

Résultats de l'ICSI chez les mauvaises répondeuses : protocole court vs protocole long

Short vs long agonist protocols in poor responders undergoing IVF

Kdous Moez, Elabed Meriem, Zhioua Fethi, Amel Zhioua,

*Service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction. CHU Aziza Othmana – Tunis.
Faculté de médecine de Tunis. Tunisie.*

RÉSUMÉ

But : comparer chez les mauvaises répondeuses : les résultats de la stimulation, les paramètres de laboratoire et l'issue finale de la FIV en considérant 2 protocoles de stimulations différents : le protocole agoniste long et le protocole agoniste court.

Méthodes : Étude rétrospective analytique menée sur 2 ans, entre janvier 2006 et décembre 2007. Pendant cette période, un total de 1192 cycles de FIV de type ICSI a été réalisé chez 892 patientes. Critères d'inclusion : Patientes stimulées selon un protocole agoniste (long ou court) et présentant deux des trois critères suivants : 1. Patientes âgées de plus de 38 ans, ayant un taux plasmatique de FSH au 3ème jour du cycle > 9,5 UI/ml, 2. Compte des follicules antraux (CFA) ≤ 5 pour les deux ovaires, 3. Echec de stimulations ovariennes antérieures : Abandon d'un cycle ou < 3 ovocytes au recueil lors d'un cycle antérieur. Critères d'exclusion : SOPK ou ovaire unique.

Résultats : 65 patientes totalisant 92 tentatives d'ICSI ont pu être incluses dans l'étude. 48 cycles étaient selon le protocole agoniste long et 44 cycles selon le protocole agoniste court. Les deux groupes étaient comparables pour l'âge, le BMI, le type d'infertilité (primaire 41% vs 59%; NS ; ou secondaire 58,% vs 40,9% ; NS), la FSH de base ($9,98 \pm 2,42$ vs $10,01 \pm 2,75$; NS) et le compte des follicules antraux à J3 ($4,13 \pm 1,12$ vs $3,8 \pm 1,16$ FA ; NS). Le taux d'œstradiol, dosé le jour du déclenchement était significativement supérieur dans le groupe protocole court ($1534,27 \pm 1034,34$ vs $1133,31 \pm 1053,58$ pg/ml; $p=0.034$) et ce en dépit d'une consommation significativement moindre de gonadotrophines ($1550 \pm 235,45$ vs $1725,55 \pm 450,35$ UI, $p=0.01$). Un total de 13 cycles a été annulé : 9 fois pour le protocole long (18,75%) et 4 fois pour le protocole court (9,09%). Le nombre total d'ovocytes recueillis ainsi que le nombre d'ovocytes en MII étaient significativement plus élevés avec le protocole court. Les taux de fécondations étaient comparables. Nous avons obtenu significativement plus d'embryons dans le groupe protocole court ($4,31 \pm 2,9$ vs $2,16 \pm 2,2$ embryons ; $p<0,001$). avec un nombre moyen d'embryons de grade 1 ($2,61$ vs $1,14$ embryons; $p<0.001$). Les résultats en termes de grossesse et de naissances vivantes ne montrent aucune différence significative entre les deux groupes.

Conclusion: Le protocole court est plus adapté au profil ovarien des mauvaises répondeuses que le protocole long. Le protocole long standard n'a pas de place dans le cadre de la stimulation ovarienne chez les mauvaises répondeuses. En revanche, le protocole long micro dose et le protocole long micro dose diminué donnent des résultats au moins équivalents à ceux du protocole court.

Mots-clés

IVF, ICSI, mauvaises répondeuses, agoniste court, agoniste long.

SUMMARY

Aim: Compare among poor responders: stimulation results, laboratory parameters and the final IVF results by assessing 2 different stimulation protocols: the long agonist protocol and the short agonist protocol.

Methods: An analytical retrospective study carried out over of period of 2 years: January 2006 and December 2007. During this period, a total of 1192 IVF cycles of ICSI type were performed in 892 patients. Inclusion criteria: short agonist or antagonist stimulated patients protocols and presenting two of the three following criteria: 1- Patients aged more than 38 years with an FSH plasmatic rate on the 3rd day of the cycle > 9.5 UI/ml. 2- Antral follicle count (AFC) ≤ 5 for both ovaries. 3- Failure of anterior ovary stimulation: abandonment of cycle or < 3 oocytes at data collection in a previous cycle. Exclusion criteria: PCOS or single ovary.

