνεπώς, κατά μέσο όρο, 10-15 ωάρια θα πρέπει να θεωρούνται ο ιδανικός αριθμός των ωαρίων που πρέπει να λαμβάνονται σε κύκλους μεταφοράς φρέσκων εμβρύων (Vaiarelli, Cimadomo, Ubaldi, et al., 2018).

Αν αναλογιστούμε τους κύκλους εμβρυομεταφοράς φρέσκων εμβρύων σε συνδυασμό με τους κύκλους εμβρυομεταφοράς κρυσυντηρημένων εμβρύων, τότε όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των ωοκυττάρων που θα ανακτηθούν, τόσο μεγαλύτερος μπορεί να είναι ο συνολικός αριθμός γεννήσεων ζώντων νεογνών ανά κύκλο διέγερσης ωοθηκών (Drakopoulos et al., 2016). Με βάση αυτήν τη στρατηγική, ο στόχος της οποίας είναι η αύξηση του αριθμού

των ωοκυττάρων που θα ληφθούν ώστε να μεγιστοποιηθεί ο συνολικός ρυθμός γεννήσεων ανά κύκλο ελεγχόμενης ωοθηκικής διέγερσης και να μειωθεί η ανάγκη να υποβληθούν οι ασθενείς σε πολλαπλούς κύκλους IVF, είναι απαραίτητο να αναπτυχθεί ένα πολύ καλό πρόγραμμα κρυοσυντήρησης (Rienzi et al., 2017).

Ο αριθμός των ωοκυττάρων που θα ληφθούν δεν είναι ο μόνος προγνωστικός δείκτης του συνολικού αριθμού γεννήσεων. Οι χρωμοσωμικές ανευπλοειδίες, οι οποίες σχετίζονται άμεσα με την ηλικία της γυναίκας, αποτελούν τον κύριο παράγοντα που επηρεάζει το αναπτυξιακό δυναμικό των εμβρύων (Scheffer et al., 2017). Το ποσοστό ανευπλοειδίας των εμβρύων εξαρτάται από την ηλικία και σε γυναίκες κάτω των 35 ετών κυμαίνεται μεταξύ 25 και 30%. Γυναίκες άνω των 42 ετών παρουσιάζουν ποσοστό ανευπλοειδίας άνω του 90%. Ωστόσο, κατά την εμβρυομεταφορά μιας ευπλοειδικής βλαστοκύστης, το ποσοστό εμφύτευσης είναι ανεξάρτητο από την ηλικία της γυναίκας (Dahdouh et al., 2015) και πιθανώς από την μορφολογική ποιότητα της βλαστοκύστης (Caralbo et al., 2014). Σύμφωνα με το ποσοστό ανευπλοειδίας της βλαστοκύστης που εξαρτάται από την ηλικία, η πρόγνωση της γέννησης ζώντων νεογνών δεν μπορεί να βασιστεί μόνο στον αριθμό των ωοκυττάρων που θα απομονωθούν. Γυναίκες με τον ίδιο αριθμό ληφθέντων ωαρίων μπορεί να έχουν αντίθετο κλινικό αποτέλεσμα, λόγω του διαφορετικού ποσοστού ανευπλοειδιών. Οι ειδικοί οφείλουν να αναπτύξουν μια στρατηγική που θα μπορεί να αποδώσει τον κατάλληλο αριθμό ωαρίων, που με βάση την ηλικία θα μεγιστοποιεί τις πιθανότητες να βρεθεί τουλάχιστον μία ευπλοειδική βλαστοκύστη (Vaiarelli, Cimadomo, Ubaldi, et al., 2018).

Η αυξανόμενη γνώση για τα ανθρώπινα ωοθυλακικά κύματα άνοιξε νέες επιλογές για την ανάπτυξη νέων πρωτοκόλλων ελεγχόμενης διέγερσης, ώστε να βελτιωθεί η απόδοση και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με IVF. Η κλασική θεωρία που υποστηρίζει ότι μόνο μία ομάδα ωοθυλακίων άντρου αναπτύσσεται κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης έχει ανατραπεί από στοιχεία που υποστηρίζουν ότι τα θυλάκια μπορεί να στρατολογηθούν οποιαδήποτε στιγμή στον ωοθηκικό κύκλο. Θεωρητικά, η δυνατότητα να αποκτηθεί ένας μεγαλύτερος αριθμός ωοκυττάρων ο οποίος λήφθηκε μέσα σε έναν εμμηνορυσιακό κύκλο, εκμεταλλευόμενοι πλήρως τα διάφορα ωοθηκικά κύματα, μπορεί να προσφέρει μεγαλύτερες πιθανότητες να αναπτυχθεί ένα αναπαραγωγικά ικανό έμβρυο, βελτιώνοντας έτσι το ποσοστό γεννήσεων ανά κύκλο. Αυτή η ανακάλυψη προσφέρει νέες πιθανότητες για τα πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης με σκοπό να αξιοποιηθεί καλύτερα το ωοθηκικό απόθεμα, ειδικά σε ασθενείς που παρουσιάζουν πτωχή ωοθηκική απόκριση, είτε γυναίκες προχωρημένης ηλικίας

ή ογκολογικού ασθενείς (Rashtian & Zhang, 2018).

Η αξιοπιστία της LuPOR ως πρόσθετη μέθοδος εξωσωματικής γονιμοποίησης αποτέλεσε κινητήρια δύναμη για τη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί η ωληψία στην ωχρινική φάση ως συμπληρωματική θεραπεία και να αποσαφηνιστεί το ποιες ομάδες του πληθυσμού μπορούν να επωφεληθούν από αυτή την τεχνική.

9.2 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσας μελέτης, η ωληψία ωχρινικής φάσης ανταποκρίνεται το ίδιο καλά με την ωληψία ωοθυλακικής φάσης όσον αφορά τα εργαστηριακά αποτελέσματα. Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του αριθμού των ωαρίων MII που ανακτήθηκαν στο LuPOR σε σύγκριση με το FoPOR, ενώ αυτά τα αποτελέσματα φαίνεται να συμφωνούν με ένα μέρος της βιβλιογραφίας (F. M. Ubaldi et al., 2016). Αντιθέτως, τα αποτελέσματα αυτά διαφωνούν με άλλες μελέτες (Kuang et al., 2014; Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018), κάτι που μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η παρούσα μελέτη χρησιμοποίησε αυστηρά φυσικούς κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης, ενώ οι άλλες μελέτες χρησιμοποίησαν κύκλους με ελεγχόμενη διέγερση ωοθηκών. Η λογική της διενέργειας πολλαπλών λήψεων κατά τη διάρκεια ενός φυσικού κύκλου είναι ότι μια διπλή λήψη ωαρίων στον ίδιο εμμηνορροϊκό κύκλο μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των ωαρίων που λαμβάνονται στο ίδιο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με τα συμβατικά πρωτόκολλα μίας ωληψίας ανά εμμηνορροϊκό κύκλο, και αυτό έχει προστιθέμενη αξία ιδίως για ομάδες γυναικών όπως οι POR, για τις οποίες ο χρόνος έχει σημασία.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, ο αριθμός των ωοθυλακίων με άντρο, ο οποίος εκτιμήθηκε την δεύτερη μέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου είναι προγνωστικός δείκτης για την λήψη τουλάχιστον ενός ώριμου ωαρίου MII κατά την διάρκεια της ωληψίας στην ωχρινική φάση. Ο αριθμός ωοθυλακίων άντρου (antral follicle count, AFC) είναι δείκτης ωοθηκικού αποθέματος σύμφωνα με τα κριτήρια Bologna και POSEIDON (Ferraretti et al., 2011; Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number) et al., 2016). Η κατωφλική τιμή AFC βρέθηκε να είναι στο 4.47, δηλαδή απαιτείται η παρουσία τουλάχιστον τεσσάρων με πέντε ωοθυλακίων στο υπερηχογράφημα ώστε να

υπάρχει καλή πρόγνωση για την απόδοση της LuPOR. Αυτός ο αριθμός των ωθυλακίων φαίνεται να είναι παρόμοιος με τον αριθμό του AFC που ορίζει τις πτωχές απαντήτριες σύμφωνα και με τις δύο ομάδες κριτηρίων.

Η αξία και η σημασία του αριθμού των μικρών ωθυλακίων που αναγνωρίζονται κατά την διάρκεια μιας ωληψίας στην ωθυλακική φάση έχει υπολογιστεί ότι αντιστοιχεί στον αριθμό των ωθυλακίων άντρου κατά την ωληψία ωχρινικής φάσης (Rashtian & Zhang, 2018). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν αυτή την θεωρεία, προτείνοντας ότι ο αριθμός των μικρών ωθυλακίων κατά την ωληψία ωθυλακικής φάσης μπορεί να αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την επιτυχημένη έκβαση της ωληψίας ωχρινικής φάσης, δηλαδή την λήψη τουλάχιστον ενός ωαρίου κατά την LuPOR. Έχει καταγραφεί πως ωθυλάκια με διάμετρο κάτω από 12 mm κατά την ωληψία ωθυλακικής φάσης, παρουσιάζουν μικρότερο ποσοστό ώριμων ωαρίων MII (Rosen et al., 2008). Είναι, λοιπόν, ασφαλές να θεωρηθεί ότι εάν επιτρέψουμε σε αυτά τα ωθυλάκια να συνεχίσουν την ανάπτυξή τους, μπορεί να οδηγήσουν σε υψηλότερη πιθανότητα λήψης ώριμου ωαρίου MII κατά την εφαρμογή της ωχρινικής ωληψίας.

Τα επίπεδα οιστραδιόλης και στις δύο μέρες πρόκλησης ωθυλακιόρρηξης αποδείχτηκαν προγνωστικοί δείκτες μιας επιτυχημένης LuPOR. Η οιστραδιόλη εμπλέκεται στην αρνητική ανάδραση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωθήκης, ρυθμίζοντας την παραγωγή των γοναδοτροπινών και την επιλογή του κυρίαρχου ωθυλακίου, καθώς επίσης και το μέγεθος των ωκυττάρων (Britt et al., 2004). Έχει προταθεί ότι μια τριπλή ρύθμιση μεταξύ FSH, AMH και E2 βρίσκεται στο επίκεντρο της ωθυλακιόγένεσης. Η FSH διεγείρει την σύνθεση οιστραδιόλης, η οποία αναστέλλει την παραγωγή της AMH από τις ωθήκες (Dewailly et al., 2016). Κατά την διάρκεια της ωθυλακικής ανάπτυξης, η οιστραδιόλη αυξάνει την έκφραση των υποδοχέων FSH και LH. Με αυτόν τον τρόπο ενεργοποιείται η στρατολόγηση των ωθυλακίων (Dewailly et al., 2016).

Στους ανθρώπους έχει παρατηρηθεί η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων οιστραδιόλης και τον αριθμό των ωκυττάρων και των MII ωκυττάρων που θα ληφθούν (Li et al., 2019). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, η οιστραδιόλη κατά την ωληψία ωχρινικής φάσης ήταν ο πιο ακριβής προγνωστικός παράγοντας για την επιτυχία μιας LuPOR. Αυτό υποδηλώνει πως τα δεδομένα που συγκεντρώθηκαν από την ωχρινική φάση μπορούν να διατηρούν υψηλότερη προγνωστική αξία σχετικά με γεγονότα που συμβαίνουν κατά την διάρκεια της ωχρινικής φάσης, σε σύγκριση με δεδομένα που συγκεντρώθηκαν κατά την

ωοληψία στην ωοθυλακική φάση. Παρ' όλα αυτά, τα δεδομένα της ωοθυλακικής φάσης διατηρούν κι αυτά σημαντική προγνωστική αξία.

Τα επίπεδα οιστραδιόλης κορυφώνονται κυρίως 1 έως 2 ημέρες πριν από την ωορρηξία. Μια πρόσφατη μελέτη που ανέπτυξε ένα μοντέλο πρόβλεψης της ωορρηξίας συνοψίζοντας τα ευρήματα τριών άλλων μελετών, ανέφερε ότι τα μέσα επίπεδα οιστραδιόλης κυμαίνονταν από 180 έως 236 pg/ml δύο ημέρες πριν από την ωορρηξία, γεγονός που συμφωνεί με τη μελέτη μας που ανέφερε κατωφλική τιμή 232 pg/ml την ημέρα της πρόκλησης ωοθυλακιωορρηξίας (Usala & Trindade, 2020). Από την άλλη πλευρά, μια άλλη μελέτη που χρησιμοποίησε φυσικούς κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης, όρισε την κατωφλική τιμή σημαντικά χαμηλότερη, στα 101 pg/ml (DiMattina et al., 2014). Ωστόσο, αυτή η τιμή κατωφλίου ορίστηκε κυρίως ως ένα αυστηρό όριο κάτω από το οποίο δεν παρατηρήθηκε καμία εγκυμοσύνη παρά ως προγνωστική κατωφλική τιμή.

Η AMH είναι γνωστός δείκτης ωοθηκικού αποθέματος κι έχει συσχετιστεί με τον αριθμό των ωοκυττάρων και των MII ωοκυττάρων που θα ληφθούν κατά την ωοληψία (Ferraretti et al., 2011). Ένα ενδιαφέρον αποτέλεσμα που εξήχθη από την παρούσα μελέτη είναι η απουσία συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων της AMH και της λήψης τουλάχιστον ενός MII ωοκυττάρου ή της λήψης ενός ωοκυττάρου ανεξάρτητα από τον βαθμό ωρίμανσης. Αυτή η απουσία συσχέτισης μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η μελέτη περιλαμβάνει αυστηρά φυσικούς κύκλους και η μέτρηση του κύριου αποτελέσματος μπορεί να περιγραφεί ως ποιοτική κι όχι ως ποσοτική μέτρηση.

Παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα της AMH αποτελούν προγνωστικό δείκτη για την ακύρωση ενός κύκλου εξωσωματικής στον γενικό πληθυσμό (Dai et al., 2020), αν περιοριστεί ο πληθυσμός αυστηρά στις πτωχές απαντήτριες, δεν παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της AMH και του αριθμού ακύρωσης κύκλων (Maged et al., 2020). Από την άλλη, στον ίδιο πληθυσμό παρατηρήθηκε σχέση μεταξύ των επιπέδων AMH και του αριθμού των ωοκυττάρων και των MII ωοκυττάρων που λήφθηκαν (Maged et al., 2020). Το συμπέρασμα που μπορεί να ληφθεί από τα παραπάνω είναι ότι η AMH είναι ένας ποιοτικός δείκτης για την αξιολόγηση αυστηρά πτωχών απαντητριών. Είναι σημαντικό να αναφερθεί όμως ότι ο ισχυρισμός αυτός μπορεί να αντικρουστεί σε πτωχές απαντήτριες με πολύ χαμηλή τιμή AMH, κάτω από 0.5 ng/ml (Revelli et al., 2016).

Το γεγονός ότι καμία από τις προαναφερθείσες παραμέτρους δεν βρέθηκε να είναι ενδεικτική του ποσοστού γονιμοποίησης ή αυλάκωσης είναι σύμφωνο με τη βιβλιογραφία.

Έχει παρατηρηθεί ότι ο AFC, η E₂, η AMH, η FSH ή η LH δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως προγνωστικοί παράγοντες όσον αφορά είτε το ποσοστό γονιμοποίησης είτε το ποσοστό αυλάκωσης (Dai et al., 2020; M. A. B. Melo et al., 2009; Thum et al., 2009; Vaughan et al., 2019; D. Zhang et al., 2020). Μόνο τα επίπεδα προλακτίνης έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία ως προγνωστικός δείκτης για τη γονιμοποίηση και το ποσοστό αυλάκωσης, με κατωφλική τιμή 16,05 ng/ml (D. Zhang et al., 2020). Ωστόσο, στη μελέτη μας η συντριπτική πλειονότητα των ασθενών ήταν πάνω από αυτή την τιμή, γεγονός που μπορεί να δικαιολογεί την έλλειψη συσχέτισης (Di Renzo et al., 2012). Έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα προγεστερόνης σχετίζονται με τον αριθμό των ωαρίων που ανακτήθηκαν και το ποσοστό γονιμοποίησης σε FoPOR (Thomsen et al., 2018). Ωστόσο, η έλλειψη συσχέτισης στην παρούσα μελέτη μπορεί να αποδοθεί στα φυσιολογικά υψηλά επίπεδα προγεστερόνης κατά τη διάρκεια της LuPOR.

Το συνολικό ποσοστό ακύρωσης του LuPOR ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με το FoPOR. Αυτό είναι σύμφωνο με την τρέχουσα βιβλιογραφία (Vaiarelli, Cimadomo, Trabucco, et al., 2018). Κατά την διερεύνηση των αιτιών της ακύρωσης βρέθηκε ότι η πρόωρη ωοθυλακιορρηξία ήταν σημαντικά χαμηλότερη στη LuPOR, πιθανώς λόγω των φυσιολογικών διεργασιών που αποτρέπουν τη δεύτερη ωοθυλακιορρηξία. Παρ' όλα αυτά, όταν εξετάζεται η ακύρωση του κύκλου λόγω αποτυχίας ανάκτησης ωαρίου, φαίνεται ότι στην περίπτωση της LuPOR υπήρχε ένας μεγαλύτερος αριθμός αποτυχίας ανάκτησης ωαρίου ή συγκεκριμένα ωαρίου MII. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι το ποσοστό ακύρωσης του κύκλου στην τρέχουσα βιβλιογραφία που αφορά όλους τους τύπους κύκλων είναι μικρότερο από 10% (Sfakianoudis, Pantos, et al., 2020). Ωστόσο, στη μελέτη μας το ποσοστό ακύρωσης ήταν σχεδόν διπλάσιο (28,85%). Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο ότι, στην μελέτη μας, συμπεριλήφθησαν μόνο φυσικοί κύκλοι, οι οποίοι έχουν γενικά συσχετιστεί με υψηλότερα ποσοστά ακύρωσης του κύκλου.

Μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να στοχεύουν στην αναφορά των αναπαραγωγικών αποτελεσμάτων μετά την διπλή ανάκτηση και την περαιτέρω διαμόρφωση του πρωτοκόλλου LuPOR. Κατά τη σύγκριση του συνδυασμού FoPOR και LuPOR με FoPOR μόνο και την αναφορά των αναπαραγωγικών αποτελεσμάτων, περιορισμένα, αν και ενθαρρυντικά, στοιχεία προέρχονται από μία μόνο αναδρομική μελέτη που δείχνει στατιστικά σημαντική αύξηση του αριθμού των ωαρίων που ανακτήθηκαν και γονιμοποιήθηκαν επιτυχώς μετά από FoPOR και LuPOR, σε σύγκριση με FoPOR μόνο (Sfakianoudis, Simopoulou, Maziotis, et al., 2019). Θα

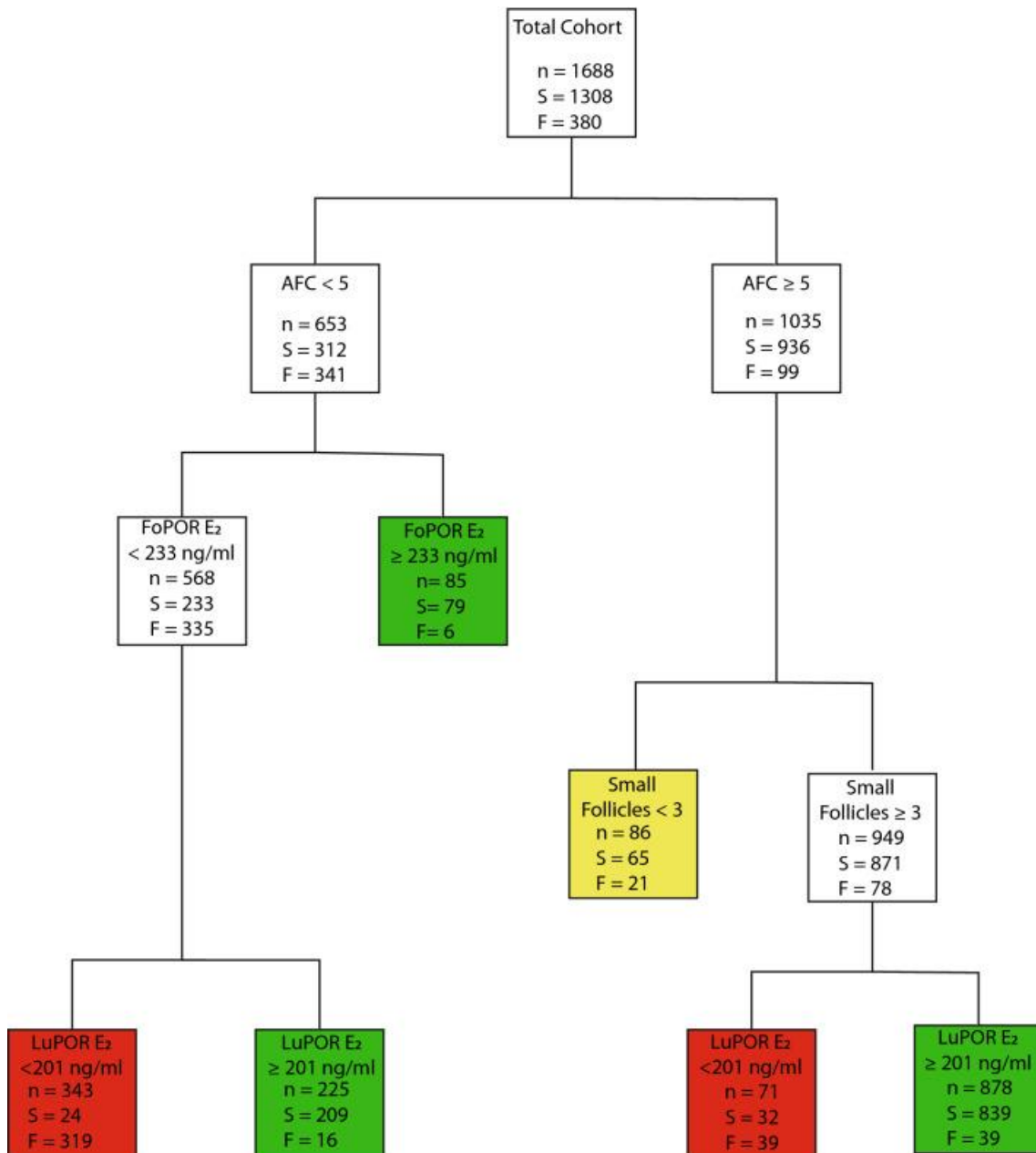
πρέπει να διεξαχθούν προοπτικές μελέτες μεγάλης κλίμακας για να αξιολογηθούν τα αναπαραγωγικά αποτελέσματα και να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με το κατά πόσον η προσέγγιση αυτή θα πρέπει να συνεχιστεί περαιτέρω, καθορίζοντας παράλληλα κριτήρια εφαρμογής της. Αναμένεται ότι η προσέγγιση της διπλής ανάκτησης στο πλαίσιο ενός φυσικού κύκλου θα οδηγήσει σε μικρότερο αριθμό ωαρίων που θα ανακτηθούν σε σύγκριση με την COS. Ωστόσο, η σύγκριση των αναπαραγωγικών αποτελεσμάτων είναι αυτή που συνήθως καθοδηγεί τη βέλτιστη πρακτική. Στην περίπτωση που μελλοντικά δεδομένα υποδεικνύουν παρόμοια αναπαραγωγικά αποτελέσματα μεταξύ COS και διπλής ανάκτησης ωαρίων μετά από φυσικούς κύκλους, τότε μπορεί να αναδειχθεί η αξία της προσέγγισης της διπλής ανάκτησης ωαρίων, ως μέσο αποφυγής της διέγερσης μαζί με όλα όσα αυτή συνεπάγεται. Από την άλλη πλευρά, η διπλή ανάκτηση μπορεί να είναι πιο απαιτητική τόσο για τις ασθενείς όσο και για τους ιατρούς, καθώς απαιτεί περισσότερα ραντεβού, τα οποία μπορεί να είναι χρονοβόρα για τις ασθενείς, ενώ αυξάνουν σημαντικά τον φόρτο εργασίας της κλινικής. Μελέτες κόστους-αποτελεσματικότητας που λαμβάνουν υπόψιν αυτές τις πτυχές της θεραπείας μπορεί να δώσουν περισσότερες πληροφορίες. Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχουν στοιχεία σχετικά με την επίδραση της διπλής ανάκτησης στα αθροιστικά ποσοστά γεννήσεων ζώντων νεογνών. Μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να αναφέρουν αυτό το αποτέλεσμα, καθώς η στρατηγική της διπλής ανάκτησης απαιτεί ένα πρωτόκολλο αποθήκευσης εμβρύων που χρησιμοποιεί τη συλλογή κρυοσυντηρημένων εμβρύων πριν προχωρήσει σε ET (Kuang et al., 2014). Έτσι, μπορεί να έχει ενδιαφέρον να διερευνηθεί εάν η χρήση πολλαπλών κύκλων συλλογής εμβρύων και επακόλουθης κρυοσυντήρησης θα οδηγήσει σε αυξημένα αθροιστικά ποσοστά γεννήσεων ζώντων νεογνών.

9.3 Ανασυγκρότηση του προγνωστικού μοντέλου

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ο αριθμός των ωαρίων με άντρο (AFC), τα επίπεδα οιστραδιόλης την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας κατά την FoPOR και την LuPOR καθώς και ο αριθμός των μικρών θυλακίων που παρατηρείται κατά την ωοληψία ωοθυλακικής φάσης, μπορεί να αποτελούν προγνωστικούς δείκτες μιας επιτυχημένης LuPOR. Συνδυάζοντας τους παραπάνω παράγοντες που σχετίζονται με την επιτυχία της LuPOR σε ένα μοντέλο, το παραγόμενο μοντέλο παρουσιάζει υψηλή ακρίβεια. Τιμές του AUC μεγαλύτερες ή ίσες του 0.88 θεωρούνται άριστες (Mandrekar, 2010). Το

μοντέλο εμφανίζει παρόμοια αποτελέσματα και κατά την διαδικασία της επαλήθευσης (validation). Το μοντέλο παρουσιάζει έναν υψηλό δείκτη θετικής προγνωστικής αξίας της τάξεως του 93.5%. Ο δείκτης αρνητικής προγνωστικής αξίας είναι 46.8%, υποδεικνύοντας πως ίσως το μοντέλο να μην προσφέρει ακριβή πρόγνωση όταν χρησιμοποιηθεί για να εξαιρέσει γυναίκες από την τεχνική της LuPOR.

Στην Εικόνα 8 παρατίθεται ένα διάγραμμα δέντρο αποφάσεων που μπορεί να εφαρμοστεί κλινικά για την λήψη αποφάσεων. Η δημιουργία του βασίστηκε στις κατωφλικές τιμές και την AUC αυτού του μοντέλου. Το δέντρο αποφάσεων ιεραρχείται σύμφωνα με τους χρόνους των παρατηρήσεων. Η πρώτη παρατήρηση είναι η AFC. Με AFC 5 ή υψηλότερο, μπορεί να αναμένεται καλύτερη πρόγνωση, ενώ εάν το AFC είναι υψηλότερο από 5, μπορεί να αναμένεται μέτρια πρόγνωση όταν ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων που καταγράφονται στο FoPOR είναι μικρότερος από 3. Περαιτέρω διαχωρισμός για την παρατήρηση αυτή δεν πραγματοποιήθηκε λόγω του μικρού αριθμού γυναικών που πληρούσαν τα κριτήρια. Όταν παρατηρήθηκαν 3 ή περισσότερα μικρά ωοθυλάκια, η E_2 της LuPOR ήταν ο καθοριστικός παράγοντας. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η συντριπτική πλειονότητα των γυναικών σε αυτό το στάδιο παρουσίαζε επίπεδα E_2 201 ng/mL ή περισσότερα, γεγονός που οδηγεί σε καλή πρόγνωση. Χαμηλότερα επίπεδα E_2 υποδείκνυαν κακή πρόγνωση για την επιτυχία του LuPOR. Όταν η AFC ήταν χαμηλότερη από 5, τα επίπεδα E_2 κατά την FoPOR ≥ 232 ng/mL θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε καλή πρόγνωση. Για τις γυναίκες με χαμηλότερα επίπεδα E_2 κατά την FoPOR, θα πρέπει να τηρούνται τα επίπεδα E_2 κατά την LuPOR. Γυναίκες με επίπεδα $E_2 \geq 201$ ng/mL κατά την LuPOR παρουσίαζαν καλή πρόγνωση, ενώ γυναίκες με $E_2 < 201$ ng/mL κατά την LuPOR παρουσίαζαν κακή πρόγνωση. Θα πρέπει να τονιστεί ότι το δέντρο αποφάσεων περιλαμβάνει τόσο το σύνολο του πληθυσμού ανάπτυξης όσο και επαλήθευσης του μοντέλου και αποτελεί μόνο μια γραφική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων του μοντέλου.



Εικόνα 8: Διάγραμμα δέντρου αποφάσεων με βάση τις κατωφλικές τιμές και την AUC αυτού του μοντέλου. *Small Follicles*: Αριθμός ωοθυλακίων με διάμετρο μικρότερη από 13mm που καταγράφηκαν στην FoPOR, *n*: Αριθμός παρατηρήσεων *S*: επιτυχία LuPOR, που ορίζεται ως η ανάκτηση τουλάχιστον ενός ωοκυττάρου MII, *F*: αποτυχία LuPOR, που ορίζεται ως η αποτυχία ανάκτησης ενός ωοκυττάρου MII. Το δέντρο αποφάσεων ιεραρχείται ανάλογα με το χρόνο κάθε παρατήρησης. Για τη διάσπαση ενός κόμβου, κάθε γονικός κόμβος πρέπει να αποτελείται από τουλάχιστον 100 παρατηρήσεις και κάθε κόμβος-παιδί πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 50 παρατηρήσεις. Εάν ο γονικός κόμβος αποτελούνταν από περισσότερες από

100 παρατηρήσεις, αλλά ένα από τα παιδιά περιελάμβανε λιγότερες από 50 παρατηρήσεις, η διάσπαση γινόταν στην επόμενη παρατηρούμενη παράμετρο. Οι τερματικοί κόμβοι είναι χρωματισμένοι. Το πράσινο χρώμα αντιπροσωπεύει καλή πρόγνωση όσον αφορά την επιτυχία του LuPOR, το κίτρινο χρώμα αντιπροσωπεύει την επιτυχία του LuPOR, αν και με χαμηλότερες πιθανότητες σε σύγκριση με τη συνολική κοορτή, το κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύει κακή πρόγνωση όσον αφορά την επιτυχία του LuPOR.

Ενώ το προτεινόμενο μοντέλο παρουσιάζει σημαντικές δυνατότητες πρόβλεψης, οι συγγραφείς προχώρησαν στην ανάπτυξη ενός πρόσθετου μοντέλου, εξαιρώντας την E₂ κατά την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας στην ωχρινική φάση. Αυτό μπορεί να παρέχει πιο έγκαιρη πρόβλεψη για την ομάδα των ασθενών που θα επωφεληθούν από το LuPOR, απαλλάσσοντας από τον πρόσθετο χρόνο αναμονής και την ψυχολογική επιβάρυνση που μπορεί να βιώνουν οι ασθενείς, καθώς ο γιατρός θα είναι σε θέση να συστήσει την πορεία δράσης αμέσως μετά την FoPOR. Το μοντέλο που εξαιρούσε την E₂ κατά την ημέρα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας στην ωχρινική φάση, παρουσίασε χαμηλότερες προγνωστικές δυνατότητες όσον αφορά την AUC, την ευαισθησία, την ειδικότητα, την ακρίβεια και τη θετική προγνωστική αξία. Ωστόσο, η δυνατότητα πρόβλεψης παρέμεινε σε καλό επίπεδο (AUC: 0,85), ενώ η αρνητική προγνωστική αξία ήταν υψηλότερη (51,5 % έναντι 46,8 %). Παρά τις ελαφρώς μειωμένες προγνωστικές ικανότητές του, μπορεί να έχει πρόσθετη κλινική σημασία παρέχοντας έναν αρχικό έλεγχο των ασθενών και βοηθώντας τους κλινικούς ιατρούς στη λήψη αποφάσεων και στον προγραμματισμό της θεραπευτικής προσέγγισης.

9.4 Περιορισμοί της μελέτης

Η χρήση αποκλειστικά φυσικών κύκλων αποτελεί ταυτόχρονα πλεονέκτημα αλλά και περιορισμό στην αξιολόγηση της παρούσας μελέτης. Είναι πιθανό οι κατωφλικές τιμές που αναφέρθηκαν στην παρούσα μελέτη να αλλάζουν όταν χρησιμοποιείται πρωτόκολλο ελεγχόμενης διέγερσης. Παρ' όλα αυτά, οι παράμετροι που φαίνεται να συσχετίζονται με την επιτυχία της ωοληψίας κατά την ωχρινική φάση πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν όταν προγραμματίζεται ωοληψία ωχρινικής φάσης. Η χρήση ενός πρωτοκόλλου ελεγχόμενης διέγερσης απαιτεί την αξιολόγηση της δοσολογίας και της διάρκειας χρήσης των φαρμάκων διέγερσης.

Το γεγονός ότι αυτή η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε μία μόνο κλινική μπορεί να επηρεάσει την επαλήθευση του μοντέλου. Για το λόγο αυτό, κρίνεται απαραίτητη η επαλήθευση του μοντέλου με δείγμα ασθενών από άλλα κέντρα, ώστε να εδραιωθούν τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Επιπροσθέτως, η υψηλή βιολογική σημασία της ινχιμπίνης-B στην διαδικασία της ωοθυλακιογένεσης υποδηλώνει την ανάγκη για την ανάπτυξη ενός μοντέλου στο μέλλον, το οποίο θα περιλαμβάνει τα επίπεδα ινχιμπίνης-B στην ανάλυση (Wunder et al., 2008).

Άλλος περιορισμός της παρούσας μελέτης αποτελεί η σχετικά μικρή αρνητική προγνωστική αξία. Αυτό μπορεί να αντισταθμιστεί με την αύξηση της ειδικότητας ή της αρνητικής προγνωστικής αξίας κατά τον ορισμό των κατωφλικών τιμών. Είναι πιθανό η μεγιστοποίηση οποιασδήποτε από τις δύο παραπάνω παραμέτρους να οδηγήσει στην αύξηση της αρνητική προγνωστικής αξίας. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των κύκλων που θα αποτύχουν να λάβουν τουλάχιστον ένα ωάριο. Από την άλλη πλευρά, αυτό θα μπορούσε να επηρεάσει την ευαισθησία και την θετική προγνωστική αξία, οδηγώντας στην συλλογή μικρότερου αριθμού ωαρίων για τις ασθενείς στις οποίες ο χρόνος επίτευξης έχει μεγάλη σημασία. Για αυτόν το λόγο οι συγγραφείς επιχείρησαν την μεγιστοποίηση του δείκτη Youden σε μια προσπάθεια να υπάρξει εξίσου υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η προγνωστική αξία της E_2 όσον αφορά την επιτυχή εφαρμογή του LuPOR μπορεί να μην αποτελεί αντικειμενικό δείκτη από την άποψη ότι χρησιμοποιήθηκε ως ένδειξη για την χρήση του LuPOR. Ωστόσο, η κατωφλική τιμή που χρησιμοποιήθηκε ως ένδειξη για την εφαρμογή της LuPOR είναι σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με την κατωφλική τιμή που προσδιορίστηκε ως προγνωστική αξία της επιτυχούς εφαρμογής LuPOR.

Ένας άλλος πιθανός περιορισμός της μελέτης είναι το γεγονός ότι κατά τη διάρκεια της FoPOR δεν έγινε αναρρόφηση ωοθυλακίων μεγέθους μεταξύ 8 και 12 mm, σύμφωνα με τα τυποποιημένα πρωτόκολλα λειτουργίας της Κλινικής. Ο λόγος πίσω από αυτό είναι ότι η αναρρόφηση ωοθυλακίων με διάμετρο μικρότερη των 12 mm μπορεί να οδηγήσει στην ανάκτηση ενός ανώριμου ωαρίου. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι μόνο 1 στα 4 ωοθυλάκια αυτής της διαμέτρου οδηγεί σε ωάριο MII (Mohr-Sasson et al., 2020). Από την άλλη πλευρά, όταν τέτοια ωοθυλάκια αναρροφώνται κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης, αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ώριμων ωαρίων, και αυτό αποτέλεσε τη λογική πίσω από αυτή την πρακτική. Όσον αφορά τη στρατηγική της διπλής ωοληψίας, απαιτούνται περαιτέρω

μελέτες για τον προσδιορισμό της ελάχιστης απαιτούμενης διαμέτρου ωοθυλακίου για την αναρρόφηση κατά τη διάρκεια της FoPOR, καθώς στη βιβλιογραφία έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες οριακές τιμές (Kuang et al., 2014; Rashtian & Zhang, 2018).

Πέραν των περιορισμών που αναφέρθηκαν παραπάνω, θα πρέπει να σημειωθεί ότι παρά το γεγονός ότι συμπεριλήφθηκαν αποκλειστικά γυναίκες με διάγνωση POR, πρέπει να ληφθεί υπόψη η διακύμανση εντός του πληθυσμού. Ενδέχεται για ορισμένες γυναίκες η διάγνωση POR να είναι αποτέλεσμα γονιδιακών παραλλαγών. Μπορεί να είναι σημαντικό σε μια μελλοντική μελέτη να αξιολογηθεί η πρακτική της LuPOR σε γυναίκες με συγκεκριμένα γενετικά αίτια POR.

Περαιτέρω, ιδίως όσον αφορά τα αποτελέσματα επιτυχούς γονιμοποίησης και αυλάκωσης, ενδέχεται ορισμένοι παράγοντες που δεν έχουν μελετηθεί να έχουν επηρεάσει τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Οι συγχυτικοί παράγοντες που θέτει η εφαρμογή της ICSI προσθέτουν ένα άλλο επίπεδο πολυπλοκότητας στην αξιολόγηση της ικανότητας του ωαρίου. Επιπλέον, η υπογονιμότητα που οφείλεται στον ανδρικό παράγοντα έχει συσχετιστεί με χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης, λειτουργώντας ως ένας ακόμα συγχυτικός παράγοντας (Pantos et al., 2021). Επιπλέον, ο κατακερματισμός του DNA του σπέρματος, μια εξέταση που δεν περιλαμβάνεται στην τυπική ανάλυση σπέρματος, έχει συσχετιστεί με αρνητικά αναπαραγωγικά αποτελέσματα σε νορμοζωοσπερμικούς άνδρες (Agarwal et al., 2020).

Η εξωγενής επαλήθευση αυτού του μοντέλου καθώς και η τροποποίηση και περαιτέρω ανάπτυξη του, ώστε να περιλαμβάνει τις προαναφερθείσες παραμέτρους και κύκλους ελεγχόμενης διέγερσης με διπλή διέγερση ωοθηκών, αποτελεί μελλοντική ερευνητική κατεύθυνση προκειμένου αυτό το μοντέλο να είναι κλινικά εφαρμόσιμο. Θα πρέπει να τονιστεί ότι αυτή η μονοκεντρική αναδρομική μελέτη παρουσιάζει κυρίως ποιοτικά δεδομένα σχετικά με την προβλεπτική αξία ορισμένων παραμέτρων, και όχι ποσοτικά. Θα πρέπει να διεξαχθούν περαιτέρω πολυκεντρικές και πολυεθνικές μελέτες, στις οποίες θα συμμετέχει μεγάλη ποικιλία γυναικών διαφόρων εθνικοτήτων, πριν από την εδραίωση των κατωφλικών τιμών που θα μπορεί να είναι καθολικά εφαρμόσιμες.

9.5 Καινοτόμες προσεγγίσεις για την καταπολέμηση της ωοθηκικής ανεπάρκειας

Λόγω του μεγάλου εύρους των παθοφυσιολογικών καταστάσεων που μπορούν να οδηγήσουν σε ωθητική ανεπάρκεια, η αντιμετώπιση αυτών των ασθενών είναι πολύ απαιτητική. Οι δυσκολίες που δημιουργούνται συνετέλεσαν μιας νέας εποχής στο πεδίο της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, το οποίο έχει αναπτυχθεί ραγδαία την τελευταία δεκαετία, με στόχο την αποτελεσματική αντιμετώπιση της ωθητικής ανεπάρκειας στο πλαίσιο της θεραπείας της υπογονιμότητας στα ζευγάρια που βρίσκονται σε ανάγκη (Sfakianoudis, Pantos, et al., 2020).

Πρόσφατες μελέτες που ερευνούν το αναπαραγωγικό δυναμικό των ωθηκών δείχνουν πως η ωθυλακική ανάπτυξη μπορεί να διεγερθεί όταν γίνει η επαναφορά του κατάλληλου ωθητικού περιβάλλοντος (Herraiz et al., 2018). Αυτή η επαναφορά μπορεί να πραγματοποιηθεί με την χρήση παραγόντων, όπως βλαστικά κύτταρα, απομονωμένοι παράγοντες ανάπτυξης ή πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (platelet rich plasma, PRP) (Sfakianoudis, Simoroulou, Nitsos, et al., 2019). Οι μελέτες που έχουν γίνει στην βιολογία των βλαστικών κυττάρων επέτρεψαν την ανάπτυξη τεχνικών για τον επαναπρογραμματισμό των διαφοροποιημένων κυττάρων σε βλαστικά κύτταρα και στη συνέχεια σε κύτταρα που προσομοιάζουν γαμέτες, γνωστά ως συνθετικοί γαμέτες (Simoroulou et al., 2019).

Μελέτες έχουν δείξει πως η λειτουργία των μιτοχονδρίων συνδέεται στενά με την γήρανση των κυττάρων και την αποτυχία της γονιμοποίησης (Cozzolino et al., 2019; Labarta et al., 2019). Τα στοιχεία αυτά, σε συνδυασμό με τις πρόσφατες τεχνολογικές προόδους, επιτρέπουν σχεδόν απόλυτη αντικατάσταση του κυτταροπλάσματος ενός ωοκυττάρου και εισαγάγουν την νεότερη τεχνική της θεραπείας με μιτοχονδριακή αντικατάσταση για την αναζωογόνηση ωοκυττάρων (Sfakianoudis, Simoroulou, et al., 2020).