Results: 65 patients, undergoing 92 attempts of ICSI cycles have been included in this study. Long agonist protocol was performed in 48 cases and Short agonist protocol was performed in 44 cycles. Both groups were comparable as to age ($40,09 \pm 6,59$ vs $41,04 \pm 1,71$ years; NS), BMI ($25,2 \pm 3,92$ vs $25,35 \pm 4,09$ Kg-m⁻² ; NS), infertility type (primary 41% vs 59%; NS ; ou secondary 58% vs 40,9% ; NS), FSH ($9,98 \pm 2,42$ vs $10,01 \pm 2,75$; NS) and antral follicle count on day 3 ($4,13 \pm 1,12$ vs $3,8 \pm 1,16$ FA ; NS). The estradiol rate, dosed on the onset day was significantly higher in the short protocol group ($1534,27 \pm 1034,34$ vs $1133,31 \pm 1053,58$ pg/ml; $p=0.034$). However, the consumed quantity of gonadotrophins was lower in the short protocol group ($1550 \pm 235,45$ vs $1725,55 \pm 450,35$ UI, $p=0.01$). A total of 13 cycles was stopped: 9 times for the long protocol (18.75 %) and 4 times for the short protocol (9.09 %) with statistically significant difference. The number of collected oocytes was significantly higher in the short protocol ($7,64 \pm 3,70$ vs $4,55 \pm 2,01$, $P<0.001$). We significantly obtained more embryos in the short protocol ($4,31 \pm 2,9$ vs $2,16 \pm 2,2$ embryos ; $p<0,001$). With higher number of grade 1 embryos ($2,61$ vs $1,14$ embryos; $p<0.001$). The results in terms of pregnancy and living births show no significant difference between the 2 groups.

Conclusion: The short protocol is more suited to the profile of ovarian poor responders. The long protocol standard has no place in poor responders. However, the long micro dose protocol and the long degressed micro dose protocol yield results at least equivalent to the short protocol.

Key- words

IVF, ICSI, Poor responders, short agonist, long agonist.

Les mauvaises répondeuses sont les patientes qui posent les problèmes les plus difficiles en Assistance Médicale à la Procréation. Récemment, lors de l'ESHRE Campus Workshop organisé à Bologne (Italie) en Mars 2010 [1], à propos de la définition et du diagnostic des mauvaises répondeuses, des critères de consensus ont été établis sous l'appellation « critères de Bologne ». Selon ce consensus, la définition des mauvaises répondeuses repose sur deux des trois critères suivants :

- âge avancé 40 ans ou autre facteur de risque de mauvaise réponse ovarienne (anomalies génétiques, infection et chirurgie pelviennes, endométriose et chimiothérapie).
- Une réserve ovarienne faible (CFA <5-7 follicules ou AMH <0.5-1.1 ng/ml).
- Un antécédent de mauvaise réponse ovarienne à la stimulation (3 ovocytes avec un protocole de stimulation conventionnel)

Par ailleurs, selon ce même consensus, l'antécédent de deux épisodes de mauvaise réponse après stimulation conventionnelle maximale permet à lui seul de retenir le diagnostic de mauvaise répondeuse en l'absence d'un âge maternel avancé ou d'une réserve ovarienne altérée.

De nombreux protocoles de stimulations ont été proposés chez les mauvaises répondeuses afin d'améliorer l'issue de la FIV. Mais l'absence d'une définition précise d'une part et l'hétérogénéité des études d'autre part rend la comparaison des séries entre elles très approximatives

A travers ce travail, nous nous sommes proposés de comparer chez les mauvaises répondeuses : les résultats de la stimulation, les paramètres de laboratoire et l'issue finale de la FIV en considérant deux protocoles de stimulations différents : le protocole agoniste long et le protocole agoniste court.

MATERIEL ET METHODES

1. TYPE D'ETUDE

Étude rétrospective analytique à deux bras comparant chez une population de mauvaises répondeuses les résultats de deux protocoles de stimulation différents : agoniste long et agoniste court. Cette étude a été menée sur 2 ans, entre janvier 2006 et décembre 2007. Pendant cette période, un total de 1192 cycles de FIV de type ICSI a été réalisé chez 892 patientes.

2. PATIENTES

Critères d'inclusion :

Patientes stimulées selon un protocole agoniste (long ou court) et présentant deux des trois critères suivants (inspirés du consensus de l'ESHRE Campus Workshop organisé à Bologne, Mars 2010).