Βλαστοκύτταρα

Η θεραπεία με βλαστικά κύτταρα έχει σημειώσει σημαντική επιτυχία στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Ο όρος βλαστικά κύτταρα χρησιμοποιείται για την περιγραφή ενός μεγάλου εύρους αδιαφοροποίητων κυττάρων του ανθρώπινου σώματος που έχουν την ικανότητα να αυτό-αναζωογονούνται, να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται σε αρκετά όργανα κι εξειδικευμένους κυτταρικούς ιστούς. Λόγω της αναπτυξιακής ικανότητάς τους, τα βλαστικά κύτταρα μπορούν

να αποτελέσουν κομβικό σημείο στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Τα βλαστικά κύτταρα μπορούν να επαναφέρουν τη λειτουργία των ωοθυλακίων, έχοντας ως τελικό αποτέλεσμα την αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας (Veitia et al., 2007).

Η πρώτη δημοσιευμένη αναφορά που διερεύνησε την αξία των βλαστοκυττάρων στην αναπαραγωγική ιατρική έγινε το 1996, παρουσιάζοντας ασθενείς με ωοθηκική ανεπάρκεια, οι οποίες υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων από τον μυελό των οστών (BMDSC), καταφέροντας φυσική σύλληψη (Sanders et al., 1996). Η επιτυχία της θεραπείας με βλαστοκύτταρα την καθιστά πολύτιμη επιλογή στον ερευνητικό τομέα της αναπαραγωγικής ιατρικής.

Το 2018, μια συστηματική ανασκόπηση, διερευνώντας τη δυνητική χρήση των βλαστοκυττάρων ως αποτελεσματική θεραπεία για διάφορες καταστάσεις που οδηγούν σε υπογονιμότητα, έδειξε θετικά αποτελέσματα (Fazeli et al., 2018). Την ίδια χρονιά, μία άλλη μελέτη παρείχε ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την ωοθηκική εφεδρεία ασθενών με POR εξαιρετικά κακής πρόγνωσης μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση ωοθηκών με βλαστικά κύτταρα (ASCOT) (Christianson & Segars, 2018; Herraiz et al., 2018).

Όπως έχει αναφερθεί, ο απώτερος στόχος της θεραπείας με βλαστοκύτταρα είναι η αντιμετώπιση της σχετιζόμενης με την ηλικία ωοθηκικής γήρανσης, όπως σε γυναίκες με POR, γυναίκες με σοβαρή μειωμένη ωοθηκική εφεδρεία (DOR) και γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (POI). Τα δεδομένα προέρχονται από διάφορες μελέτες που παρουσιάζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, υποδεικνύοντας τη θεραπευτική ικανότητα των βλαστικών κυττάρων για την αναζωογόνηση των ωοθηκών (Herraiz et al., 2018).

Ωστόσο, εξακολουθούν να υφίστανται ανησυχίες σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της μεταμόσχευσης βλαστικών κυττάρων για την αναζωογόνηση των ωοθηκών, συνεπώς η προσέγγιση αυτή διατηρεί καθεστώς πειραματικής διαδικασίας (He et al., 2018). Απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου η εφαρμογή της μεθόδου να επεκταθεί σε καθεστώς κλινικής ρουτίνας.

Μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην χρήση πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων και κυρίως βλαστικών κυττάρων του μεσεγχύματος, ως πιθανό θεραπευτικό εργαλείο για την ωοθηκική ανεπάρκεια. Οι εξέχουσες ιδιότητες που έχουν, συμπεριλαμβανομένου τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την δυνατότητα ανανέωσης έχουν υψηλή σημασία

στο να γίνουν τα βλαστικά κύτταρα ένα εκπληκτικό εργαλείο στην υπηρεσία της μεταμόσχευσης και στοχευμένης φαρμακευτικής θεραπείας. Ακόμη, το ιδιαίτερο προφίλ των πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων μειώνει τον κίνδυνο απόρριψης και καρκινογένεσης και αυξάνει το ποσοστό επιβίωσης των βλαστικών κυττάρων. Έτσι, η θεραπεία αυτή είναι πιο αποτελεσματική και πιο ασφαλής (Mirzaei et al., 2018).

Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP)

Το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (Platelet Rich Plasma, PRP) αποτελείται από κρίσιμα συστατικά που χρησιμοποιούνται στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης προωθώντας βασικές διαδικασίες φυσιολογίας σε ένα υγιές άτομο. Πολλοί μηχανισμοί εμπλέκονται στο πολυπαραγοντικό φαινόμενο της αναγέννησης ιστού και της διαδικασίας της επιδιόρθωσης. Σε αυτούς περιλαμβάνονται ο πολλαπλασιασμός κυττάρων, η αγγειογένεση, η μετανάστευση κυττάρων και η προγραμματισμένη κυτταρική απόπτωση (Gurtner et al., 2008). Κομβικής σημασίας είναι οι αυξητικοί παράγοντες, η δράση των οποίων επάγεται από τα αιμοπετάλια (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Οι αυξητικοί παράγοντες συνδυάζονται με τη παρουσία χυμοκινών και κυτταροκινών που συμβάλλουν στην ενορχήστρωση της διαδικασίας της επιδιόρθωσης ιστού (Szafarowska & Jerzak, 2013). Ο λόγος πίσω από την χρήση πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια στο πλαίσιο της αντιμετώπισης παθολογιών που επηρεάζουν την συνοχή του ιστού βασίστηκε στα βασικά στοιχεία που προαναφέρθηκαν και έχουν προσδιοριστεί να λαμβάνουν μέρος στην διαδικασία της επιδιόρθωσης. Η εφαρμογή του μπορεί να επεκταθεί στην επαναφορά των διαδικασιών αυτών σε ένα σύστημα που θα αναγνωρίζει τις παθολογικές επιπτώσεις που επηρεάζουν την λειτουργία (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Με το σκεπτικό ότι η μηνιαία ωορρηξία μια γυναίκας κατά την διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου της χαρακτηρίζεται ως μικροτραύμα, η χρήση του PRP για την επιδιόρθωση ιστών μπορεί να θεωρηθεί ως ένας από τους τρόπους για την αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας (Duffy et al., 2019).

Μελέτες σε ζώα στο πλαίσιο της αναπαραγωγικής ιατρικής έχουν περιγράψει ότι η ενδοωοθηκική έγχυση PRP βελτιώνει την αναπτυξιακό δυναμικό των αρχέγονων και των πρωτογενών ωοθυλακίων (Hosseini et al., 2017). Επιπλέον, παρόμοιες μελέτες που

χρησιμοποίησαν ζωικά μοντέλα είχαν ως αποτέλεσμα την αυξημένη ανάπτυξη των ωοθυλακίων και τη μείωση των αποπτωτικών συμβάντων (Danforth et al., 2003; Quintana et al., 2004).

Το 2018, δύο επιστημονικές ομάδες, Sfakianoudis et al. και Sills et al. παρουσίασαν δεδομένα σχετικά με την εφαρμογή της PRP στην αποκατάσταση της λειτουργίας των ωοθηκών στον άνθρωπο (Sfakianoudis, Simoroulou, Nitsos, et al., 2019; Sills et al., 2018). Για περιεμμηνοπαυσιακές και πρόωρα εμμηνοπαυσιακές ασθενείς με φτωχό ωοθηκικό απόθεμα που είναι σε κύκλο IVF, τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν έδειξαν αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας μαζί με αποκατάσταση του εμμηνορροϊκού κύκλου μετά τη θεραπεία (Pantos et al., 2019). Επιπλέον, τα δεδομένα για ασθενείς με φτωχή ωοθηκική απόκριση δείχνουν εντυπωσιακή ορμονική βελτίωση, βελτιωμένο αριθμό ωαρίων που ανακτήθηκαν, κλινικές εγκυμοσύνες και επακόλουθες γεννήσεις ζώντων νεογνών σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη θεραπεία με PRP (Farimani et al., 2019; Sfakianoudis, Simoroulou, Nitsos, et al., 2019). Δύο δημοσιευμένες μελέτες παρέχουν δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του PRP στην αντιμετώπιση της POR, υποδεικνύοντας ότι το PRP μπορεί να αποτελέσει μια αποτελεσματική λύση προς την κατεύθυνση της βελτίωσης των αποτελεσμάτων της IVF/ICSI τόσο για νέους όσο και για μεγαλύτερους ασθενείς με POR (P. Melo et al., 2020; Sfakianoudis, Simoroulou, et al., 2020). Ωστόσο, και οι δύο αυτές μελέτες παρουσιάζουν περιορισμούς που οφείλονται κυρίως στο ότι πρόκειται για μελέτες παρατήρησης.

Έχουν σχηματιστεί διάφορα πρωτόκολλα για τη προετοιμασία της θεραπείας με PRP, είτε με εμπορικά κιτ, είτε με προετοιμασία στο σπίτι (Sfakianoudis et al., 2018). Λόγω της υψηλής αγγειογόνου περιοχής και του σημαντικού ρόλου που οι παράγοντες πήξης παίζουν στην αγγειακή ενεργοποίηση και σταθεροποίηση, η εφαρμογή των PRP συμβάλλει στην αγγειογένεση. Υπάρχουν στοιχεία βελτιωμένης ωοθηκικής λειτουργίας ακόμα και μόνο δύο μήνες από την έναρξη της θεραπείας (Sfakianoudis et al., 2018).

Η θεραπεία με πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια θεωρείται μέχρι τώρα πειραματική θεραπεία στο πλαίσιο της ωοθηκικής ανεπάρκειας μέχρι περισσότερα δεδομένα από αξιόπιστες κλινικές μελέτες γίνουν διαθέσιμα (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Για να αποσαφηνιστούν όλα τα ενδεχόμενα σχετικά με την εφαρμογή της θεραπείας με PRP για τις περιπτώσεις ωοθηκικής ανεπάρκειας, πρέπει να τονιστούν τόσο τα πλεονεκτήματα όσο και οι αδυναμίες της συγκεκριμένης θεραπείας. Το PRP αποτελεί μια αυτόλογη θεραπεία,

ελαχιστοποιώντας έτσι τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες που θα μπορούσαν να προκύψουν από μια ετερόλογη θεραπεία. Η εφαρμογή της θεραπείας αυτής, όμως, περιλαμβάνει αναμενόμενες δυσκολίες λόγω της επεμβατικής φύσης της και του ότι η κλινική εφαρμογή της ενδοωοθηκικής ένεσης απαιτεί προσεκτικό χειρισμό και εξατομικευμένη προσέγγιση. Σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών, όπως οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες, προστίθεται ένας επιπλέον παράγοντας πολυπλοκότητας στην πρακτική της ενδοωοθηκικής έγχυσης, στοχεύοντας ωοθήκες μειωμένου όγκου λόγω γήρανσης (Sfakianoudis et al., 2018). Ο βαθμός του επεμβατικού στοιχείου είναι υψηλός, καθώς απαιτούνται πολλαπλά σημεία ένεσης.

Οι παρενέργειες της θεραπείας με PRP παρουσιάζουν και αυτές ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα. Τα γεγονότα του έντονου κυτταρικού πολλαπλασιασμού μπορεί να προκαλέσουν το σχηματισμό κακοήθειας πιθανώς λόγω της διαφοροποίησης των βλαστικών κυττάρων που υπάρχουν στις ωοθήκες (Sills et al., 2018). Οι κίνδυνοι και το αναμενόμενο ρίσκο των θεραπειών με ενέσεις PRP δεν έχουν ακόμα καθοριστεί. Οι ενέσεις PRP παραμένουν μια επεμβατική διαδικασία που πραγματοποιείται με την καθοδήγηση υπερήχου και η έλλειψη δημοσιευμένων δεδομένων που να παρουσιάζουν πιθανές παρενέργειες δεν προκαλεί καθυσχασμό. Η χρήση του PRP φαίνεται να είναι μια πιο φιλική προς τον ασθενή προσέγγιση σε σύγκριση με τη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων απλώς και μόνο για λόγους επεμβατικότητας. Ωστόσο, δεν υπάρχουν ισχυρά στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα οποιασδήποτε από τις δύο αυτές προσεγγίσεις. Αρκετές παράμετροι που σχετίζονται με την ασφάλεια του PRP καθώς και με το πρωτόκολλο χορήγησης του PRP παραμένουν προς διαλεύκανση (Sfakianoudis, Simoroulou, et al., 2020).

Μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού

Διάφορες έρευνες έχουν προσπαθήσει να εξασφαλίσουν ένα κοινό πλαίσιο για την πρακτική της ωοθηκικής μεταμόσχευσης. Ως βέλτιστη πρακτική παρουσιάζεται η ορθοτοπική μεταμόσχευση, αφού το μικροπεριβάλλον γύρω από τον μεταμοσχευμένο ιστό είναι ιδανικό για την ωοθυλακική ανάπτυξη (Donnez & Dolmans, 2017). Από την άλλη, υπάρχει ένας περιορισμένος αριθμός τμημάτων ιστού που να μπορούν να μεταφερθούν λόγω περιορισμένου χώρου. Ακόμη, η παρουσία έντονων πυελικών συμφύσεων μπορεί να είναι παράπλευρο αποτέλεσμα της επέμβασης αυτής (Demeestere et al., 2009).

Η μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού αποτελεί μια νέα προσέγγιση για την καταπολέμηση της ωθηκικής ανεπάρκειας. Οι πρώτες προσπάθειες ωθηκικής μεταμόσχευσης ξεκίνησαν τουλάχιστον 20 χρόνια πριν (Oktay & Karlikaya, 2000, p. 200). Από τότε έχουν επιτευχθεί πολυάριθμες επιτυχημένες γεννήσεις ζώντων νεογνών, οι οποίες έχουν καταγραφεί στην διεθνή βιβλιογραφία (Andersen et al., 2008; Donnez et al., 2004). Σε περιπτώσεις διάγνωσης κακοήθειας συνίσταται η κρυσυντήρηση ωθηκικού ιστού για μετέπειτα μεταμόσχευση. Είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί σε μικρό χρονικό πλαίσιο χωρίς να καθυστερήσει η έναρξη της καρκινικής θεραπείας (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Η πραγματοποίηση μεταμόσχευσης αυτόλογου ωθηκικού ιστού απαιτεί την συλλογή ιστού πριν την αναγνώριση των σημείων της ωθηκικής ανεπάρκειας. Αυτός είναι ο λόγος που η στρατηγική αυτή απευθύνεται σε μια πολύ συγκεκριμένη ομάδα ασθενών. Αυτές οι ασθενείς είναι γυναίκες που προορίζονται να εμφανίσουν ωθηκική ανεπάρκεια μετά από θεραπεία από καρκίνο μαζί με την ομάδα ασθενών που θα εμφανίσουν εξάντληση των αποθεμάτων των γαμετών λόγω μιας πρόγνωσης ή και διάγνωσης πρόωρης ωθηκικής ανεπάρκειας (Oktay & Karlikaya, 2000; Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Σε εμμηνοπαυσιακούς ασθενείς, η τεχνική της μεταμόσχευσης ωθηκικού ιστού είναι λιγότερο επεμβατική για την επαναφορά της ενδοκρινικής λειτουργίας, εφόσον το σημείο μεταμόσχευσης δεν βρίσκεται στην πυελική κοιλότητα. Άλλο θετικό είναι ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί με τοπική αναισθησία, ενώ στην περίπτωση που εμφανιστεί νεόπλασμα στην ωθήκη, το μόσχευμα μπορεί να αφαιρεθεί αμέσως (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Μετά από μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού έχει παρατηρηθεί έναρξη ωθηκικής λειτουργίας, επανέναρξη της λειτουργίας του ενδοκρινικού συστήματος και στρατολόγηση ωθυλακίων (Donnez & Dolmans, 2017). Επιπλέον, η μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού έχει προταθεί αποκλειστικά στο πλαίσιο της ωθηκικής αναζωογόνησης με στόχο την ωθηκική επανέναρξη, ανεξάρτητα από τους στόχους γονιμότητας (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Η μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού επέτρεψε την ορμονική αποκατάσταση για μια περίοδο επτά ετών (S. S. Kim, 2012), η οποία έχει καταγραφεί να επεκτείνεται μέχρι τα δώδεκα χρόνια όταν πραγματοποιήθηκε η ίδια επέμβαση για επόμενη φορά (Donnez & Dolmans, 2015). Σε εμμηνοπαυσιακούς ασθενείς, η τεχνική της μεταμόσχευσης ωθηκικού ιστού είναι λιγότερο επεμβατική για την επαναφορά της ενδοκρινικής λειτουργίας, εφόσον ο τόπος μεταμόσχευσης δεν βρίσκεται στην πυελική κοιλότητα. Άλλο θετικό είναι ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί με τοπική αναισθησία, ενώ στην περίπτωση που εμφανιστεί νεόπλασμα

στην ωοθήκη, το μόσχευμα μπορεί να αφαιρεθεί αμέσως (Donnez and Dolmans 2018, Sfakianoudis, Rapani et al. 2020).

Ένα σημείο που πρέπει να τονιστεί είναι ότι αυτή η επεμβατική διαδικασία ελαχιστοποιεί και θέτει σε κίνδυνο το τρέχον ωοθηκικό απόθεμα της ασθενούς (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Επίσης, η αυτόλογη μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού εμπεριέχει τον κίνδυνο της επανεισόδου καρκινικών κυττάρων στην ωοθήκη (Silber, 2012). Άλλη πιθανή επιπλοκή είναι η απόρριψη από το ανοσοποιητικό σύστημα. Είναι πιθανό όμως η αυτόλογη μεταμόσχευση, λόγω της φύσης της, να μπορεί να υπερκεράσει αυτό τον κίνδυνο (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Άλλη πιθανή παρενέργεια που έχει καταγραφεί είναι η ισχαιμία μετά από μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού (Schubert et al., 2008, p. 200). Το κύριο αίτιο αυτής της παρενέργειας είναι η απουσία αναστόμωσης αγγείων κατά την διάρκεια της διαδικασίας μεταμόσχευσης του ωοθηκικού ιστού. Το αποτέλεσμα είναι πως ο νέος ωοθηκικός ιστός παραμένει για πέντε μέρες σε ένα περιβάλλον υποξικό και ισχαιμικό, κάτι που απαιτεί άμεση παρέμβαση για την πρόκληση νεοαγγείωσης (Van Eyck et al., 2009). Πολλές μέθοδοι έχουν αποπειραθεί να βελτιστοποιήσουν το αποτέλεσμα της επέμβασης, συμπεριλαμβανομένου την χρήση αυξητικών παραγόντων ως βοηθητικό εργαλείο στην επίτευξη νεοαγγείωσης σε ένα λογικό χρονικό πλαίσιο (Kong, Lee et al. 2017). Ένα άλλο δύσκολο κομμάτι της τεχνικής της μεταμόσχευσης ωοθηκικού ιστού είναι η τεχνική της κρυοσυντήρησης και η αντίστοιχη αποτελεσματικότητά της. Η ίδια η τεχνική της κρυοσυντήρησης είναι αυτή που μπορεί να οδηγήσει σε λιγότερο επιθυμητό αποτέλεσμα, παρά η τεχνική της μεταμόσχευσης.

Τεχνητή ωοθήκη

Πριν τον σχεδιασμό και την εφαρμογή τεχνικών όπως η μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού, έχει προταθεί ένα ακόμα βήμα, σε μία προσπάθεια να καταπολεμηθεί ο κίνδυνος επανεμφάνισης της ασθένειας. Αυτό περιλαμβάνει την δημιουργία ωοθηκικού ιστού και την καλλιέργεια και συλλογή ωοκυττάρων (Pangas et al., 2003). Έχει γίνει προσπάθεια για την ανασυγκρότηση μιας τρισδιάστατης τεχνητής ωοθήκης για την επιτυχή ανάπτυξη και ωρίμανση ανθρώπινων ωοκυττάρων (Krotz et al., 2010). Οι περισσότερες παλαιότερες προσπάθειες έχουν αποτύχει λόγω της αποτυχίας εφαρμογής μιας σταθερής δομής ενώ

απουσιάζουν οι απαραίτητες ζωτικές ενδοκρινής και παρακρινής οδοί (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Υπάρχουν τρεις τύποι ωθητικών κυττάρων, τα κύτταρα της θήκης, τα κοκκιώδη κύτταρα και τα ωκύτταρα (Krotz et al., 2010). Με την συμμετοχή των κυττάρων της θήκης ως ένα βασικό στοιχείο της τρισδιάστατης ωθήκης, επιτυγχάνεται παραγωγή ορμονών. Η επικοινωνία μεταξύ των κυτταρικών τύπων παρατηρήθηκε ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη ενός φυσιολογικού μοντέλου. Κάτω από αυτές τις συνθήκες μπορεί να επιτευχθεί η ωρίμανση και η ανάπτυξη των πρωτογενών ωθυλακίων. Η προσέγγιση αυτή αποτελεί αδιαμφισβήτητη καινοτομία, όμως, ως κλειστό σύστημα, δεν παρουσιάζει την πολυπλοκότητα των αναρίθμητων αλληλεπιδράσεων με τα άλλα συστήματα (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Η ανάπτυξη στρατηγικών βιοτεχνολογίας για την επαναφορά της γονιμότητας στις ασθενείς και την αντιμετώπιση της ωθητικής ανεπάρκειας περιλαμβάνει την μεταμόσχευση φρέσκου ή κρυοσυντηρούμενου ωθητικού ιστού και τεχνητού ιστού με την εφαρμογή αυξητικών παραγόντων, βλαστικών κυττάρων, πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων, μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων και βιοϋλικών (Kuo et al., 2017).