- Patientes âgées de plus de 38 ans, ayant un taux plasmatique de FSH au 3ème jour du cycle > 9,5 UI/ml [2, 3], et/ou
- Compte des follicules antraux (CFA) 5 pour les deux ovaires, et/ou
- Echec de stimulations ovariennes antérieures : Abandon d'un cycle antérieur pour non réponse à la stimulation ovarienne (dose moyenne de gonadotrophines > 225 UI/j); ou Moins de 3 ovocytes au recueil lors d'un cycle antérieur.

Critères d'exclusion :

- Patientes porteuses d'un syndrome des ovaires poly kystiques (SOPK) diagnostiquées selon les critères de la conférence de Rotterdam 2003 [4], quelque soit l'âge et le taux de FSH.
- Patientes porteuses d'un ovaire unique.

La prescription d'un protocole long ou d'un protocole court était un libre choix du médecin prescripteur. Tous les couples inclus dans notre étude ont bénéficié d'un bilan pré-ICSI comportant au minimum un bilan biologique (bilan hormonal de base chez la femme, spermogramme chez le conjoint et sérologies infectieuses chez le couple) et un bilan morphologique (une échographie pelvienne et une hystérocopie diagnostique chez la femme). Ces couples étaient préalablement informés de la technique et des données disponibles sur les grossesses et les enfants déjà nés et ont donné leur consentement éclairé.

3. PROTOCOLES THERAPEUTIQUES

3.1. Protocole long :

La stimulation ovarienne est précédée chez toutes les patientes par une désensibilisation hypophysaire par une injection unique de DECAPEPTYL® LP 3 mg en IM le premier jour du cycle ou bien au 23^{ème} – 24^{ème} jour du cycle précédent. Le contrôle de la désensibilisation hypothalamo-hypophysaire se fait 15 à 18 jours après l'injection du DECAPEPTYL® par un dosage de l'oestradiolémie (E2) et de la LH. La stimulation ovarienne est débutée après avoir obtenu la désensibilisation hypophysaire (Un taux d'E2 inférieur ou égal à 50 pg/ml et un taux de LH inférieur ou égale à 2 UI/ml) par l'injection quotidienne en sous cutané de FSH recombinante (Gonal F® des ampoules de 75UI Merck Serono) jusqu' au jour du déclenchement.

3.2. Protocole court :

La désensibilisation hypophysaire commence au 1er jour des règles par du DECAPEPTYL® 0,1 mg en injections sous-cutanées quotidiennes associées aux gonadotrophines (Gonal F® des ampoules de 75UI) à partir de j2 ou j3 jusqu'au jour du déclenchement.

3.3 Déroulement de la tentative

Le monitoring de l'ovulation a été réalisé par des échographies endo-vaginales et des dosages de l'E2 à partir de J5 de stimulation. Le déclenchement de l'ovulation a été réalisé par de l'HCG (10000 ou 5000 UI) ou par l'Ovitrelle 250. Le recueil des ovocytes s'est fait par ponction écho-guidée par voie endo-vaginale. Celui des spermatozoïdes par masturbation ou par ponction épидидymaire ou biopsie testiculaire en cas d'azoospermie ou d'échec de prélèvement. L'ICSI a été utilisée chez toutes les patientes comme technique de fécondation. Les embryons ont été transférés à J2 ou J3 post ponction. Un maximum de deux embryons a été transféré dans tous les cas. Un traitement de soutien de la phase lutéale par progestatifs naturels était administré à toutes les patientes (Utrogestan200® 1cp x 2/jour et Progesterone Retard® 1 ampoule en intramusculaire tous les trois jours). Ce traitement est débuté le jour du transfert et poursuivi pendant une durée de 15 jours. Une grossesse clinique était définie par la visualisation à l'échographie d'un ou de plusieurs sacs gestationnels avec activité cardiaque.

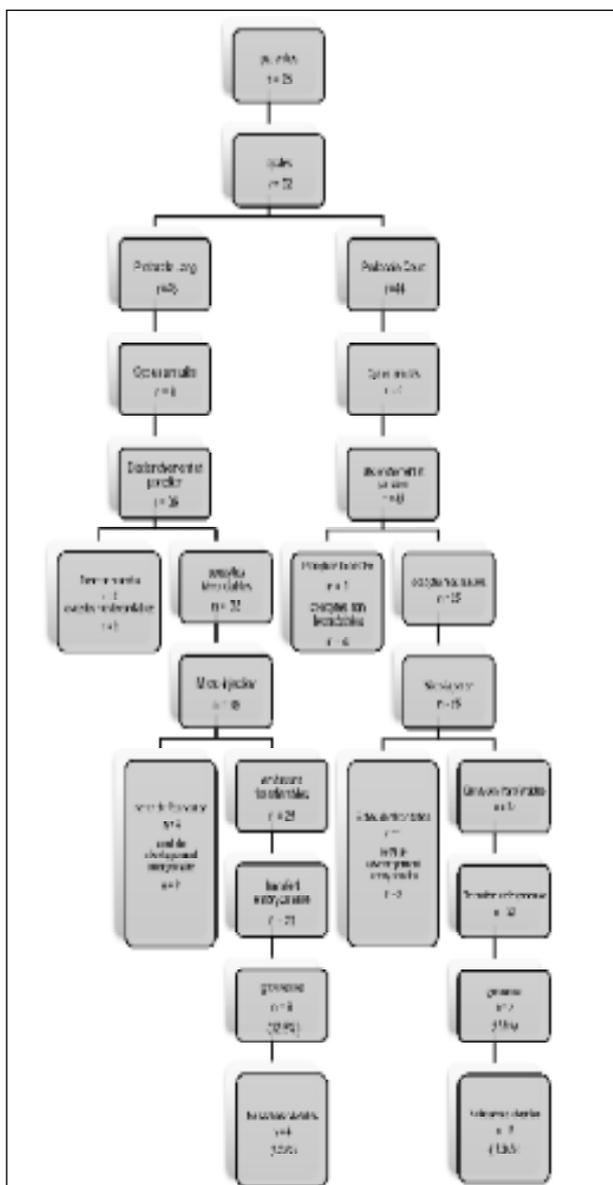
4. ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel SPSS 13.0 Pour la comparaison des taux et des moyennes, nous avons utilisé le Test de Student, et en cas de faible effectif le test non paramétrique de Mann et Whitney ; le seuil de signification était fixé à 0,05.

RESULTATS

65 patientes ont pu être incluses dans l'étude. Toutes ces patientes ont bénéficié d'une FIV de type ICSI. 41 patientes étaient à leur première tentative, 21 patientes à leur deuxième tentative et 3 patientes à leur troisième tentative. Nous avons ainsi totalisé 92 cycles de stimulation dont 48 cycles selon le protocole agoniste long, 44 cycles selon le protocole agoniste court (Annexe 1).

Annexe 1



Les deux groupes (protocole long, protocole court) étaient comparables pour l'âge (39,8±5,7 vs 40,09±6,59 ans; NS), le BMI (25,2±3,92 vs 25,35±4,09 Kgm-2 ; NS), le type d'infertilité (primaire 41,66% vs 59%;NS ; ou secondaire 58,33% vs 40,9% ; NS), la FSH de base (9,98±2,42 vs 10,01±2,75 ; NS) et le compte des follicules antraux à J3 (4,13±1,12 vs 3,8±1,16 FA ; NS).

Nos résultats montrent que Le taux d'œstradiol, dosé le jour du déclenchement était significativement supérieur dans le groupe protocole court (1534,27±1034,34 vs 1133,31±1053,58 pg/ml; p=0.034) et ce en dépit d'une consommation significativement moindre de gonadotrophines (1550±235,45 vs 1725,55±450,35 UI, p=0.01). Un total de 13 cycles a été annulé : 9 fois pour le protocole long (18,75%), 4 fois pour le protocole court (9,09%) (Tableau 1).

Tableau 1 : Paramètres de stimulation.

	Protocole long (n=48)	Protocole court (n=44)	p
Nombre d'unités de FSH-r consommées(UI)	1725,55±450,35a	1550±235,45b	p=0.010
Durée de la stimulation (Jours)	11,7±0,86a	11,39±0,79b	p=0.037
Taux d'E2 (pg/ml)	1133,31±1053,58a	1534,27±1034,34b	p=0.034
Epaisseur endomètre (mm)	10,8±2,1 a	11,1±2,8 b	p= 0.560
Taux d'annulation	18,75%a	9,09%b	p= 0.183

Les données de la ponction et de la micro-injection montrent que le nombre total d'ovocytes recueillis ainsi que le nombre d'ovocytes en MII étaient significativement plus élevés avec le protocole court. En revanche, les taux de fécondations étaient comparables. Nous avons obtenu significativement plus d'embryons dans le groupe protocole court (4,31±2,9 vs 2,16±2,2 embryons, p<0,001) ; avec une qualité embryonnaire significativement meilleure dans ce même groupe. En effet, le nombre moyen d'embryons de grade 1 obtenus était respectivement de 2,61 vs 1,14 embryons (p<0.001) (Tableau 2). Enfin, nos résultats en terme de grossesse et de naissances vivantes ne montrent aucune différence significative entre les deux groupes. (Tableau 3).