Καθώς το ποσοστό των ασθενών που επιβιώνουν από καρκίνο αυξάνεται, αυξάνεται και ο αριθμός των ασθενών που θα αντιμετωπίζουν προβλήματα γονιμότητας, τα οποία ίσως οφείλονται στην βλάβη των γονάδων κατά την διάρκεια της θεραπείας (S.-Y. Kim et al., 2016). Οι επιτυχημένες προσπάθειες κρυοσυντήρησης ωθητικού ιστού με επακόλουθη μεταμόσχευση, αποκαλύπτουν πολύτιμα δεδομένα στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας αυτής. Λίγα είναι γνωστά για την καταλληλότητα της μεθόδου αυτής όσον αφορά την πρόληψη της έναρξης της εμμηνόπαυσης, ένας προβληματισμός που αποκτά όλο και περισσότερο έδαφος στην σημερινή εποχή. Επιπροσθέτως, τίθενται ζητήματα βιοηθικής σε καταστάσεις, όπου ευαίσθητος ιστός εκτίθεται σε απαιτητικό περιβάλλον, αυξάνοντας τον κίνδυνο να προκληθούν επιγενετικές τροποποιήσεις (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020).

Τεχνητοί γαμέτες

Υπάρχουν τέσσερις βασικοί τύποι κυττάρων που χρησιμοποιούνται στον σχηματισμό των τεχνητών γαμετών, τα βλαστικά κύτταρα της βλαστικής γραμμής, τα προκλητά πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (induced pluripotent stem cells, iPSCs), εμβρυονικά βλαστικά

κύτταρα στα οποία έχει μεταφερθεί ο πυρήνας σωματικών κυττάρων (somatic cell nuclear transfer, SCNT) και μεταφορά πυρήνων σωματικών κυττάρων σε ωκύτταρα. Επιτυχημένη εφαρμογή που καταλήγει σε γεννήσεις ζωντανών απογόνων μετά από δημιουργία τεχνητών γαμετών έχει καταγραφεί μόνο σε ζωικά μοντέλα (S. Hendriks et al., 2015). Εξ' ορισμού λοιπόν, η χρήση τεχνητών γαμετών θεωρείται πειραματική θεραπεία. Η επιλογή των τεχνητών γαμετών έχει προταθεί ως μια εναλλακτική επιλογή για τις ασθενείς που δεν έχουν την δυνατότητα να παράγουν λειτουργικούς γαμέτες όπως γυναίκες με πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια (Moreno et al., 2015).

Στον άνθρωπο, η ανάπτυξη των τεχνητών ωκυττάρων έχει περιγραφεί, ενώ επιτυχημένη γονιμοποίηση έχει σημειωθεί σε μία δημοσιευμένη μελέτη (S. Hendriks et al., 2015). Ανθρώπινα ωγόνια μεταφέρθηκαν σε ανθρώπινο ωθηκικό ιστό και μεταμοσχεύτηκαν ως αλλομόσχευμα σε ποντίκια οδήγησαν στην δημιουργία τεχνητών ωκυττάρων (White et al., 2012). Ωστόσο, η διαφοροποίηση των εμβρυονικών κυττάρων σε συστήματα καλλιέργειας παρουσιάζει συγκεκριμένες δυσκολίες στην εφαρμογή της. Ανθρώπινα αμνιοτικά βλαστικά κύτταρα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε μια προσπάθεια να σχηματιστούν τεχνητοί γαμέτες (Cheng et al., 2012). Από την άλλη η χρήση ανθρώπινων ηπατικών κυτταρικών γραμμών με στόχο την ανάπτυξη κυττάρων βλαστικής γραμμής, είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία δομών παρόμοιων με ωθυλάκια, δομών παρόμοιων με βλαστοκύστες και όγκους εμβρυονικών και βλαστικών κυττάρων μετά από παρατεταμένη καλλιέργεια (Ma et al., 2013).

Θεραπεία αντικατάστασης μιτοχονδρίων

Στο πλαίσιο της ART, και κυρίως λόγω ζήτησης από την πλευρά των ασθενών, η κλινική εφαρμογή πειραματικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας μπορεί να αποτελέσει επιλογή (Urman et al., 2019). Για τον λόγο αυτό, είναι υψίστης σημασίας η σχολαστική διερεύνηση καινοτόμων προσεγγίσεων πριν προχωρήσουμε σε κλινική πρακτική ρουτίνας (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Από μια διαφορετική οπτική γωνία και λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι ένα από τα καθοριστικά χαρακτηριστικά που παρατηρείται στις ασθενείς με POR είναι η προχωρημένη ηλικία, οι κλινικοί γιατροί θα πρέπει να εστιάζουν όχι μόνο στον αριθμό των ωαρίων που ανακτώνται αλλά και στην ποιότητά τους,

η οποία θα καθορίσει τη δυναμική των εμβρύων.

Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία έχει προταθεί ως παράμετρος που θα μπορούσε να υπαγορεύσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του ωαρίου (Benton et al., 2011). Οι μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA, που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ζωής αποτελούν αιτία για διαταραχές στην μιτοχονδριακή λειτουργία (Benton et al., 2011). Λαμβάνοντας υπόψιν τον κομβικό ρόλο των μιτοχονδρίων στον έλεγχο των ενεργειακών απαιτήσεων των ωαρίων, καθώς και το γεγονός ότι η μείωση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ενέργεια, η βλάβη του μιτοχονδριακού DNA και τα επακόλουθα προβλήματα στην παραγωγή ενέργειας μπορεί επίσης να επηρεάσει κρίσιμες κυτταρικές λειτουργίες (Eichenlaub-Ritter et al., 2011).

Λαμβάνοντας υπόψιν αυτές τις παρατηρήσεις, διαμορφώθηκε η υπόθεση της χρήσης μιτοχονδρίων από μία νεαρή υγιή δότρια προκειμένου να ενισχυθεί η αναπαραγωγική ικανότητα των ωαρίων και να παρέχεται καλύτερο περιβάλλον κατά τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του προεμφυτευτικού εμβρύου (Darbandi et al., 2017). Η ιδέα της μεταφοράς ωσπλάσματος, που εισήχθη κυρίως από τον Cohen οδήγησε σε αναφορές κλινικής εγκυμοσύνης και γεννήσεων ζώντων νεογνών, μέχρι το 2001, όταν ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) αποφάσισε να απαγορεύσει την εφαρμογή της, λόγω ηθικών και ιατρικών ανησυχιών (Barritt et al., 2001; Cohen et al., 1998).

Πρόσφατα, παρουσιάστηκε στη βιβλιογραφία μια νέα πτυχή αυτής της τεχνικής. Η AUGMENT περιέγραψε την Αυτόλογη Μεταφορά Μιτοχονδριακής Ενέργειας από την Βλαστική Γραμμή (Autologous Germline Mitochondrial Energy Transfer - AUGMENT). Το πρωτόκολλό τους περιλαμβάνει την απομόνωση μιτοχονδρίων από τα βλαστικά κύτταρα των ωογονίων (OSCs) του ασθενούς, τα οποία επεξεργάζονται και εγχέονται στα ωάρια του ίδιου του ασθενούς κατά τη διάρκεια της ICSI (Cozzolino et al., 2019; Mobarak et al., 2019). Τα αποτελέσματα απέτυχαν να δείξουν αποτελεσματικότητα μέσω αυτής της νέας τεχνικής, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι πιθανό η αυτόλογη μεταφορά μιτοχονδρίων να είναι κατάλληλη για έναν συγκεκριμένο πληθυσμό που δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Από την άλλη πλευρά, η ετερόλογη μεταφορά μιτοχονδρίων, γνωστή ως θεραπεία αντικατάστασης μιτοχονδρίων (MRT), εμφανίστηκε πρόσφατα με τέσσερα διαθέσιμα πρωτόκολλα, δηλαδή την προπυρηνική μεταφορά (PNT), τη μεταφορά πολικού σωματίου (PBT), τη μεταφορά μητρικής ατράκτου (MST) και τη μεταφορά βλαστικών κυστιδίων (GVT) (Labarta et al., 2019; Tachibana et al., 2018). Η τεχνική αυτή έχει χρησιμοποιηθεί για λόγους αποφυγής της μετάδοσης μιτοχονδριακών ασθενειών (Greenfield et al., 2017; Herbert & Turnbull, 2018).

Η εφαρμογή αυτής της τεχνικής έχει προταθεί για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων της εξωσωματικής γονιμοποίησης ασθενών με POR. Αυτό έχει εγείρει σημαντικές ηθικές ανησυχίες στον κόσμο της ART. Η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας (ESHRE) εξέδωσε επίσημη θέση με την οποία εκφράζει έντονη αποδοκιμασία όσον αφορά την εφαρμογή της τεχνικής για ασθενείς με POR. Μέχρι τώρα, δεν υπήρχαν αξιόπιστα ή έστω επαρκή δεδομένα που να υποδεικνύουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, η οποία διατηρεί επί του παρόντος το πειραματικό της καθεστώς.

Συζήτηση

Μια πληθώρα επιλογών και στρατηγικών έχουν προταθεί μέσα από την τρέχουσα βιβλιογραφία για την αντιμετώπιση των φτωχών απαντητριών (F. Ubaldi et al., 2014). Τεχνικές όπως οι τεχνητοί γαμέτες και η ανάπτυξη τεχνητής ωοθήκης, παρότι ελπιδοφόρες, δεν είναι ακόμη ευρέως διαδεδομένες λόγω των ελλειπών ερευνών και των ερωτημάτων που γεννώνται σε σχέση με την βιοηθική (Sfakianoudis, Rapani, et al., 2020). Αυτού του είδους οι τεχνικές μαζί με την αυτόλογη μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού που απαιτεί την συλλογή ιστού πριν την αναγνώριση των σημείων της ωοθηκικής ανεπάρκειας, έχουν καλύτερη προσέγγιση σε ομάδες καρκινοπαθών ή γυναικών που επέζησαν από καρκίνο (Oktay & Karlikaya, 2000). Η θεραπεία με PRP είναι πολλά υποσχόμενη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την αναζωογόνηση μετεμμηνοπαυσιακών ωοθηκών (Martinez-Zarata et al., 2016). Παρόμοια ομάδα-στόχο έχει και η θεραπεία με βλαστικά κύτταρα, ήτοι γυναίκες με ωοθηκική ανεπάρκεια λόγω ηλικίας (Herraiz et al., 2018). Η αποτελεσματικότητα και ο ασφαλής τρόπος χορήγησης μένουν ακόμη να αποσαφηνιστούν μέσα από μελλοντικές εμπειριστατωμένες μελέτες.

Από τις διαθέσιμες επιλογές θεραπείας αντικατάστασης μιτοχονδρίων, καμιά δεν έχει λάβει έγκριση από φορείς όπως η European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), λόγω των πολλών προβληματισμών που αφορούν τη διαδικασία αυτή. Δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να εγγυώνται την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της μεθόδου, κάτι που φαίνεται από τα αντικρουόμενα αποτελέσματα μελετών που έχουν δημοσιευθεί στην διεθνή βιβλιογραφία (Giannelou et al., 2020).

Η τρέχουσα βιβλιογραφία, με την περιγραφή περιστατικών και πιλοτικών μελετών

περιγράφει την εφαρμογή των νέων αυτών τεχνικών, χωρίς όμως να έχουν φτάσει ακόμη στο στάδιο της κλινικής εφαρμογής. Η ποικιλία των διαφορετικών προσεγγίσεων, συμπεριλαμβάνοντας τα βλαστικά κύτταρα, το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, τη μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού, το σχηματισμό τεχνητών γαμετών, ακόμα και η νεότερη τεχνική της θεραπείας αντικατάστασης μιτοχονδρίων απαιτεί έμπειρο και εξειδικευμένο προσωπικό (Sfakianoudis, Rapani et al. 2020). Παρά τις διαφορές στο νομικό πλαίσιο μεταξύ των χωρών σχετικά με την εφαρμογή νεότερων τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, οι ασθενείς μπορούν να έχουν πρόσβαση σε τέτοιες θεραπείες μέσω του ιατρικού τουρισμού στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Simoroulou, Sfakianoudis et al. 2019).

Μέχρι σήμερα, δεν έχει καθιερωθεί μια κοινώς αποδεκτή στρατηγική θεραπείας για την POR. Αυτό μπορεί να υποδεικνύει ότι τα υπάρχοντα πρωτόκολλα και οι τρέχουσες προσεγγίσεις μπορεί να παρουσιάζουν μη επαρκή αποτελεσματικότητα κατά την αντιμετώπιση της εξαιρετικά περίπλοκης κατάστασης της ωθηκικής ανεπάρκειας που περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα παθοφυσιολογικών καταστάσεων. Αυτή η πραγματικότητα, σε συνδυασμό με την παρατηρούμενη απαίτηση των ασθενών να εξαντλήσουν όλες τις πιθανές επιλογές πριν καταφύγουν στη δωρεά ωαρίων, λειτουργεί ως κινητήριο μοχλός για τη διερεύνηση, το σχεδιασμό και την εφαρμογή καινοτόμων πρωτοκόλλων.

Τα τελευταία χρόνια, οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη διερεύνηση νέων προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση της POR στο πλαίσιο της αποκατάστασης του επιβαρυσμένου μικροπεριβάλλοντος των ωθηκών που παρατηρείται στις ασθενείς με POR. Η βασική έρευνα που διεξάγεται σε ζωικά μοντέλα έχει δώσει πολλά υποσχόμενα δεδομένα, εστιάζοντας κυρίως στη μετατροπή αρχέγονων ωαρίων ή των εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων σε ωάρια ικανά να γονιμοποιηθούν. Αυτές οι καινοτόμες επιλογές δημιουργούν ελπίδα και εμπλουτίζουν τις επιλογές μας που επεκτείνονται στη θεραπεία της POR. Παρόλα αυτά, θα πρέπει να διεξαχθούν μελέτες σχετικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα αλλά και να αντιμετωπιστούν διάφορα βιοηθικά ζητήματα που άπτονται στην προοπτική εφαρμογής.

Έχει μεγάλη σημασία να τονιστεί ότι όλες οι προσεγγίσεις που αναφέρθηκαν και συμπεριλήφθηκαν πιο πάνω, είναι ελπιδοφόρες τεχνικές που στοχεύουν να καταπολεμήσουν την υπογονιμότητα η οποία σχετίζεται με ωθηκική ανεπάρκεια. Οι επιστημονικές κοινότητες της αναπαραγωγικής ιατρικής έχουν στο παρελθόν τοποθετηθεί με κατευθυντήριες οδηγίες στην περίπτωση που μια συγκεκριμένη τεχνική μπορούσε να περάσει από τη φάση πειράματος σε φάση ικανή να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια στην καθημερινή κλινική πράξη.

Ένα τέτοιο παράδειγμα ήταν η κατάψυξη ωαρίων (Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology, 2013).

Η μοναδική, επαρκώς μελετημένη και κοινώς αποδεκτή τεχνική διατήρησης γονιμότητας είναι η κρυοσυντήρηση εμβρύων και ωαρίων (Cobo et al., 2010). Η πρώτη καταγεγραμμένη επιτυχής εγκυμοσύνη μετά από κρυοσυντήρηση εμβρύου καταγράφηκε το 1983. Η κατάψυξη ωαρίων έχει μελετηθεί περισσότερο την τελευταία δεκαετία για την διατήρηση της γονιμότητας γυναικών που πρόκειται να υποβληθούν σε θεραπεία καρκίνου και σε εκείνες που προγραμματίζουν να τεκνοποιήσουν αργότερα στη ζωή τους (Noyes et al., 2009). Τα αποψυγμένα ωοκύτταρα φαίνεται να έχουν παρόμοια πιθανότητα γονιμοποίησης και εμφύτευσης με τα φρέσκα (Cobo & Diaz, 2011). Οι νέες μέθοδοι αναθέρμανσης επιτρέπουν την αυξημένη επιβίωση του ωαρίου και δεν παρατηρούνται αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών στα νεογνά μετά από αυτές τις διαδικασίες (Rafael et al., 2022).

Σε κάθε περίπτωση, δεν υπάρχουν δυνατά στοιχεία για τις παρούσες τεχνικές έτσι ώστε να μεταβούν από την πειραματική τους ιδιότητα στην κλινική ρουτίνα. Στο μέλλον, σωστά σχεδιασμένες μελέτες που παρουσιάζουν με σαφήνεια τα αποτελέσματα, τους περιορισμούς και τις επιπλοκές των μελετών, ενώ εκτιμάται ταυτόχρονα η δυνατότητα επανάληψης του πειράματος, μπορεί να συμβάλουν στο να ληφθεί ένα ασφαλές συμπέρασμα στο αν η εισαγωγή των μεθόδων αυτών στην καθημερινή κλινική ρουτίνα μπορεί να γίνει με ασφάλεια ή μπορεί να υπάρξουν απρόβλεπτες παρενέργειες. Επιπλέον, ο διαχωρισμός του προφίλ των ασθενών που ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένες προσεγγίσεις και τον βαθμό στον οποίο αυτές οι προσεγγίσεις επαναφέρουν την ωθητική λειτουργία μένει να εξακριβωθεί στην εποχή της εξατομικευμένης ιατρικής. Ο μοριακός μηχανισμός που εμπλέκεται στην εφαρμογή των προαναφερόμενων τεχνικών μπορεί να αποκαλυφθεί μόνο με βασική έρευνα που δίνει την δυνατότητα να απαντηθούν με βεβαιότητα ερωτήματα όπως το για ποιους μπορούν αυτές οι τεχνικές να εφαρμοστούν με αποτελεσματικότητα.

Εκτιμώντας το κόστος και την αποτελεσματικότητα των προαναφερόμενων τεχνικών, δεν θα πρέπει να αμεληθεί το οικονομικό και ψυχολογικό κόστος που περιλαμβάνεται σε ατομική βάση στην καταπολέμηση της ωθητικής ανεπάρκειας όταν επιλέγεται να χρησιμοποιηθούν συμβατικές και παραδοσιακές μορφές δωρεάς ωαρίων. Στην ιατρική πολλές φορές καταφεύγουμε σε νέες ιδέες αποκλειστικά στηριζόμενοι σε ελπιδοφόρα αλλά

περιορισμένα δεδομένα τα οποία συνοδεύουν μια νέα τεχνική που καλύπτει μια ανεξερεύνητη περιοχή της ιατρικής. Είναι σημαντική η παροχή δημοσιευμένων δεδομένων τα οποία θα παρουσιάζουν με διαφάνεια και θα επιτρέπουν μια δίκαιη και αντικειμενική εκτίμηση, καθότι δεν είναι όλες οι τεχνικές το ίδιο υποσχόμενες.

Ίσως να μην υπάρχει μια υπέρτατη μέθοδος που θα περιμέναμε να ανακαλυφθεί για να καταπολεμήσει το ζήτημα της πρόωρης ωθητικής ανεπάρκειας, ειδικά αν ληφθεί υπόψη η μεγάλη ετερογένεια του πληθυσμού των ασθενών. Παρόλο που νέες επιλογές γίνονται διαρκώς διαθέσιμες, μεγάλη προσοχή πρέπει να δοθεί αφού αυτές οι επιλογές εισάγονται στο προσκήνιο χωρίς τη στήριξη εμπειριστατωμένων και ορθώς σχεδιασμένων μελετών οι οποίες θα μπορούσαν να επιβεβαιώσουν την αξία τους.

Επίλογος

Οι παράμετροι που εξετάστηκαν εδώ σχετικά με την προγνωστική αξία για μια επιτυχημένη εφαρμογή της LuPOR είναι μέρος του ελέγχου ρουτίνας για την αξιολόγηση της γυναικείας υπογονιμότητας στο πλαίσιο της θεραπείας με τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Η διπλή ανάκτηση ωαρίων μπορεί να αποδειχθεί επωφελής για τις ασθενείς με POR που επιλέγουν να εξαντλήσουν τις πιθανές επιλογές πριν αποφασίσουν να προβούν στη δωρεά. Παρά το γεγονός ότι έχουν δημοσιευθεί μέχρι στιγμής αρκετές μελέτες, η διπλή ανάκτηση ωαρίων εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο διαμάχης, καθώς δεν υπάρχουν υψηλής ποιότητας δεδομένα (Labarta, 2020).

Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο να βοηθήσει τους επαγγελματίες να διακρίνουν τον βέλτιστο πληθυσμό POR που θα επωφεληθεί από αυτή την προσέγγιση. Οι παράμετροι που εξετάζονται σχετικά με την προγνωστική τους αξία προς την επιτυχή εφαρμογή της LuPOR αποτελούν μέρος της συνήθους αξιολόγησης της γυναικείας υπογονιμότητας στο πλαίσιο της θεραπείας με ART.

Το προτεινόμενο μοντέλο πρόβλεψης μπορεί να χρησιμοποιηθεί πρωτίστως για την επισήμανση των ασθενών με χαμηλή ωθητική απόκριση που θα επωφεληθούν από το LuPOR. Αυτό το μοντέλο μπορεί να υποδείξει τον ειδικό υποπληθυσμό των γυναικών με POR που θα επωφεληθούν από την ανάκτηση μεγαλύτερου αριθμού ωαρίων σε έναν μόνο

εμμηνοροϊκό κύκλο με τη χρήση του LuPOR.

Έτσι, αυτή η μελέτη μπορεί να βοηθήσει τους ειδικούς που αναζητούν την βέλτιστη προσέγγιση για την αντιμετώπιση των πτωχών απαντητριών, χωρίς να απαιτούνται περαιτέρω εξετάσεις, οι οποίες δεν περιλαμβάνονται στις τυπικές διαδικασίες. Η παρατήρηση αυτή καθιστά την εφαρμογή αυτού του μοντέλου πρόβλεψης οικονομικά αποδοτική και φιλική προς τον χρήστη τόσο για τις Μονάδες Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής όσο και για τις ασθενείς.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abu-Musa, A., Haahr, T., & Humaidan, P. (2020). Novel Physiology and Definition of Poor Ovarian Response; Clinical Recommendations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2110. <https://doi.org/10.3390/ijms21062110>
- Ackerman, K. E., Patel, K. T., Guereca, G., Pierce, L., Herzog, D. B., & Misra, M. (2013). Cortisol secretory parameters in young exercisers in relation to LH secretion and bone parameters. *Clinical Endocrinology*, 78(1), 114–119. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2012.04458.x>
- Agarwal, A., Majzoub, A., Baskaran, S., Panner Selvam, M. K., Cho, C. L., Henkel, R., Finelli, R., Leisegang, K., Sengupta, P., Barbarosie, C., Parekh, N., Alves, M. G., Ko, E., Arafa, M., Tadros, N., Ramasamy, R., Kavoussi, P., Ambar, R., Kuchakulla, M., ... Shah, R. (2020). Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. *The World Journal of Men's Health*, 38(4), 412–471. <https://doi.org/10.5534/wjmh.200128>
- Agents stimulating gonadal function in the human. Report of a WHO scientific group. (1973). *World Health Organization Technical Report Series*, 514, 1–30.
- Alviggi, C., Conforti, A., Carbone, I. F., Borrelli, R., de Placido, G., & Guerriero, S. (2018). Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: Systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 51(1), 54–63. <https://doi.org/10.1002/uog.18942>
- Alviggi, C., Conforti, A., Esteves, S. C., Vallone, R., Venturella, R., Staiano, S., Castaldo, E., Andersen, C. Y., & De Placido, G. (2018). Understanding Ovarian Hypo-Response to Exogenous Gonadotropin in Ovarian Stimulation and Its New Proposed Marker-The Follicle-To-Oocyte (FOI) Index. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 589. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00589>
- American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee. (2014). Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertility and Sterility*, 101(3), 633–634. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.032>
- Amisi, C. A. (2022). Markers of insulin resistance in Polycystic ovary syndrome women: An update. *World Journal of Diabetes*, 13(3), 129–149. <https://doi.org/10.4239/wjd.v13.i3.129>
- Andersen, C. Y., Rosendahl, M., Byskov, A. G., Loft, A., Ottosen, C., Dueholm, M., Schmidt, K. L. T.,

- Andersen, A. N., & Ernst, E. (2008). Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *23*(10), 2266–2272. <https://doi.org/10.1093/humrep/den244>
- Bachelot, A., Rouxel, A., Massin, N., Dulon, J., Courtillot, C., Matuchansky, C., Badachi, Y., Fortin, A., Paniel, B., Lecuru, F., Lefrère-Belda, M.-A., Constancis, E., Thibault, E., Meduri, G., Guiochon-Mantel, A., Misrahi, M., Kuttann, F., Touraine, P., & POF-GIS Study Group. (2009). Phenotyping and genetic studies of 357 consecutive patients presenting with premature ovarian failure. *European Journal of Endocrinology*, *161*(1), 179–187. <https://doi.org/10.1530/EJE-09-0231>
- Baerwald, A., & Pierson, R. (2020). Ovarian follicular waves during the menstrual cycle: Physiologic insights into novel approaches for ovarian stimulation. *Fertility and Sterility*, *114*(3), 443–457. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.008>
- Baerwald, A. R., Adams, G. P., & Pierson, R. A. (2003). A new model for ovarian follicular development during the human menstrual cycle. *Fertility and Sterility*, *80*(1), 116–122. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)00544-2](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)00544-2)
- Baerwald, A. R., Adams, G. P., & Pierson, R. A. (2012). Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: A review. *Human Reproduction Update*, *18*(1), 73–91. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr039>
- Bala, J., Seth, S., Dhankhar, R., & Ghalaut, V. S. (2016). Chemotherapy: Impact on Anti-Müllerian Hormone Levels in Breast Carcinoma. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, *10*(2), BC19–BC21. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/15933.7328>
- Balasz, J., & Fábregues, F. (2003). Pregnancy after administration of high dose recombinant human LH alone to support final stages of follicular maturation in a woman with long-standing hypogonadotrophic hypogonadism. *Reproductive BioMedicine Online*, *6*(4), 427–431. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62162-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62162-1)
- Barbieri, R. L. (2014). The endocrinology of the menstrual cycle. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *1154*, 145–169. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0659-8_7
- Barritt, J. A., Brenner, C. A., Malter, H. E., & Cohen, J. (2001). Mitochondria in human offspring derived from ooplasmic transplantation. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *16*(3), 513–516.

<https://doi.org/10.1093/humrep/16.3.513>

- Bastu, E., Buyru, F., Ozsurmeli, M., Demiral, I., Dogan, M., & Yeh, J. (2016). A randomized, single-blind, prospective trial comparing three different gonadotropin doses with or without addition of letrozole during ovulation stimulation in patients with poor ovarian response. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, *203*, 30–34.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.05.027>
- Baudat, F., Imai, Y., & de Massy, B. (2013). Meiotic recombination in mammals: Localization and regulation. *Nature Reviews. Genetics*, *14*(11), 794–806. <https://doi.org/10.1038/nrg3573>
- Bechtejew, T. N., Nadai, M. N., Nastri, C. O., & Martins, W. P. (2017). Clomiphene citrate and letrozole to reduce follicle-stimulating hormone consumption during ovarian stimulation: Systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, *50*(3), 315–323.
<https://doi.org/10.1002/uog.17442>
- Bedoschi, G. M., de Albuquerque, F. O., Ferriani, R. A., & Navarro, P. A. (2010). Ovarian stimulation during the luteal phase for fertility preservation of cancer patients: Case reports and review of the literature. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *27*(8), 491–494.
<https://doi.org/10.1007/s10815-010-9429-0>
- Bentov, Y., Esfandiari, N., Gokturk, A., Burstein, E., Fainaru, O., & Casper, R. F. (2010). An ongoing pregnancy from two waves of follicles developing during a long follicular phase of the same cycle. *Fertility and Sterility*, *94*(1), 350.e8-11. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.12.033>
- Bentov, Y., Yavorska, T., Esfandiari, N., Jurisicova, A., & Casper, R. F. (2011). The contribution of mitochondrial function to reproductive aging. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *28*(9), 773–783. <https://doi.org/10.1007/s10815-011-9588-7>
- Bosdou, J. K., Venetis, C. A., Kolibianakis, E. M., Toulis, K. A., Goulis, D. G., Zepiridis, L., & Tarlatzis, B. C. (2012). The use of androgens or androgen-modulating agents in poor responders undergoing in vitro fertilization: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, *18*(2), 127–145. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr051>
- Boza, A., Oguz, S. Y., Misirlioglu, S., Yakin, K., & Urman, B. (2018). Utilization of the Bologna criteria: A promise unfulfilled? A review of published and unpublished/ongoing trials. *Fertility and*

- Sterility*, 109(1), 104-109.e2. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.09.024>
- Britt, K. L., Saunders, P. K., McPherson, S. J., Misso, M. L., Simpson, E. R., & Findlay, J. K. (2004). Estrogen Actions on Follicle Formation and Early Follicle Development. *Biology of Reproduction*, 71(5), 1712–1723. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.028175>
- Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J., Mol, B. W., & Lambalk, C. B. (2006). A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update*, 12(6), 685–718. <https://doi.org/10.1093/humupd/dml034>
- Bulun, S. E. (2009). Endometriosis. *The New England Journal of Medicine*, 360(3), 268–279. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804690>
- Capalbo, A., Hoffmann, E. R., Cimadomo, D., Maria Ubaldi, F., & Rienzi, L. (2017). Human female meiosis revised: New insights into the mechanisms of chromosome segregation and aneuploidies from advanced genomics and time-lapse imaging. *Human Reproduction Update*, 23(6), 706–722. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx026>
- Capalbo, A., Rienzi, L., Cimadomo, D., Maggiulli, R., Elliott, T., Wright, G., Nagy, Z. P., & Ubaldi, F. M. (2014). Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: An observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 29(6), 1173–1181. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu033>
- Caprio, F., D’Eufemia, M. D., Trotta, C., Campitiello, M. R., Ianniello, R., Mele, D., & Colacurci, N. (2015). Myo-inositol therapy for poor-responders during IVF: A prospective controlled observational trial. *Journal of Ovarian Research*, 8, 37. <https://doi.org/10.1186/s13048-015-0167-x>
- Cardoso, M. C. de A., Evangelista, A., Sartório, C., Vaz, G., Werneck, C. L. V., Guimarães, F. M., Sá, P. G. de, & Erthal, M. C. (2017). Can ovarian double-stimulation in the same menstrual cycle improve IVF outcomes. *JBRA Assisted Reproduction*, 21(3), 217–221. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20170042>
- Carrell, D. T., Nyboe Andersen, A., & Lamb, D. J. (2015). The need to improve patient care through discriminate use of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and improved understanding of spermatozoa, oocyte and embryo biology. *Andrology*, 3(2), 143–146. <https://doi.org/10.1111/andr.12034>

- Carson, S. A., & Kallen, A. N. (2021). Diagnosis and Management of Infertility. *JAMA*, *326*(1), 65–76.
<https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788>
- Chan, Y. Y., Jayaprakasan, K., Tan, A., Thornton, J. G., Coomarasamy, A., & Raine-Fenning, N. J. (2011). Reproductive outcomes in women with congenital uterine anomalies: A systematic review. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, *38*(4), 371–382. <https://doi.org/10.1002/uog.10056>
- Chatziparasidou, A., Nijs, M., Moisidou, M., Chara, O., Ioakeimidou, C., Pappas, C., & Christoforidis, N. (2013). Accumulation of oocytes and/or embryos by vitrification: A new strategy for managing poor responder patients undergoing pre implantation diagnosis. *F1000Research*, *2*, 240.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.2-240.v2>
- Cheng, X., Chen, S., Yu, X., Zheng, P., & Wang, H. (2012). BMP15 gene is activated during human amniotic fluid stem cell differentiation into oocyte-like cells. *DNA and Cell Biology*, *31*(7), 1198–1204. <https://doi.org/10.1089/dna.2011.1396>
- Chern, C.-U., Tsui, K.-H., Vitale, S. G., Chen, S.-N., Wang, P.-H., Cianci, A., Tsai, H.-W., Wen, Z.-H., & Lin, L.-T. (2018). Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation improves in vitro fertilization outcomes of poor ovarian responders, especially in women with low serum concentration of DHEA-S: A retrospective cohort study. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, *16*(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0409-z>
- Child, T., Leonard, S. A., Evans, J. S., & Lass, A. (2018). Systematic review of the clinical efficacy of vaginal progesterone for luteal phase support in assisted reproductive technology cycles. *Reproductive Biomedicine Online*, *36*(6), 630–645. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.02.001>
- Choe, J., & Shanks, A. L. (2023). In Vitro Fertilization. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562266/>
- Christianson, M. S., & Segars, J. (2018). Unleashing the potential of stem cells to help poor responders. *Fertility and Sterility*, *110*(3), 410–411. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.011>
- Cimadomo, D., Fabozzi, G., Vaiarelli, A., Ubaldi, N., Ubaldi, F. M., & Rienzi, L. (2018). Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence. *Frontiers in Endocrinology*, *9*, 327.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00327>
- Coast, E., Lattof, S. R., & Strong, J. (2019). Puberty and menstruation knowledge among young

- adolescents in low- and middle-income countries: A scoping review. *International Journal of Public Health*, 64(2), 293–304. <https://doi.org/10.1007/s00038-019-01209-0>
- Cobo, A., & Diaz, C. (2011). Clinical application of oocyte vitrification: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertility and Sterility*, 96(2), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.06.030>
- Cobo, A., García-Velasco, J. A., Coello, A., Domingo, J., Pellicer, A., & Remohí, J. (2016). Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertility and Sterility*, 105(3), 755–764.e8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.027>
- Cobo, A., Garrido, N., Crespo, J., José, R., & Pellicer, A. (2012). Accumulation of oocytes: A new strategy for managing low-responder patients. *Reproductive Biomedicine Online*, 24(4), 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.12.012>
- Cobo, A., Meseguer, M., Remohí, J., & Pellicer, A. (2010). Use of cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: A prospective, randomized, controlled, clinical trial. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 25(9), 2239–2246. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq146>
- Cohen, J., Scott, R., Alikani, M., Schimmel, T., Munné, S., Levron, J., Wu, L., Brenner, C., Warner, C., & Willadsen, S. (1998). Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Molecular Human Reproduction*, 4(3), 269–280. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.3.269>
- Committee opinion: Role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology. (2012). *Fertility and Sterility*, 97(3), 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.12.031>
- Conforti, A., Esteves, S. C., Di Rella, F., Strina, I., De Rosa, P., Fiorenza, A., Zullo, F., De Placido, G., & Alviggi, C. (2019). The role of recombinant LH in women with hypo-response to controlled ovarian stimulation: A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 17(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12958-019-0460-4>
- Cox, C. M., Thoma, M. E., Tchangalova, N., Mburu, G., Bornstein, M. J., Johnson, C. L., & Kiarie, J. (2022). Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Open*, 2022(4), hoac051. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>
- Cozzolino, M., Marin, D., & Sisti, G. (2019). New Frontiers in IVF: MtDNA and autologous germline mitochondrial energy transfer. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 17(1), 55.

<https://doi.org/10.1186/s12958-019-0501-z>

- Crawford, N. M., & Steiner, A. Z. (2015). Age-related Infertility. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 42(1), 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2014.09.005>
- Dahdouh, E. M., Balayla, J., & García-Velasco, J. A. (2015). Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: A meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 104(6), 1503–1512. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.08.038>
- Dai, X., Wang, Y., Yang, H., Gao, T., Yu, C., Cao, F., Xia, X., Wu, J., Zhou, X., & Chen, L. (2020). AMH has no role in predicting oocyte quality in women with advanced age undergoing IVF/ICSI cycles. *Scientific Reports*, 10(1), 19750. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76543-y>
- Dam, P., Shirazee, H. H., Goswami, S. K., Ghosh, S., Ganesh, A., Chaudhury, K., & Chakravarty, B. (2006). Role of latent genital tuberculosis in repeated IVF failure in the Indian clinical setting. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 61(4), 223–227. <https://doi.org/10.1159/000091498>
- D'Amato, G., Caroppo, E., Pasquidibisceglie, A., Carone, D., Vitti, A., & Vizziello, G. M. (2004). A novel protocol of ovulation induction with delayed gonadotropin-releasing hormone antagonist administration combined with high-dose recombinant follicle-stimulating hormone and clomiphene citrate for poor responders and women over 35 years. *Fertility and Sterility*, 81(6), 1572–1577. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.01.022>
- Danforth, D. R., Arbogast, L. K., Ghosh, S., Dickerman, A., Rofagha, R., & Friedman, C. I. (2003). Vascular endothelial growth factor stimulates preantral follicle growth in the rat ovary. *Biology of Reproduction*, 68(5), 1736–1741. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.101.000679>
- Darbandi, S., Darbandi, M., Khorram Khorshid, H. R., Sadeghi, M. R., Agarwal, A., Sengupta, P., Al-Hasani, S., & Akhondi, M. M. (2017). Ooplasmic transfer in human oocytes: Efficacy and concerns in assisted reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 15(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s12958-017-0292-z>
- Datta, A. K., Campbell, S., Felix, N., & Nargund, G. (2019). Accumulation of embryos over 3 natural modified IVF (ICSI) cycles followed by transfer to improve the outcome of poor responders. *Facts, Views & Vision in ObGyn*, 11(1), 77–84.
- Davar, R., Neghab, N., & Naghshineh, E. (2018). Pregnancy outcome in delayed start antagonist versus microdose flare GnRH agonist protocol in poor responders undergoing IVF/ICSI: An RCT.

International Journal of Reproductive Biomedicine, 16(4), 255–260.

- Demeestere, I., Simon, P., Emiliani, S., Delbaere, A., & Englert, Y. (2009). Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Human Reproduction Update*, 15(6), 649–665.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmp021>
- Desai, S. S., Roy, B. S., & Mahale, S. D. (2013). Mutations and polymorphisms in FSH receptor: Functional implications in human reproduction. *Reproduction (Cambridge, England)*, 146(6), R235–248. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0351>
- Devine, K., Mumford, S. L., Wu, M., DeCherney, A. H., Hill, M. J., & Propst, A. (2015). Diminished ovarian reserve in the United States assisted reproductive technology population: Diagnostic trends among 181,536 cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertility and Sterility*, 104(3), 612–619.e3.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.05.017>
- Dewailly, D., Robin, G., Peigne, M., Decanter, C., Pigny, P., & Catteau-Jonard, S. (2016). Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Human Reproduction Update*, 22(6), 709–724.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmw027>
- Di Renzo, G. C., Giardina, I., Clerici, G., Mattei, A., Alajmi, A. H., & Gerli, S. (2012). The role of progesterone in maternal and fetal medicine. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 28(11), 925–932.
<https://doi.org/10.3109/09513590.2012.730576>
- Diagnostic evaluation of the infertile female: A committee opinion. (2015). *Fertility and Sterility*, 103(6), e44–e50. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.03.019>
- DiLuigi, A. J., Engmann, L., Schmidt, D. W., Benadiva, C. A., & Nulsen, J. C. (2011). A randomized trial of microdose leuprolide acetate protocol versus luteal phase ganirelix protocol in predicted poor responders. *Fertility and Sterility*, 95(8), 2531–2533.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.01.134>
- DiMattina, M., Gordon, J. D., Botes, A., Celia, G., Payson, M., & Graves-Herring, J. (2014). Follicular and estradiol parameters that improve success with natural cycle in vitro fertilization. *The Journal of Reproductive Medicine*, 59(5–6), 267–273.

- Ding, N., Liu, X., Jian, Q., Liang, Z., & Wang, F. (2017). Dual trigger of final oocyte maturation with a combination of GnRH agonist and hCG versus a hCG alone trigger in GnRH antagonist cycle for in vitro fertilization: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 218, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.09.004>
- Dólleman, M., Verschuren, W. M. M., Eijkemans, M. J. C., Dollé, M. E. T., Jansen, E. H. J. M., Broekmans, F. J. M., & van der Schouw, Y. T. (2013). Reproductive and lifestyle determinants of anti-Müllerian hormone in a large population-based study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(5), 2106–2115. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3995>
- Donnez, J., Dolmans, M. M., Demylle, D., Jadoul, P., Pirard, C., Squifflet, J., Martinez-Madrid, B., & van Langendonck, A. (2004). Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet (London, England)*, 364(9443), 1405–1410. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17222-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17222-X)
- Donnez, J., & Dolmans, M.-M. (2015). Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(8), 1167–1170. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0544-9>
- Donnez, J., & Dolmans, M.-M. (2017). Fertility Preservation in Women. *New England Journal of Medicine*, 377(17), 1657–1665. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1614676>
- Drakopoulos, P., Blockeel, C., Stoop, D., Camus, M., de Vos, M., Tournaye, H., & Polyzos, N. P. (2016). 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? *Human Reproduction (Oxford, England)*, 31(2), 370–376. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev316>
- Drakopoulos, P., Romito, A., Errázuriz, J., Santos-Ribeiro, S., Popovic-Todorovic, B., Racca, A., Tournaye, H., De Vos, M., & Blockeel, C. (2019). Modified natural cycle IVF versus conventional stimulation in advanced-age Bologna poor responders. *Reproductive Biomedicine Online*, 39(4), 698–703. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.05.009>
- Duffy, D. M., Ko, C., Jo, M., Brannstrom, M., & Curry, T. E. (2019). Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes. *Endocrine Reviews*, 40(2), 369–416. <https://doi.org/10.1210/er.2018->

- Ebrahimi, M., Akbari-Asbagh, F., & Ghalandar-Attar, M. (2017). Letrozole+ GnRH antagonist stimulation protocol in poor ovarian responders undergoing intracytoplasmic sperm injection cycles: An RCT. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, *15*(2), 101–108.
- Eichenlaub-Ritter, U., Wieczorek, M., Lüke, S., & Seidel, T. (2011). Age related changes in mitochondrial function and new approaches to study redox regulation in mammalian oocytes in response to age or maturation conditions. *Mitochondrion*, *11*(5), 783–796.
<https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.08.011>
- Elter, K., Kavak, Z. N., Gokaslan, H., & Pekin, T. (2005). Antral follicle assessment after down-regulation may be a useful tool for predicting pregnancy loss in in vitro fertilization pregnancies. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, *21*(1), 33–37. <https://doi.org/10.1080/09513590500099313>
- Endometriosis and infertility: A committee opinion. (2012). *Fertility and Sterility*, *98*(3), 591–598.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.05.031>
- Eskew, A. M., & Jungheim, E. S. (2017). A History of Developments to Improve in vitro Fertilization. *Missouri Medicine*, *114*(3), 156–159.
- Esteves, S. C., Carvalho, J. F., Bento, F. C., & Santos, J. (2019). 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. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 99. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00099>
- Esteves, S. C., Roque, M., Bedoschi, G., Haahr, T., & Humaidan, P. (2018). Intracytoplasmic sperm injection for male infertility and consequences for offspring. *Nature Reviews. Urology*, *15*(9), 535–562. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0051-8>
- European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, Webber, L., Davies, M., Anderson, R., Bartlett, J., Braat, D., Cartwright, B., Cifkova, R., de Muinck Keizer-Schrama, S., Hogervorst, E., Janse, F., Liao, L., Vlaisavljevic, V., Zillikens, C., & Vermeulen, N. (2016). ESHRE Guideline: Management of women with premature ovarian insufficiency. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *31*(5), 926–937.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dew027>

- Evans, A. C. O. (2003). Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 38(4), 240–246.
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00439.x>
- Farimani, M., Heshmati, S., Poorolajal, J., & Bahmanzadeh, M. (2019). A report on three live births in women with poor ovarian response following intra-ovarian injection of platelet-rich plasma (PRP). *Molecular Biology Reports*, 46(2), 1611–1616. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04609-w>
- Farquhar, C., Marjoribanks, J., Brown, J., Fauser, B. C. J. M., Lethaby, A., Mourad, S., Rebar, R., Showell, M., & van der Poel, S. (2017). Management of ovarian stimulation for IVF: Narrative review of evidence provided for World Health Organization guidance. *Reproductive Biomedicine Online*, 35(1), 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.03.024>
- Fatemi, H. M., Doody, K., Griesinger, G., Witjes, H., & Mannaerts, B. (2013). High ovarian response does not jeopardize ongoing pregnancy rates and increases cumulative pregnancy rates in a GnRH-antagonist protocol. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 28(2), 442–452.
<https://doi.org/10.1093/humrep/des389>
- Fazeli, Z., Abedindo, A., Omrani, M. D., & Ghaderian, S. M. H. (2018). Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Therapy for Recovery of Fertility: A Systematic Review. *Stem Cell Reviews and Reports*, 14(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s12015-017-9765-x>
- Ferraretti, A. P., & Gianaroli, L. (2014). The Bologna criteria for the definition of poor ovarian responders: Is there a need for revision? *Human Reproduction (Oxford, England)*, 29(9), 1842–1845. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu139>
- Ferraretti, A. P., La Marca, A., Fauser, B. C. J. M., Tarlatzis, B., Nargund, G., Gianaroli, L., & ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. (2011). ESHRE consensus on the definition of “poor response” to ovarian stimulation for in vitro fertilization: The Bologna criteria. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 26(7), 1616–1624.
<https://doi.org/10.1093/humrep/der092>
- Fertility treatment 2019: Trends and figures | HFEA*. (n.d.). Retrieved October 31, 2022, from <https://www.hfea.gov.uk/about-us/publications/research-and-data/fertility-treatment-2019-trends-and-figures/#Section4>

- Filicori, M., Cognigni, G. E., Gamberini, E., Parmegiani, L., Troilo, E., & Roset, B. (2005). Efficacy of low-dose human chorionic gonadotropin alone to complete controlled ovarian stimulation. *Fertility and Sterility*, *84*(2), 394–401. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.02.036>
- Forman, E. J., Hong, K. H., Ferry, K. M., Tao, X., Taylor, D., Levy, B., Treff, N. R., & Scott, R. T. (2013). In vitro fertilization with single euploid blastocyst transfer: A randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*, *100*(1), 100-107.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.02.056>
- Galey-Fontaine, J., Cédric-Durnerin, I., Chaïbi, R., Massin, N., & Hugues, J.-N. (2005). Age and ovarian reserve are distinct predictive factors of cycle outcome in low responders. *Reproductive Biomedicine Online*, *10*(1), 94–99. [https://doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)60808-5](https://doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60808-5)
- Gallos, I. D., Eapen, A., Price, M. J., Sunkara, S. K., Macklon, N. S., Bhattacharya, S., Khalaf, Y., Tobias, A., Deeks, J. J., Rajkhowa, M., & Coomarasamy, A. (2017). Controlled ovarian stimulation protocols for assisted reproduction: A network meta-analysis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *2017*(3), CD012586. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012586>
- Ghumman, S., & Saxena, P. (2015). Obesity and Its Impact on Ovarian Stimulation. In S. Ghumman (Ed.), *Principles and Practice of Controlled Ovarian Stimulation in ART* (pp. 35–42). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1686-5_4
- Giannelou, P., Simopoulou, M., Grigoriadis, S., Makrakis, E., Kontogeorgi, A., Pantou, A., Galatis, D., Kalampokas, T., Bakas, P., Bolaris, S., Pantos, K., & Sfakianoudis, K. (2020). The Conundrum of Poor Ovarian Response: From Diagnosis to Treatment. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, *10*(9), E687. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10090687>
- Gibson, D. A., Simitsidellis, I., Collins, F., & Saunders, P. T. K. (2018). Endometrial Intracrinology: Oestrogens, Androgens and Endometrial Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(10), 3276. <https://doi.org/10.3390/ijms19103276>
- Ginther, O., Jacob, J., Gastal, M., Gastal, E., & Beg, M. A. (2009). Development of one vs multiple ovulatory follicles and associated systemic hormone concentrations in mares. *Reproduction in Domestic Animals*, *44*(3), 441–449. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01109.x>
- Gonda, K. J., Domar, A. D., Gleicher, N., & Marrs, R. P. (2018). Insights from clinical experience in treating IVF poor responders. *Reproductive Biomedicine Online*, *36*(1), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.09.016>

- Greenfield, A., Braude, P., Flinter, F., Lovell-Badge, R., Ogilvie, C., & Perry, A. C. F. (2017). Assisted reproductive technologies to prevent human mitochondrial disease transmission. *Nature Biotechnology*, *35*(11), 1059–1068. <https://doi.org/10.1038/nbt.3997>
- Grimbizis, G. F., Camus, M., Tarlatzis, B. C., Bontis, J. N., & Devroey, P. (2001). Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Human Reproduction Update*, *7*(2), 161–174. <https://doi.org/10.1093/humupd/7.2.161>
- Grisendi, V., Mastellari, E., & La Marca, A. (2019). Ovarian Reserve Markers to Identify Poor Responders in the Context of Poseidon Classification. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 281. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00281>
- Gruhn, J. R., Zielinska, A. P., Shukla, V., Blanshard, R., Capalbo, A., Cimadomo, D., Nikiforov, D., Chan, A. C.-H., Newnham, L. J., Vogel, I., Scarica, C., Krapchev, M., Taylor, D., Kristensen, S. G., Cheng, J., Ernst, E., Bjørn, A.-M. B., Colmorn, L. B., Blayney, M., ... Hoffmann, E. R. (2019). Chromosome errors in human eggs shape natural fertility over reproductive life span. *Science (New York, N.Y.)*, *365*(6460), 1466–1469. <https://doi.org/10.1126/science.aav7321>
- Gupta, S., Goldberg, J. M., Aziz, N., Goldberg, E., Krajcir, N., & Agarwal, A. (2008). Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertility and Sterility*, *90*(2), 247–257. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.02.093>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, *453*(7193), 314–321. <https://doi.org/10.1038/nature07039>
- Haahr, T., Dosouto, C., Alviggi, C., Esteves, S. C., & Humaidan, P. (2019). Management Strategies for POSEIDON Groups 3 and 4. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 614. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00614>
- Haas, J., & Casper, R. F. (2017). In vitro fertilization treatments with the use of clomiphene citrate or letrozole. *Fertility and Sterility*, *108*(4), 568–571. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.08.017>
- Haddad, M., Stewart, J., Xie, P., Cheung, S., Trout, A., Keating, D., Parrella, A., Lawrence, S., Rosenwaks, Z., & Palermo, G. D. (2021). Thoughts on the popularity of ICSI. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *38*(1), 101–123. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01987-0>

- Hansen, K. R., Knowlton, N. S., Thyer, A. C., Charleston, J. S., Soules, M. R., & Klein, N. A. (2008). A new model of reproductive aging: The decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *23*(3), 699–708.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dem408>
- Hart, R. J. (2019). Use of Growth Hormone in the IVF Treatment of Women With Poor Ovarian Reserve. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 500. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00500>
- He, Y., Chen, D., Yang, L., Hou, Q., Ma, H., & Xu, X. (2018). The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in premature ovarian failure. *Stem Cell Research & Therapy*, *9*(1), 263.
<https://doi.org/10.1186/s13287-018-1008-9>
- Hendriks, D. J., Mol, B.-W. J., Bancsi, L. F. J. M. M., Te Velde, E. R., & Broekmans, F. J. M. (2005). Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: A meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertility and Sterility*, *83*(2), 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.10.011>
- Hendriks, S., Dancet, E. A. F., van Pelt, A. M. M., Hamer, G., & Repping, S. (2015). Artificial gametes: A systematic review of biological progress towards clinical application. *Human Reproduction Update*, *21*(3), 285–296. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv001>
- Herbert, M., & Turnbull, D. (2018). Progress in mitochondrial replacement therapies. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *19*(2), 71–72. <https://doi.org/10.1038/nrm.2018.3>
- Herbison, A. E. (2020). A simple model of estrous cycle negative and positive feedback regulation of GnRH secretion. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *57*, 100837.
<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2020.100837>
- Herraiz, S., Romeu, M., Buigues, A., Martínez, S., Díaz-García, C., Gómez-Seguí, I., Martínez, J., Pellicer, N., & Pellicer, A. (2018). Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertility and Sterility*, *110*(3), 496–505.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.04.025>
- Ho, C.-H., Chen, S.-U., Peng, F.-S., Chang, C.-Y., Lien, Y.-R., & Yang, Y.-S. (2008). Prospective comparison of short and long GnRH agonist protocols using recombinant gonadotrophins for IVF/ICSI treatments. *Reproductive BioMedicine Online*, *16*(5), 632–639.
[https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60476-2](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60476-2)

- Ho, J. R., & Paulson, R. J. (2017). Modified natural cycle in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, *108*(4), 572–576. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.08.021>
- Holesh, J. E., Bass, A. N., & Lord, M. (2023). Physiology, Ovulation. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441996/>
- Holoch, K. J., & Lessey, B. A. (2010). Endometriosis and infertility. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, *53*(2), 429–438. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e3181db7d71>
- Hosseini, L., Shirazi, A., Naderi, M. M., Shams-Esfandabadi, N., Borjian Boroujeni, S., Sarvari, A., Sadeghnia, S., Behzadi, B., & Akhondi, M. M. (2017). Platelet-rich plasma promotes the development of isolated human primordial and primary follicles to the preantral stage. *Reproductive Biomedicine Online*, *35*(4), 343–350. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.04.007>
- Humaidan, P., Alviggi, C., Fischer, R., & Esteves, S. C. (2016). The novel POSEIDON stratification of “Low prognosis patients in Assisted Reproductive Technology” and its proposed marker of successful outcome. *F1000Research*, *5*, 2911. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10382.1>
- Humaidan, P., Chin, W., Rogoff, D., D’Hooghe, T., Longobardi, S., Hubbard, J., & Schertz, J. (2017). Efficacy and safety of follitropin alfa/lutropin alfa in ART: A randomized controlled trial in poor ovarian responders. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *32*(7), 1537–1538. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex208>
- Immediata, V., Patrizio, P., Parisen Toldin, M. R., Morengi, E., Ronchetti, C., Cirillo, F., Baggiani, A., Albani, E., & Levi-Setti, P. E. (2020). Twenty-one year experience with intrauterine inseminations after controlled ovarian stimulation with gonadotropins: Maternal age is the only prognostic factor for success. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *37*(5), 1195–1201. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01752-3>
- Jamaludin, R., Ahmad, M. F., Park, D.-K., Zain, M. M., Yoon, T.-K., Lee, W.-S., Koong, M. K., & Lee, K.-A. (2019). The stimulation protocol in poor responder IVF; a minimal or high-dose stimulation? - A meta-analysis. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, *41*(1), [/j/hmbci.2020.41.issue-1/hmbci-2019-0018/hmbci-2019-0018.xml](https://doi.org/10.1007/s10815-020-01752-3). <https://doi.org/10.1515/hmbci-2019-0018>
- Jennings, L. K., & Krywko, D. M. (2023). Pelvic Inflammatory Disease. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499959/>

- Jindal, S., Greenseid, K., Berger, D., Santoro, N., & Pal, L. (2012). Impaired gremlin 1 (GREM1) expression in cumulus cells in young women with diminished ovarian reserve (DOR). *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 29(2), 159–162. <https://doi.org/10.1007/s10815-011-9684-8>
- Jirge, P. R. (2011). Ovarian reserve tests. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 4(3), 108–113. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.92283>
- Jirge, P. R. (2016). Poor ovarian reserve. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 9(2), 63–69. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.183514>
- Kallio, S., Puurunen, J., Ruukonen, A., Vaskivuo, T., Piltonen, T., & Tapanainen, J. S. (2013). Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertility and Sterility*, 99(5), 1305–1310. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.11.034>
- Kamath, M., Maheshwari, A., Bhattacharya, S., Lor, K., & Gibreel, A. (2017). Oral medications including clomiphene citrate or aromatase inhibitors with gonadotropins for controlled ovarian stimulation in women undergoing in vitro fertilisation. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008528.pub3>
- Khader, A., Lloyd, S. M., McConnachie, A., Fleming, R., Grisendi, V., La Marca, A., & Nelson, S. M. (2013). External validation of anti-Müllerian hormone based prediction of live birth in assisted conception. *Journal of Ovarian Research*, 6(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-6-3>
- Kim, C.-H., Kim, S.-R., Cheon, Y.-P., Kim, S.-H., Chae, H.-D., & Kang, B.-M. (2009). Minimal stimulation using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist and recombinant human follicle-stimulating hormone versus GnRH antagonist multiple-dose protocol in low responders undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility*, 92(6), 2082–2084. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.06.005>
- Kim, S. S. (2012). Assessment of long term endocrine function after transplantation of frozen-thawed human ovarian tissue to the heterotopic site: 10 year longitudinal follow-up study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 29(6), 489–493. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9757-3>
- Kim, S.-Y., Kim, S. K., Lee, J. R., & Woodruff, T. K. (2016). Toward precision medicine for preserving fertility in cancer patients: Existing and emerging fertility preservation options for women. *Journal of Gynecologic Oncology*, 27(2), e22. <https://doi.org/10.3802/jgo.2016.27.e22>

- Klein, E. J., Vrees, R., & Frishman, G. N. (2022). Female Infertility. In T. Falcone & W. W. Hurd (Eds.), *Clinical Reproductive Medicine and Surgery: A Practical Guide* (pp. 281–301). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-99596-6_12
- Klein, N. A., Harper, A. J., Houmard, B. S., Sluss, P. M., & Soules, M. R. (2002). Is the Short Follicular Phase in Older Women Secondary to Advanced or Accelerated Dominant Follicle Development? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *87*(12), 5746–5750. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020622>
- Komorowska, B. (2016). Autoimmune premature ovarian failure. *Przegląd Menopauzalny = Menopause Review*, *15*(4), 210–214. <https://doi.org/10.5114/pm.2016.65666>
- Konstantinos, S., Petroula, T., Evangelos, M., Polina, G., Argyro, G., Sokratis, G., Anna, R., Andrianos, N., Agni, P., Michael, K., Konstantinos, P., George, M., & Mara, S. (2020). Assessing the practice of LuPOR for poor responders: A prospective study evaluating follicular fluid cfDNA levels during natural IVF cycles. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *37*(5), 1183–1194. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01743-4>
- Kovanci, E., & Schutt, A. K. (2015). Premature ovarian failure: Clinical presentation and treatment. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, *42*(1), 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2014.10.004>
- Krotz, S. P., Robins, J. C., Ferruccio, T.-M., Moore, R., Steinhoff, M. M., Morgan, J. R., & Carson, S. (2010). In vitro maturation of oocytes via the pre-fabricated self-assembled artificial human ovary. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *27*(12), 743–750. <https://doi.org/10.1007/s10815-010-9468-6>
- Kuang, Y., Chen, Q., Hong, Q., Lyu, Q., Ai, A., Fu, Y., & Shoham, Z. (2014). Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reproductive Biomedicine Online*, *29*(6), 684–691. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.08.009>
- Kumar, P., & Sait, S. F. (2011). Luteinizing hormone and its dilemma in ovulation induction. *Journal of Human Reproductive Sciences*, *4*(1), 2–7. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.82351>
- Kuo, C.-Y., Baker, H., Fries, M. H., Yoo, J. J., Kim, P. C. W., & Fisher, J. P. (2017). Bioengineering Strategies to Treat Female Infertility. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, *23*(3), 294–306. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2016.0385>

- Kwee, J., Schats, R., McDonnell, J., Themmen, A., de Jong, F., & Lambalk, C. (2008). Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertility and Sterility*, *90*(3), 737–743. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.07.1293>
- La Marca, A., Argento, C., Sighinolfi, G., Grisendi, V., Carbone, M., D'Ippolito, G., Artenisio, A. C., Stabile, G., & Volpe, A. (2012). Possibilities and limits of ovarian reserve testing in ART. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *13*(3), 398–408. <https://doi.org/10.2174/138920112799361972>
- La Marca, A., Stabile, G., Artenisio, A. C., & Volpe, A. (2006). Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *21*(12), 3103–3107. <https://doi.org/10.1093/humrep/del291>
- La Marca, A., & Sunkara, S. K. (2014). Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: From theory to practice. *Human Reproduction Update*, *20*(1), 124–140. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmt037>
- Labarta, E. (2020). DuoStim: A new strategy proposed for women with poor ovarian response. *Fertility and Sterility*, *113*(1), 76–77. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.10.024>
- Labarta, E., de Los Santos, M. J., Escribá, M. J., Pellicer, A., & Herraiz, S. (2019). Mitochondria as a tool for oocyte rejuvenation. *Fertility and Sterility*, *111*(2), 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.10.036>
- Labarta, E., Marin, D., Remohí, J., & Bosch, E. (2018). Conventional versus minimal ovarian stimulation: An intra-patient comparison of ovarian response in poor-responder women according to Bologna Criteria. *Reproductive BioMedicine Online*, *37*(4), 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.07.007>
- Lainas, T. G., Sfontouris, I. A., Zorzovilis, I. Z., Petsas, G. K., Lainas, G. T., Alexopoulou, E., & Kolibianakis, E. M. (2010). Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: A prospective randomised controlled trial (RCT). *Human Reproduction*, *25*(3), 683–689. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep436>
- Lainas, T., Zorzovilis, J., Petsas, G., Stavropoulou, G., Cazlaris, H., Daskalaki, V., Lainas, G., & Alexopoulou, E. (2005). In a flexible antagonist protocol, earlier, criteria-based initiation of

- GnRH antagonist is associated with increased pregnancy rates in IVF. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 20(9), 2426–2433. <https://doi.org/10.1093/humrep/dei106>
- Lakhal, B., Braham, R., Berguigua, R., Bouali, N., Zaouali, M., Chaieb, M., Veitia, R. A., Saad, A., & Elghezal, H. (2010). Cytogenetic analyses of premature ovarian failure using karyotyping and interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) in a group of 1000 patients. *Clinical Genetics*, 78(2), 181–185. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2009.01359.x>
- Lambalk, C. B., Banga, F. R., Huirne, J. A., Toftager, M., Pinborg, A., Homburg, R., van der Veen, F., & van Wely, M. (2017). GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: A systematic review and meta-analysis accounting for patient type. *Human Reproduction Update*, 23(5), 560–579. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx017>
- Laven, J. S. E., Mulders, A. G. M. G. J., Visser, J. A., Themmen, A. P., De Jong, F. H., & Fauser, B. C. J. M. (2004). Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(1), 318–323. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030932>
- Lazzaroni-Tealdi, E., Barad, D. H., Albertini, D. F., Yu, Y., Kushnir, V. A., Russell, H., Wu, Y.-G., & Gleicher, N. (2015). Oocyte Scoring Enhances Embryo-Scoring in Predicting Pregnancy Chances with IVF Where It Counts Most. *PloS One*, 10(12), e0143632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143632>
- Lensen, S., Wilkinson, J., Leijdekkers, J., La Marca, A., Mol, B., Marjoribanks, J., Torrance, H., & Broekmans, F. (2018). Individualised gonadotropin dose selection using markers of ovarian reserve for women undergoing in vitro fertilisation plus intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012693.pub2>
- Li, X., Zeng, C., Shang, J., Wang, S., Gao, X.-L., & Xue, Q. (2019). Association between serum estradiol level on the human chorionic gonadotrophin administration day and clinical outcome. *Chinese Medical Journal*, 132(10), 1194–1201. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000251>
- Ligon, S., Lustik, M., Levy, G., & Pier, B. (2019). Low antimüllerian hormone (AMH) is associated with decreased live birth after in vitro fertilization when follicle-stimulating hormone and AMH are discordant. *Fertility and Sterility*, 112(1), 73-81.e1.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.03.022>