Tableau 2 : Paramètres de laboratoires (long vs court).

	Protocole long (n=48)	Protocole court (n=44)	p
Nombre d'ovocytes recueillis	4,55±2,01a1	7,64±3,70b1	p<0.001
Métaphase II	3,52±4,84a2	5,88±4,38b2	p=0.008
Taux de fécondation	59,31% a	68,76%b	p=0.346
Nombre moyen d'embryons obtenus	2,16±2,20a1	4,31 ± 2,90b1	p <0.001
Nombre moyen d'embryons de grade1	1,14±0,70a2	2,61±1,45b2	p <0.001
Taux d'implantation	6,25%a	8,28%b	p= 0.707

Tableau 3 : Grossesses et naissances vivantes (long vs court)

	Protocole	Protocole	P
	long (n=48)	court (n=44)	
Taux de grossesses cliniques/cycle	12,50%a1	15,90%b1	p= 0.640
Taux de grossesses Cliniques/ponction	15,38%a2	17,50%b2	p= 0.783
Taux de grossesse clinique/Transfert	21,42%a3	21,87%b3	p=0.958
Naissances vivantes/cycle	4(8,33%)a4	5(11,36%)b4	p= 0.625

DISCUSSION

Dans notre série, la dose totale de FSH consommée était significativement plus élevée dans le groupe protocole long par rapport au protocole court (1725,55±450,35 vs 1547,72±317,81; p=0.031). Cette consommation plus élevée de gonadotrophines exogènes observée dans le protocole long est due à un état de désensibilisation hypophysaire plus prononcé et à une suppression complète de la sécrétion de LH [5, 6, 7]. Le nombre d'ovocytes recueillis était significativement plus important dans le groupe protocole court (7,64±3,7 vs 4,55±2,01 ; p<0,001). Il en est de même pour le nombre d'ovocytes en métaphase II (5,88±4,38 vs 3,52±4,84 ; p<0,001). Nos résultats sont concordants avec les différentes séries publiées [8, 9, 10, 11, 12, 13]. En réalité, chez les mauvaises répondeuses, la quasi majorité des séries, comparent des protocoles long ou courts « modifiés », partant du principe que les protocoles standards ne sont pas les mieux adaptés au profil ovarien de ces patientes. Deux types de protocoles longs ont été proposés chez les mauvaises répondeuses : le protocole long micro dose (agoniste 0.1mg), il donne des résultats variables, allant d'une augmentation des ovocytes récupérés et des taux de grossesse [14], à l'absence de bénéfice [15]; ou encore le protocole long micro dose diminué : protocole long avec dégression des doses après contrôle de la désensibilisation (agoniste 0.1 mg/j jusqu'à la désensibilisation, puis diminué à 0.05 mg/j) dans le but de minimiser l'effet inhibiteur des agonistes sur la réponse ovarienne. Ainsi, Feldberg [16] sur 106 mauvaises répondeuses, a montré que la réduction des doses d'agonistes en protocole long, de 0,1 mg/j à 0,05 mg/j permet une amélioration des paramètres de la stimulation et du taux de grossesse. De même, Ben Rafael [17] a proposé une réduction des doses d'agoniste de la GnRH en protocole