- Linden, M. van der, Buckingham, K., Farquhar, C., Kremer, J. A., & Metwally, M. (2015). Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 7. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009154.pub3>
- Liu, C., Jiang, H., Zhang, W., & Yin, H. (2017). Double ovarian stimulation during the follicular and luteal phase in women ≥ 38 years: A retrospective case-control study. *Reproductive Biomedicine Online*, 35(6), 678–684. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.08.019>
- Loutradis, D., Drakakis, P., Vomvolaki, E., & Antsaklis, A. (2007). Different ovarian stimulation protocols for women with diminished ovarian reserve. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 24(12), 597–611. <https://doi.org/10.1007/s10815-007-9181-2>
- Ma, Z., Liu, R., Wang, X., Huang, M., Gao, Q., Lu, Y., & Liu, C. (2013). Spontaneous germline potential of human hepatic cell line in vitro. *Molecular Human Reproduction*, 19(4), 216–226. <https://doi.org/10.1093/molehr/gas058>
- Macer, M. L., & Taylor, H. S. (2012). Endometriosis and infertility: A review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 39(4), 535–549. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2012.10.002>
- MacLennan, M., Crichton, J. H., Playfoot, C. J., & Adams, I. R. (2015). Oocyte development, meiosis and aneuploidy. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 45, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.semdb.2015.10.005>
- Maged, A. M., Nabil, H., Dieb, A. S., Essam, A., Ibrahim, S., Deeb, W., & Fahmy, R. M. (2020). Prediction of metaphase II oocytes according to different levels of serum AMH in poor responders using the antagonist protocol during ICSI: A cohort study. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 36(8), 728–733. <https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1706081>
- Maggiulli, R., Cimadomo, D., Fabozzi, G., Papini, L., Dovere, L., Ubaldi, F. M., & Rienzi, L. (2020). The effect of ICSI-related procedural timings and operators on the outcome. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 35(1), 32–43. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez234>
- Malhotra, N., Sharma, V., Bahadur, A., Sharma, J. B., Roy, K. K., & Kumar, S. (2012). The effect of tuberculosis on ovarian reserve among women undergoing IVF in India. *International Journal of*

- Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 117(1), 40–44. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2011.10.034>
- Mandrekar, J. N. (2010). Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 5(9), 1315–1316. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181ec173d>
- Martinez-Zapata, M. J., Martí-Carvajal, A. J., Solà, I., Expósito, J. A., Bolívar, I., Rodríguez, L., Garcia, J., & Zaror, C. (2016). Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2016(5), CD006899. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006899.pub3>
- Massin, N. (2017). New stimulation regimens: Endogenous and exogenous progesterone use to block the LH surge during ovarian stimulation for IVF. *Human Reproduction Update*, 23(2), 211–220. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw047>
- McGovern, P. G., Myers, E. R., Silva, S., Coutifaris, C., Carson, S. A., Legro, R. S., Schlaff, W. D., Carr, B. R., Steinkampf, M. P., Giudice, L. C., Leppert, P. C., Diamond, M. P., & NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network. (2004). Absence of secretory endometrium after false-positive home urine luteinizing hormone testing. *Fertility and Sterility*, 82(5), 1273–1277. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.03.070>
- Melo, A. S., Ferriani, R. A., & Navarro, P. A. (2015). Treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome: Approach to clinical practice. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 70(11), 765–769. [https://doi.org/10.6061/clinics/2015\(11\)09](https://doi.org/10.6061/clinics/2015(11)09)
- Melo, M. A. B., Garrido, N., Alvarez, C., Bellver, J., Meseguer, M., Pellicer, A., & Remohí, J. (2009). Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. *Fertility and Sterility*, 91(1), 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.11.042>
- Melo, P., Navarro, C., Jones, C., Coward, K., & Coleman, L. (2020). The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: A non-randomized interventional study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(4), 855–863. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01710-z>
- Merchant, R., Gandhi, G., & Allahbadia, G. N. (2011). In vitro fertilization/intracytoplasmic sperm

- injection for male infertility. *Indian Journal of Urology: IJU: Journal of the Urological Society of India*, 27(1), 121–132. <https://doi.org/10.4103/0970-1591.78430>
- Mh, van der G., Mj, E., Jb, van der N., Ej, de B., Cw, B., Fe, van L., Bc, F., & Ns, M. (2006). Optimum number of oocytes for a successful first IVF treatment cycle. *Reproductive Biomedicine Online*, 13(4). [https://doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)60633-5](https://doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60633-5)
- Mikwar, M., MacFarlane, A. J., & Marchetti, F. (2020). Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age. *Mutation Research. Reviews in Mutation Research*, 785, 108320. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108320>
- Mirzaei, H., Sahebkar, A., Sichani, L. S., Moridikia, A., Nazari, S., Sadri Nahand, J., Salehi, H., Stenvang, J., Masoudifar, A., Mirzaei, H. R., & Jaafari, M. R. (2018). Therapeutic application of multipotent stem cells. *Journal of Cellular Physiology*, 233(4), 2815–2823. <https://doi.org/10.1002/jcp.25990>
- Mitwally, M. F. M., & Casper, R. F. (2002). Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertility and Sterility*, 77(4), 776–780. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(01\)03280-0](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)03280-0)
- Mobarak, H., Heidarpour, M., Tsai, P.-S. J., Rezaabakhsh, A., Rahbarghazi, R., Nouri, M., & Mahdipour, M. (2019). Autologous mitochondrial microinjection; a strategy to improve the oocyte quality and subsequent reproductive outcome during aging. *Cell & Bioscience*, 9, 95. <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0360-5>
- Mochtar, M., Danhof, N., Ayeleke, R., Van der Veen, F., & van Wely, M. (2017). Recombinant luteinizing hormone (rLH) and recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) for ovarian stimulation in IVF/ICSI cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005070.pub3>
- Moghadam, A. R. E., Moghadam, M. T., Hemadi, M., & Saki, G. (2022). Oocyte quality and aging. *JBRA Assisted Reproduction*, 26(1), 105–122. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210026>
- Mohr-Sasson, A., Orvieto, R., Blumenfeld, S., Axelrod, M., Mor-Hadar, D., Grin, L., Aizer, A., & Haas, J. (2020). The association between follicle size and oocyte development as a function of final follicular maturation triggering. *Reproductive Biomedicine Online*, 40(6), 887–893. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.02.005>

- Mol, B. W., Tjon-Kon-Fat, R., Kamphuis, E., & van Wely, M. (2018). Unexplained infertility: Is it over-diagnosed and over-treated? *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology*, *53*, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.09.006>
- Moreno, I., Míguez-Forjan, J. M., & Simón, C. (2015). Artificial gametes from stem cells. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, *42*(2), 33–44. <https://doi.org/10.5653/cerm.2015.42.2.33>
- Morgia, F., Sbracia, M., Schimberni, M., Giallonardo, A., Piscitelli, C., Giannini, P., & Aragona, C. (2004). A controlled trial of natural cycle versus microdose gonadotropin-releasing hormone analog flare cycles in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, *81*(6), 1542–1547. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.11.031>
- Munro, M. G., Balen, A. H., Cho, S., Critchley, H. O. D., Díaz, I., Ferriani, R., Henry, L., Mocanu, E., van der Spuy, Z. M., & for the FIGO Committee on Menstrual Disorders and Related Health Impacts, and FIGO Committee on Reproductive Medicine, Endocrinology, and Infertility. (2022). The FIGO ovulatory disorders classification system. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, *159*(1), 1–20. <https://doi.org/10.1002/ijgo.14331>
- Murray, M. J., Meyer, W. R., Zaino, R. J., Lessey, B. A., Novotny, D. B., Ireland, K., Zeng, D., & Fritz, M. A. (2004). A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertility and Sterility*, *81*(5), 1333–1343. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.11.030>
- Nagels, H. E., Rishworth, J. R., Siristatidis, C. S., & Kroon, B. (2015). Androgens (dehydroepiandrosterone or testosterone) for women undergoing assisted reproduction. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *2015*(11), CD009749. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009749.pub2>
- Nargund, G., Fauser, B. C. J. M., Macklon, N. S., Ombelet, W., Nygren, K., Frydman, R., & for the Rotterdam ISMAAR Consensus Group on Terminology for Ovarian Stimulation for IVF. (2007). The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. *Human Reproduction*, *22*(11), 2801–2804. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem285>
- National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). (2015). *Menopause: Full Guideline*. National Institute for Health and Care Excellence (UK). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK327156/>

- Noventa, M., Vitagliano, A., Andrisani, A., Blaganje, M., Viganò, P., Papaelo, E., Scioscia, M., Cavallin, F., Ambrosini, G., & Cozzolino, M. (2019). Testosterone therapy for women with poor ovarian response undergoing IVF: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(4), 673–683. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1383-2>
- Noyes, N., Porcu, E., & Borini, A. (2009). Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reproductive BioMedicine Online*, 18(6), 769–776. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60025-9](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60025-9)
- Oktaş, K., & Karlikaya, G. (2000). Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *The New England Journal of Medicine*, 342(25), 1919. <https://doi.org/10.1056/NEJM200006223422516>
- Olive, D. L., & Pritts, E. A. (2001). Treatment of endometriosis. *The New England Journal of Medicine*, 345(4), 266–275. <https://doi.org/10.1056/NEJM200107263450407>
- Orris, J. J., Taylor, T. H., Gilchrist, J. W., Hollowell, S. V., Glassner, M. J., & Winingar, J. D. (2010). The utility of embryo banking in order to increase the number of embryos available for preimplantation genetic screening in advanced maternal age patients. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 27(12), 729–733. <https://doi.org/10.1007/s10815-010-9474-8>
- Palagianò, A., Cozzolino, M., Ubaldi, F. M., Palagianò, C., & Coccia, M. E. (2021). Effects of Hydrosalpinx on Endometrial Implantation Failures: Evaluating Salpingectomy in Women Undergoing in vitro fertilization. *Revista Brasileira De Ginecologia E Obstetricia: Revista Da Federacao Brasileira Das Sociedades De Ginecologia E Obstetricia*, 43(4), 304–310. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1722155>
- Palermo, G. D., Cohen, J., Alikani, M., Adler, A., & Rosenwaks, Z. (1995). Development and implementation of intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Reproduction, Fertility, and Development*, 7(2), 211–217; discussion 217-218. <https://doi.org/10.1071/rd9950211>
- Pandian, Z., McTavish, A. R., Aucott, L., Hamilton, M. P., & Bhattacharya, S. (2010). Interventions for “poor responders” to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF). *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, CD004379. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004379.pub3>
- Pandruvada, S., Royfman, R., Shah, T. A., Sindhwani, P., Dupree, J. M., Schon, S., & Avidor-Reiss, T.

- (2021). Lack of trusted diagnostic tools for undetermined male infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(2), 265–276. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-02037-5>
- Pangas, S. A., Saudye, H., Shea, L. D., & Woodruff, T. K. (2003). Novel approach for the three-dimensional culture of granulosa cell-oocyte complexes. *Tissue Engineering*, 9(5), 1013–1021. <https://doi.org/10.1089/107632703322495655>
- Pantos, K., Sfakianoudis, K., Maziotis, E., Rapani, A., Karantzali, E., Gounari-Papaioannou, A., Vaxevanoglou, T., Koutsilieris, M., & Simopoulou, M. (2021). Abnormal fertilization in ICSI and its association with abnormal semen parameters: A retrospective observational study on 1855 cases. *Asian Journal of Andrology*, 23(4), 376–385. https://doi.org/10.4103/aja.aja_84_20
- Pantos, K., Simopoulou, M., Pantou, A., Rapani, A., Tsioulou, P., Nitsos, N., Syrkos, S., Pappas, A., Koutsilieris, M., & Sfakianoudis, K. (2019). A Case Series on Natural Conceptions Resulting in Ongoing Pregnancies in Menopausal and Prematurely Menopausal Women Following Platelet-Rich Plasma Treatment. *Cell Transplantation*, 28(9–10), 1333–1340. <https://doi.org/10.1177/0963689719859539>
- Papaioannou, S., Bourdrez, P., Varma, R., Afnan, M., Mol, B. W. J., & Coomarasamy, A. (2004). Tubal evaluation in the investigation of subfertility: A structured comparison of tests. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 111(12), 1313–1321. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2004.00403.x>
- Papathanasiou, A. (2014). Implementing the ESHRE “poor responder” criteria in research studies: Methodological implications. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 29(9), 1835–1838. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu135>
- Papathanasiou, A., Searle, B. J., King, N. M. A., & Bhattacharya, S. (2016). Trends in ‘poor responder’ research: Lessons learned from RCTs in assisted conception. *Human Reproduction Update*, 22(3), 306–319. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw001>
- Patrono, C., García Rodríguez, L. A., Landolfi, R., & Baigent, C. (2005). Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *The New England Journal of Medicine*, 353(22), 2373–2383. <https://doi.org/10.1056/NEJMra052717>
- Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number), Alviggi, C., Andersen, C. Y., Buehler, K., Conforti, A., De Placido, G., Esteves, S. C., Fischer, R., Galliano,

D., Polyzos, N. P., Sunkara, S. K., Ubaldi, F. M., & Humaidan, P. (2016). A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: From a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertility and Sterility*, *105*(6), 1452–1453.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.02.005>

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Reproductive Endocrinology and Infertility. (2013). Optimizing natural fertility: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, *100*(3), 631–637. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.07.011>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2013). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, *99*(1), 63.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.023>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2015). Testing and interpreting measures of ovarian reserve: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, *103*(3), e9–e17.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.12.093>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee for the Society for Assisted Reproductive Technologies. Electronic address: ASRM@asrm.org. (2021). Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: A committee opinion.

Fertility and Sterility, *116*(3), 651–654. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.06.050>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address:

ASRM@asrm.org. (2018). Comparison of pregnancy rates for poor responders using IVF with mild ovarian stimulation versus conventional IVF: A guideline. *Fertility and Sterility*, *109*(6), 993–999. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.019>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address:

asrm@asrm.org & Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2020). Testing and interpreting measures of ovarian reserve: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, *114*(6), 1151–1157. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.134>

Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. (2013). Mature oocyte cryopreservation: A guideline. *Fertility and Sterility*, *99*(1), 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.028>

Prescott, J., Farland, L. V., Tobias, D. K., Gaskins, A. J., Spiegelman, D., Chavarro, J. E., Rich-Edwards,

- J. W., Barbieri, R. L., & Missmer, S. A. (2016). A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *31*(7), 1475–1482. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew085>
- Pritts, E. A. (2001). Fibroids and infertility: A systematic review of the evidence. *Obstetrical & Gynecological Survey*, *56*(8), 483–491. <https://doi.org/10.1097/00006254-200108000-00022>
- Quintana, R., Kopcow, L., Sueldo, C., Marconi, G., Rueda, N. G., & Barañao, R. I. (2004). Direct injection of vascular endothelial growth factor into the ovary of mice promotes follicular development. *Fertility and Sterility*, *82* Suppl 3, 1101–1105. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.03.036>
- Rababa'h, A. M., Matani, B. R., & Yehya, A. (2022). An update of polycystic ovary syndrome: Causes and therapeutics options. *Heliyon*, *8*(10), e11010. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11010>
- Rafael, F., Robles, G. M., Navarro, A. T., Garrido, N., Garcia-Velasco, J. A., Bosch, E., Nunes, S. G., Soares, S. R., & Santos-Ribeiro, S. (2022). Perinatal outcomes in children born after fresh or frozen embryo transfer using donated oocytes. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *37*(7), 1642–1651. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac074>
- Rapani, A., Nikiforaki, D., Karagkouni, D., Sfakianoudis, K., Tsioulou, P., Grigoriadis, S., Maziotis, E., Pantou, A., Voutsina, A., Pantou, A., Koutsilieris, M., Hatzigeorgiou, A., Pantos, K., & Simopoulou, M. (2020). Reporting on the Role of miRNAs and Affected Pathways on the Molecular Backbone of Ovarian Insufficiency: A Systematic Review and Critical Analysis Mapping of Future Research. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *8*, 590106. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.590106>
- Rashtian, J., & Zhang, J. (2018). Luteal-phase ovarian stimulation increases the number of mature oocytes in older women with severe diminished ovarian reserve. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, *64*(3), 216–219. <https://doi.org/10.1080/19396368.2018.1448902>
- Ray, A., Shah, A., Gudi, A., & Homburg, R. (2012). Unexplained infertility: An update and review of practice. *Reproductive Biomedicine Online*, *24*(6), 591–602. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.02.021>
- Revelli, A., Biasoni, V., Gennarelli, G., Canosa, S., Dalmaso, P., & Benedetto, C. (2016). IVF results in patients with very low serum AMH are significantly affected by chronological age. *Journal of*

- Assisted Reproduction and Genetics*, 33(5), 603–609. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0675-7>
- Revelli, A., Casano, S., Salvagno, F., & Delle Piane, L. (2011). Milder is better? Advantages and disadvantages of “mild” ovarian stimulation for human in vitro fertilization. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-25>
- Revenkova, E., Herrmann, K., Adelfalk, C., & Jessberger, R. (2010). Oocyte cohesin expression restricted to predictyate stages provides full fertility and prevents aneuploidy. *Current Biology: CB*, 20(17), 1529–1533. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.08.024>
- Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. (2004). *Fertility and Sterility*, 81(1), 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.10.004>
- Rienzi, L., Gracia, C., Maggiulli, R., LaBarbera, A. R., Kaser, D. J., Ubaldi, F. M., Vanderpoel, S., & Racowsky, C. (2017). Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: Systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Human Reproduction Update*, 23(2), 139–155. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw038>
- Roma Dalfó, A., Ubeda, B., Ubeda, A., Monzón, M., Rotger, R., Ramos, R., & Palacio, A. (2004). Diagnostic value of hysterosalpingography in the detection of intrauterine abnormalities: A comparison with hysteroscopy. *AJR. American Journal of Roentgenology*, 183(5), 1405–1409. <https://doi.org/10.2214/ajr.183.5.1831405>
- Romito, A., Bardhi, E., Errazuriz, J., Blockeel, C., Santos-Ribeiro, S., Vos, M. D., Racca, A., Mackens, S., Kelen, A. V. D., Panici, P. B., Vaiarelli, A., Tournaye, H., & Drakopoulos, P. (2020). Heterogeneity Among Poor Ovarian Responders According to Bologna Criteria Results in Diverging Cumulative Live Birth Rates. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 208. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00208>
- Rosen, M. P., Johnstone, E., Addaun-Andersen, C., & Cedars, M. I. (2011). A lower antral follicle count is associated with infertility. *Fertility and Sterility*, 95(6), 1950–1954, 1954.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.01.151>
- Rosen, M. P., Shen, S., Dobson, A. T., Rinaudo, P. F., McCulloch, C. E., & Cedars, M. I. (2008). A quantitative assessment of follicle size on oocyte developmental competence. *Fertility and*

- Sterility*, 90(3), 684–690. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.02.011>
- Rudnicka, E., Kruszewska, J., Klicka, K., Kowalczyk, J., Grymowicz, M., Skórska, J., Pięta, W., & Smolarczyk, R. (2018). Premature ovarian insufficiency – aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. *Przegląd Menopauzalny = Menopause Review*, 17(3), 105–108. <https://doi.org/10.5114/pm.2018.78550>
- Saharkhiz, N., Zademodares, S., Salehpour, S., Hosseini, S., Nazari, L., & Tehrani, H. G. (2018). The effect of testosterone gel on fertility outcomes in women with a poor response in in vitro fertilization cycles: A pilot randomized clinical trial. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 23, 3. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_864_17
- Sánchez, F., & Smitz, J. (2012). Molecular control of oogenesis. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1822(12), 1896–1912. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.013>
- Sanders, J. E., Hawley, J., Levy, W., Gooley, T., Buckner, C. D., Deeg, H. J., Doney, K., Storb, R., Sullivan, K., Witherspoon, R., & Appelbaum, F. R. (1996). Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood*, 87(7), 3045–3052.
- Santos, M. A., Kuijk, E. W., & Macklon, N. S. (2010). The impact of ovarian stimulation for IVF on the developing embryo. *Reproduction (Cambridge, England)*, 139(1), 23–34. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0187>
- Scheffer, J. Brum., Scheffer, B. Brum., de Carvalho, R. F., Rodrigues, J., Grynberg, M., & Mendez Lozano, D. H. (2017). Age as A Predictor of Embryo Quality Regardless of The Quantitative Ovarian Response. *International Journal of Fertility & Sterility*, 11(1), 40–46.
- Schimberni, M., Ciardo, F., Schimberni, M., Giallonardo, A., De Pratti, V., & Sbracia, M. (2016). Short gonadotropin-releasing hormone agonist versus flexible antagonist versus clomiphene citrate regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: A randomized controlled trial. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(20), 4354–4361.
- Schubert, B., Canis, M., Darcha, C., Artonne, C., Smitz, J., & Grizard, G. (2008). Follicular growth and estradiol follow-up after subcutaneous xenografting of fresh and cryopreserved human ovarian tissue. *Fertility and Sterility*, 89(6), 1787–1794. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.03.101>

- Seshadri, S., El-Toukhy, T., Douiri, A., Jayaprakasan, K., & Khalaf, Y. (2015). Diagnostic accuracy of saline infusion sonography in the evaluation of uterine cavity abnormalities prior to assisted reproductive techniques: A systematic review and meta-analyses. *Human Reproduction Update*, 21(2), 262–274. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu057>
- Seyhan, A., Ata, B., & Uncu, G. (2015). The Impact of Endometriosis and Its Treatment on Ovarian Reserve. *Seminars in Reproductive Medicine*, 33(6), 422–428. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1567820>
- Sfakianoudis, K., Pantos, K., Grigoriadis, S., Rapani, A., Maziotis, E., Tsioulou, P., Giannelou, P., Kontogeorgi, A., Pantou, A., Vlahos, N., Koutsilieris, M., & Simopoulou, M. (2020). What is the true place of a double stimulation and double oocyte retrieval in the same cycle for patients diagnosed with poor ovarian reserve? A systematic review including a meta-analytical approach. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(1), 181–204. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01638-z>
- Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., Giannelou, P., Pantos, K., Koutsilieris, M., Vlahos, N., Mastorakos, G., & Simopoulou, M. (2020). Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet? *Cell Transplantation*, 29, 963689720926154. <https://doi.org/10.1177/0963689720926154>
- Sfakianoudis, K., Simopoulou, M., Grigoriadis, S., Pantou, A., Tsioulou, P., Maziotis, E., Rapani, A., Giannelou, P., Nitsos, N., Kokkali, G., Koutsilieris, M., & Pantos, K. (2020). Reactivating Ovarian Function through Autologous Platelet-Rich Plasma Intraovarian Infusion: Pilot Data on Premature Ovarian Insufficiency, Perimenopausal, Menopausal, and Poor Responder Women. *Journal of Clinical Medicine*, 9(6), Art. 6. <https://doi.org/10.3390/jcm9061809>
- Sfakianoudis, K., Simopoulou, M., Maziotis, E., Giannelou, P., Tsioulou, P., Rapani, A., Pantou, A., Petroutsou, K., Angeli, I., Deligeoroglou, E., Koutsilieris, M., & Pantos, K. (2019). Evaluation of the Second Follicular Wave Phenomenon in Natural Cycle Assisted Reproduction: A Key Option for Poor Responders through Luteal Phase Oocyte Retrieval. *Medicina*, 55(3), 68. <https://doi.org/10.3390/medicina55030068>
- Sfakianoudis, K., Simopoulou, M., Nitsos, N., Rapani, A., Pantou, A., Vaxevanoglou, T., Kokkali, G., Koutsilieris, M., & Pantos, K. (2019). A Case Series on Platelet-Rich Plasma Revolutionary

- Management of Poor Responder Patients. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 84(1), 99–106. <https://doi.org/10.1159/000491697>
- Sfakianoudis, K., Simopoulou, M., Nitsos, N., Rapani, A., Pappas, A., Pantou, A., Chronopoulou, M., Deligeoroglou, E., Koutsilieris, M., & Pantos, K. (2018). Autologous Platelet-Rich Plasma Treatment Enables Pregnancy for a Woman in Premature Menopause. *Journal of Clinical Medicine*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.3390/jcm8010001>
- Shufelt, C. L., Torbati, T., & Dutra, E. (2017). Hypothalamic Amenorrhea and the Long-Term Health Consequences. *Seminars in Reproductive Medicine*, 35(3), 256–262. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1603581>
- Silber, S. J. (2012). Ovary cryopreservation and transplantation for fertility preservation. *Molecular Human Reproduction*, 18(2), 59–67. <https://doi.org/10.1093/molehr/gar082>
- Sills, E. S., Rickers, N. S., Li, X., & Palermo, G. D. (2018). First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of calcium gluconate-activated autologous platelet rich plasma. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 34(9), 756–760. <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1445219>
- Simopoulou, M., Giannelou, P., Bakas, P., Gkoles, L., Kalampokas, T., Pantos, K., & Koutsilieris, M. (2016). Making ICSI Safer and More Effective: A Review of the Human Oocyte and ICSI Practice. *In Vivo (Athens, Greece)*, 30(4), 387–400.
- Simopoulou, M., Sfakianoudis, K., Tsioulou, P., Rapani, A., Maziotis, E., Giannelou, P., Grigoriadis, S., Pantou, A., Nikolettos, K., Vlahos, N., Pantos, K., & Koutsilieris, M. (2019). Should the flexibility enabled by performing a day-4 embryo transfer remain as a valid option in the IVF laboratory? A systematic review and network meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(6), 1049–1061. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01475-0>
- Society for Assisted Reproductive Technology & American Society for Reproductive Medicine. (2007). Assisted reproductive technology in the United States: 2001 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology registry. *Fertility and Sterility*, 87(6), 1253–1266. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.11.056>
- Somigliana, E., Vigano, P., Benaglia, L., Busnelli, A., Berlanda, N., & Vercellini, P. (2017). Management

- of Endometriosis in the Infertile Patient. *Seminars in Reproductive Medicine*, 35(1), 31–37.
<https://doi.org/10.1055/s-0036-1597125>
- Song, D., Shi, Y., Zhong, Y., Meng, Q., Hou, S., & Li, H. (2016). Efficiency of mild ovarian stimulation with clomiphene on poor ovarian responders during IVF\ICSI procedures: A meta-analysis. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 204, 36–43.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.07.498>
- Steel, A. J., & Sutcliffe, A. (2009). Long-term health implications for children conceived by IVF/ICSI. *Human Fertility (Cambridge, England)*, 12(1), 21–27.
<https://doi.org/10.1080/14647270802499201>
- Sunkara, S. K., Coomarasamy, A., Faris, R., Braude, P., & Khalaf, Y. (2014). Long gonadotropin-releasing hormone agonist versus short agonist versus antagonist regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: A randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*, 101(1), 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.09.035>
- Sunkara, S. K., Khalaf, Y., Maheshwari, A., Seed, P., & Coomarasamy, A. (2014). Association between response to ovarian stimulation and miscarriage following IVF: An analysis of 124 351 IVF pregnancies. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 29(6), 1218–1224.
<https://doi.org/10.1093/humrep/deu053>
- Sunkara, S. K., Rittenberg, V., Raine-Fenning, N., Bhattacharya, S., Zamora, J., & Coomarasamy, A. (2011). Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: An analysis of 400 135 treatment cycles. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 26(7), 1768–1774.
<https://doi.org/10.1093/humrep/der106>
- Sustar, K., Rozen, G., Agresta, F., & Polyakov, A. (2019). Use of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in normospermic men may result in lower clinical pregnancy and live birth rates. *The Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 59(5), 706–711.
<https://doi.org/10.1111/ajo.13004>
- Szafarowska, M., & Jerzak, M. (2013). [Ovarian aging and infertility]. *Ginekologia Polska*, 84(4), 298–304. <https://doi.org/10.17772/gp/1580>
- Tachibana, M., Kuno, T., & Yaegashi, N. (2018). Mitochondrial replacement therapy and assisted reproductive technology: A paradigm shift toward treatment of genetic diseases in gametes or in

early embryos. *Reproductive Medicine and Biology*, 17(4), 421–433.

<https://doi.org/10.1002/rmb2.12230>

The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation, Bosch, E., Broer, S., Griesinger, G., Grynberg, M., Humaidan, P., Kolibianakis, E., Kunicki, M., La Marca, A., Lainas, G., Le Clef, N., Massin, N., Mastenbroek, S., Polyzos, N., Sunkara, S. K., Timeva, T., Töyli, M., Urbancsek, J., Vermeulen, N., & Broekmans, F. (2020). ESHRE guideline: Ovarian stimulation for IVF/ICSI†. *Human Reproduction Open*, 2020(hoaa009). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa009>

Thiyagarajan, D. K., Basit, H., & Jeanmonod, R. (2023). Physiology, Menstrual Cycle. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500020/>

Thomsen, L. H., Kesmodel, U. S., Erb, K., Bungum, L., Pedersen, D., Hauge, B., Elbæk, H. O., Povlsen, B. B., Andersen, C. Y., & Humaidan, P. (2018). The impact of luteal serum progesterone levels on live birth rates—a prospective study of 602 IVF/ICSI cycles. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 33(8), 1506–1516. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey226>

Thum, M. Y., Kalu, E., & Abdalla, H. (2009). Elevated basal FSH and embryo quality: Lessons from extended culture embryos: raised FSH and blastocyst quality. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 26(6), 313–318. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9313-y>

Trenkić, M., Popović, J., Kopitović, V., Bjelica, A., Živadinović, R., & Pop-Trajković, S. (2016). Flexible GnRH antagonist protocol vs. long GnRH agonist protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: Comparison of clinical outcome and embryo quality. *Ginekologia Polska*, 87(4), Art. 4. <https://doi.org/10.17772/gp/62205>

Tsepelidis, S., Devreker, F., Demeestere, I., Flahaut, A., Gervy, C., & Englert, Y. (2007). Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: A prospective study in normo-ovulatory women. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 22(7), 1837–1840. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem101>

Tsutsumi, R., & Webster, N. J. G. (2009). GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction. *Endocrine Journal*, 56(6), 729–737. <https://doi.org/10.1507/endocrj.k09e-185>

Ubaldi, F. M., Capalbo, A., Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Colamaria, S., Alviggi, C., Trabucco, E., Venturella, R., Vajta, G., & Rienzi, L. (2016). 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. *Fertility and Sterility*, *105*(6), 1488-1495.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.03.002>
- Ubaldi, F. M., Cimadomo, D., Vaiarelli, A., Fabozzi, G., Venturella, R., Maggiulli, R., Mazzilli, R., Ferrero, S., Palagiano, A., & Rienzi, L. (2019). Advanced Maternal Age in IVF: Still a Challenge? The Present and the Future of Its Treatment. *Frontiers in Endocrinology*, *10*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2019.00094>
- Ubaldi, F., Vaiarelli, A., D'Anna, R., & Rienzi, L. (2014). Management of Poor Responders in IVF: Is There Anything New? *BioMed Research International*, *2014*, 352098. <https://doi.org/10.1155/2014/352098>
- Urman, B., Boza, A., & Balaban, B. (2019). Platelet-rich plasma another add-on treatment getting out of hand? How can clinicians preserve the best interest of their patients? *Human Reproduction (Oxford, England)*, *34*(11), 2099–2103. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez190>
- Usala, S. J., & Trindade, A. A. (2020). A Novel Fertility Indicator Equation Using Estradiol Levels for Assessment of Phase of the Menstrual Cycle. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *56*(11), 555. <https://doi.org/10.3390/medicina56110555>
- Vadakkadath Meethal, S., & Atwood, C. S. (2005). The role of hypothalamic-pituitary-gonadal hormones in the normal structure and functioning of the brain. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *62*(3), 257–270. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4381-3>
- Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Alviggi, E., Sansone, A., Trabucco, E., Dusi, L., Buffo, L., Barnocchi, N., Fiorini, F., Colamaria, S., Giuliani, M., Argento, C., Rienzi, L., & Ubaldi, F. M. (2020). The euploid blastocysts obtained after luteal phase stimulation show the same clinical, obstetric and perinatal outcomes as follicular phase stimulation-derived ones: A multicenter study. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *35*(11), 2598–2608. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa203>
- Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Conforti, A., Schimberni, M., Giuliani, M., D'Alessandro, P., Colamaria, S., Alviggi, C., Rienzi, L., & Ubaldi, F. M. (2020). Luteal phase after conventional stimulation in the same ovarian cycle might improve the management of poor responder patients fulfilling the Bologna criteria: A case series. *Fertility and Sterility*, *113*(1), 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.09.012>
- Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Trabucco, E., Vallefucio, R., Buffo, L., Dusi, L., Fiorini, F., Barnocchi, N.,

- Bulletti, F. M., Rienzi, L., & Ubaldi, F. M. (2018). Double Stimulation in the Same Ovarian Cycle (DuoStim) to Maximize the Number of Oocytes Retrieved From Poor Prognosis Patients: A Multicenter Experience and SWOT Analysis. *Frontiers in Endocrinology*, *9*, 317. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00317>
- Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Ubaldi, N., Rienzi, L., & Ubaldi, F. M. (2018). What is new in the management of poor ovarian response in IVF? *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*, *30*(3), 155–162. <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000452>
- Vaiarelli, A., Venturella, R., Vizziello, D., Bulletti, F., & Ubaldi, F. M. (2017). Dual ovarian stimulation and random start in assisted reproductive technologies: From ovarian biology to clinical application. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*, *29*(3), 153–159. <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000365>
- van de Wiel, L., Wilkinson, J., Athanasiou, P., & Harper, J. (2020). The prevalence, promotion and pricing of three IVF add-ons on fertility clinic websites. *Reproductive Biomedicine Online*, *41*(5), 801–806. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.07.021>
- Van Eyck, A.-S., Jordan, B. F., Gallez, B., Heilier, J.-F., Van Langendonck, A., & Donnez, J. (2009). Electron paramagnetic resonance as a tool to evaluate human ovarian tissue reoxygenation after xenografting. *Fertility and Sterility*, *92*(1), 374–381. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.05.012>
- Van Voorhis, B. J., Mejia, R. B., Schlaff, W. D., & Hurst, B. S. (2019). Is removal of hydrosalpinges prior to in vitro fertilization the standard of care? *Fertility and Sterility*, *111*(4), 652–656. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.015>
- Vanden Brink, H., Robertson, D. M., Lim, H., Lee, C., Chizen, D., Harris, G., Hale, G., Burger, H., & Baerwald, A. (2015). Associations Between Antral Ovarian Follicle Dynamics and Hormone Production Throughout the Menstrual Cycle as Women Age. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *100*(12), 4553–4562. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-2643>
- Vaughan, D., Pan, W., Yacoby, Y., Seidler, E. A., Leung, A. Q., Doshi-Velez, F., & Sakkas, D. (2019). The application of machine learning methods to evaluate predictors of live birth in programmed thaw cycles. *Fertility and Sterility*, *112*(3), e273. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.07.808>
- Veeck, L. L., & Clark, R. N. (2001). El Shafie M., Sousa M., Windt M.-L., Kruger T. F. An Atlas of the

- Ultrastructure of Human Oocytes: A Guide for Assisted Reproduction, First Edition. New York: The Parthenon Publishing Group, 2000. *Fertility and Sterility*, 75(4), 838–839.
[https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(01\)01674-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)01674-0)
- Veitia, R. A., Gluckman, E., Fellous, M., & Soulier, J. (2007). Recovery of Female Fertility After Chemotherapy, Irradiation, and Bone Marrow Allograft: Further Evidence Against Massive Oocyte Regeneration by Bone Marrow-Derived Germline Stem Cells. *STEM CELLS*, 25(5), 1334–1335. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0770>
- Venturella, R., Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Pedri, S., Lico, D., Mazzilli, R., Mocciano, R., Rienzi, L., Di Carlo, C., Ubaldi, F. M., & Zullo, F. (2019). State of the art and emerging drug therapies for female infertility. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 35(10), 835–841.
<https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1603289>
- Verberg, M. F. G., Eijkemans, M. J. C., Macklon, N. S., Heijnen, E. M. E. W., Baart, E. B., Hohmann, F. P., Fauser, B. C. J. M., & Broekmans, F. J. (2009). The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: A meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 15(1), 5–12. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn053>
- von Wolff, M., Thaler, C. J., Frambach, T., Zeeb, C., Lawrenz, B., Popovici, R. M., & Strowitzki, T. (2009). Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. *Fertility and Sterility*, 92(4), 1360–1365.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.011>
- Waldenström, U., Hellberg, D., & Nilsson, S. (2005). A stop (discontinued) GnRHa regimen in in vitro fertilization. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 272(2), 182–182.
<https://doi.org/10.1007/s00404-004-0693-z>
- Walker, M. H., & Tobler, K. J. (2023). Female Infertility. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556033/>
- Waters, M., & Tadi, P. (2023). Genetics, Female Gametogenesis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555917/>
- Wennerholm, U.-B., & Bergh, C. (2020). Perinatal outcome in children born after assisted reproductive technologies. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 125(2), 158–166.

<https://doi.org/10.1080/03009734.2020.1726534>

- White, Y. A. R., Woods, D. C., Takai, Y., Ishihara, O., Seki, H., & Tilly, J. L. (2012). Oocyte formation by mitotically-active germ cells purified from ovaries of reproductive age women. *Nature Medicine*, *18*(3), 413–421. <https://doi.org/10.1038/nm.2669>
- Wojcik, M., Amer, S., & Jayaprakasan, K. (2022). The prevalence of hyperprolactinaemia in subfertile ovulatory women and its impact on fertility treatment outcome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, *42*(6), 2349–2353. <https://doi.org/10.1080/01443615.2022.2049727>
- Wunder, D. M., Guibourdenche, J., Birkhäuser, M. H., & Bersinger, N. A. (2008). Anti-Müllerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility*, *90*(6), 2203–2210. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.10.078>
- Xu, B., Chen, Y., Geerts, D., Yue, J., Li, Z., Zhu, G., & Jin, L. (2018). Cumulative live birth rates in more than 3,000 patients with poor ovarian response: A 15-year survey of final in vitro fertilization outcome. *Fertility and Sterility*, *109*(6), 1051–1059. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.001>
- Xu, B., & Li, Y. (2013). Flexible ovarian stimulation in a poor responder: A case report and literature review. *Reproductive Biomedicine Online*, *26*(4), 378–383. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.11.020>
- Xu, Y., Nisenblat, V., Lu, C., Li, R., Qiao, J., Zhen, X., & Wang, S. (2018). Pretreatment with coenzyme Q10 improves ovarian response and embryo quality in low-prognosis young women with decreased ovarian reserve: A randomized controlled trial. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, *16*(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0343-0>
- Xu, Y.-M., Hao, G.-M., & Gao, B.-L. (2019). Application of Growth Hormone in in vitro Fertilization. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 502. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00502>
- Yılmaz, N., Ceran, M. U., Ugurlu, E. N., Gülerman, H. C., & Engin Ustun, Y. (2020). GnRH agonist versus HCG triggering in different IVF/ICSI cycles of same patients: A retrospective study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology: The Journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*, *40*(6), 837–842. <https://doi.org/10.1080/01443615.2019.1674262>
- Younis, J. S., Ben-Ami, M., & Ben-Shlomo, I. (2015). The Bologna criteria for poor ovarian response: A

- contemporary critical appraisal. *Journal of Ovarian Research*, 8, 76.
<https://doi.org/10.1186/s13048-015-0204-9>
- Yu, S., Long, H., Chang, H. Y., Liu, Y., Gao, H., Zhu, J., Quan, X., Lyu, Q., Kuang, Y., & Ai, A. (2018). New application of dydrogesterone as a part of a progestin-primed ovarian stimulation protocol for IVF: A randomized controlled trial including 516 first IVF/ICSI cycles. *Human Reproduction*, 33(2), 229–237. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex367>
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Dyer, S., Racowsky, C., de Mouzon, J., Sokol, R., Rienzi, L., Sunde, A., Schmidt, L., Cooke, I. D., Simpson, J. L., & van der Poel, S. (2017). The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertility and Sterility*, 108(3), 393–406. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005>
- Zhang, D., Yuan, X., Zhen, J., Sun, Z., Deng, C., & Yu, Q. (2020). Mildly Higher Serum Prolactin Levels Are Directly Proportional to Cumulative Pregnancy Outcomes in in-vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 584. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00584>
- Zhang, J. (2015). Luteal phase ovarian stimulation following oocyte retrieval: Is it helpful for poor responders? *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 13, 76. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0076-2>
- Zhang, J., Liu, H., Luo, S., Lu, Z., Chávez-Badiola, A., Liu, Z., Yang, M., Merhi, Z., Silber, S. J., Munné, S., Konstantinidis, M., Wells, D., Tang, J. J., & Huang, T. (2017). Live birth derived from oocyte spindle transfer to prevent mitochondrial disease. *Reproductive Biomedicine Online*, 34(4), 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.01.013>
- Zhang, Y., Zhang, C., Shu, J., Guo, J., Chang, H.-M., Leung, P. C. K., Sheng, J.-Z., & Huang, H. (2020). Adjuvant treatment strategies in ovarian stimulation for poor responders undergoing IVF: A systematic review and network meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 26(2), 247–263. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz046>