long chez des mauvaises répondeuses selon trois protocoles : 0.1 mg/j de triptoréline rapide diminuée à 0.05mg/j une fois la désensibilisation obtenue contre 3.75 mg/j diminuée à 0.1mg/j et 0.5 mg/j diminuée à 0.1mg/j ; les meilleurs résultats ont été obtenus avec le premier protocole, lorsque la dose de désensibilisation initiale était la plus faible. Concernant le protocole court, plusieurs études ont démontré que des doses moindres d'agonistes durant le protocole court, induisent un effet "flare up" meilleur pour un recrutement folliculaire optimal. Surrey [10], Scott [12] et Schoolcraft [18] ont administré des micro doses d'agonistes de la GnRH (0.05mg/jour), ce qui leurs a permis d'augmenter le nombre d'ovocytes recueillis mais aussi la qualité ovocytaire et embryonnaire et même les résultats en terme de grossesse et de naissances vivantes. D'autres auteurs [9] proposent, des protocoles courts diminués avec une dose importante d'agoniste administrée au départ (1 mg/j ou 0.5mg/j pendant 3 ou 4 jours) ; leur argument est améliorer l'effet flare-up et par conséquent le recrutement folliculaire. La dose d'agoniste est ensuite diminuée (0.25mg/j ou 0,1 mg/j) jusqu'au jour du déclenchement. Par ailleurs, certains auteurs [19] ont proposé durant le protocole court micro dose un blocage préalable par des oestroprogestatifs, afin d'éviter l'action des agonistes sur le corps jaune résiduel du cycle précédent (qui accentuerait l'élévation de la LH et des androgènes) sans pour autant entraîner un blocage hypophysaire prononcé. Lindheim [20] a comparé chez des femmes mauvaises répondeuses un protocole court micro dose et un protocole court micro dose avec prétraitement par oestroprogestatifs et a montré l'intérêt de ce dernier protocole en terme de grossesse et d'annulations de cycles. Cependant, ces résultats n'ont pas été toujours vérifiés par d'autres auteurs [21, 22]. Plusieurs séries ont comparé les protocoles longs modifiés aux protocoles courts modifiés chez les mauvaises répondeuses, les résultats sont variables, il semble cependant que le protocole long micro dose diminué donne des résultats au moins similaires au protocole court micro dose avec prétraitement par oestroprogestatifs. (Tableau 4)

Nous avons obtenu plus d'embryons dans le groupe protocole court (4,31 ± 2,9 vs 2,16±2,2; p=0,03), du fait d'un plus grand nombre d'ovocytes mûres obtenus (5,88±4,38 vs 3,52±4,84 ; p<0,001). Le nombre d'embryons de bonne qualité (grade 1) était aussi significativement plus important avec le protocole court (2,61±1,45 vs 1,14±0,7; p=0,002). Dans la littérature, la qualité embryonnaire, toutes comparaisons confondues, entre protocole court et protocole long ne montre pas la supériorité de l'un par rapport à l'autre [6, 8, 16, 23]. Concernant l'implantation, Certains auteurs [24, 25, 26, 27], ont rapporté des taux d'implantation significativement inférieurs dans le

Tableau 4 : Nombre d'ovocytes recueillis (long vs court).

	Nombre de cycles		Nombre d'ovocytes	
	Long	Court	Long	Court
Barri [13] (long standard/court standard)	524	214	13,60±7,40	6,1±4,20*
Surrey [10] (long standard/court micro dose)	34	34	7,90±2,20	9,8±3,40*
Yakin [8] (long micro dose/court micro dose)	46	67	8,30±4,40	6,2±4,30*
Weissman [6] (Long micro dose diminué/court diminué)	31	29	4,42±2,60	3,07±20*
Merviel [9] (long micro dose diminué/court micro dose+OP)	339	310	3.80 ± 2.80	6.0 ± 4.10*
Notre série (long standard/court standard)	48	44	4,55±2	7,64±3,70*

* p <0.05

Tableau 5 : Taux de grossesses cliniques par transfert (long vs court)

	Nombre de cycles		Nombre d'ovocytes	
	Long	Court	Long	Court
Barri [13] (long standard/court standard)	524	214	48,40%	32,70%*
Surrey [10] (long standard/court micro dose)	34	34	0%	33, 30%*
Yakin [8] (long micro dose/court micro dose)	46	67	28%	16%
Weissman [6] Long micro dose diminué/court diminué	31	29	25,90%	5%
Merviel[9] (long micro dose diminué/court micro dose+OP)	339	310	6,60%	17,20%*
Notre série (long standard/court standard)	48	44	21,42%	21,87%

* p <0.05

groupe protocole court malgré un nombre et une qualité similaire des embryons transférés. Ces auteurs ont suggéré un possible effet délétère sur l'endomètre d'un taux élevé de la LH (durant la phase folliculaire), soit directement par le biais des récepteurs à la LH (retrouvés dans l'endomètre, le myomètre et les cellules de la paroi des vaisseaux utérins), soit indirectement par l'intermédiaire de l'élévation du taux de progestérone. Dans notre étude, le taux d'implantation était comparable entre protocole long et court (6,25% vs 8,28%; NS). Des résultats similaires ont été retrouvés dans différentes séries [7,10,12,18]

Quand aux taux de grossesses et de naissances vivantes. Les résultats des différentes séries publiées sont divergents [6, 8, 9, 10, 13]. Il ressort néanmoins, que les meilleurs taux semblent être

obtenus, encore une fois, soit avec le protocole agoniste long micro dose diminué, soit avec le protocole agoniste court micro dose avec prétraitement par un oestroprogestatif. (Tableau 5).

CONCLUSION

Le protocole court est plus adapté au profil ovarien des mauvaises répondeuses que le protocole long (le court micro dose± prétraitement par des oestroprogestatifs donnerait les meilleurs résultats). Le protocole long standard n'a pas de place dans le cadre de la stimulation ovarienne chez les mauvaises répondeuses. En revanche, le protocole long micro dose et le protocole long micro dose diminué donnent des résultats au moins équivalents à ceux du protocole court.

Références

- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L; on behalf of the ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod* 2011;26 :1616-1624.
- Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimüllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertil Steril* 2004;82:1323-9.
- Peñarrubia J, Balasch J, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Moreno V, Calafell JM, Vanrell JA. Day 5 inhibin B serum concentrations as predictors of assisted reproductive technology outcome in cycles stimulated with gonadotrophin-releasing hormone agonist-gonadotrophin treatment. *Hum Reprod* 2000;15:1499-504.
- Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome .The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2004;81:19-25.
- Detti L, Williams DB, Robins JC, Maxwell RA, Thomas MA. A comparison of three downregulation approaches for poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2005;84:1401-1415.
- Weissman A, Farhi J, Roybitrt M. Prospective evaluation of two stimulation protocols for low responders who were undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2003; 79:886-892
- Ta demir M, Ta demir I, Kodama H, Fukuda J, Tanaka T. Short protocol of gonadotropin releasing hormone agonist administration gave better results in long protocol poor-responders in IVF-ET. *J Obstet Gynecol* 1996;22:73-7.
- Yakin K, Kahraman S, Vanlioglu F, Kumtepe Y, Findikli N. Comparison of microdose and standard doses of GnRH analogue in flare protocols for controlled ovarian hyperstimulation in poor responders. *Fertil Steril* 2000;76:337.
- Merviel P, Lourdel E, Boulard V, Cabry R, Claeys C, Oliéric MF, Sanguinet P, Brasseur F, Henri I, Copin H. Premature ovarian failure: which protocols?. *Gynecol Obstet Fertil* 2008;36:872-81.
- Surrey E, Bower J, Hill D, Ramsey J, Surrey M. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998; 69:419 -24.
- Reshef E, Lei Z.M, Rao ChV, Pridham D.D, Chegini N, Luborsky J.L. The presence of gonadotropin receptors in nonpregnant human uterus, human placenta, fetal membranes, and decidua. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:421-30.
- Scott RT, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994;61:880-5.
- Barri PN, Coroleu B, Martinez F, Veiga A. Stimulation protocols for poor responders and aged women. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 166:15-20.
- Cummins J, Yovich J, EdirisingheW, Yovich J. Pituitary down-regulation using leuprolide for the intensive ovulation management of poor prognosis patients having in vitro fertilization treatments. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1989;6:345-52.
- McKenna K, Foster P, McBain J, Martin M, Johnston W. Combined treatment with gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins in poor responders to hyperstimulation for in vitro

- fertilization (IVF): clinical and endocrine results. *Aus NZJ Obstet Gynecol* 1989;29:428-32.
16. Feldberg D, Farhi J, Ashkenazi J, Dicker D, Shalev J, Ben Rafael Z. Minidose gonadotropin releasing hormone agonist is the treatment of choice in poor responders with high follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1994; 62:343-6.
 17. Ben-Rafael Z, Benadiva CA, Ausmanas M, Barber B, Blasco L, Flickinger GL, et al. Dose of human menopausal gonadotropin influences the outcome of an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1987;48: 964-8.
 18. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. *Fertil Steril* 1997;67:93-7.
 19. Biljan M, Mahutte N, Dean N, Hemmings R, Bissonnette F, Tan S. Effects of pretreatment with an oral contraceptive on the time required to achieve pituitary suppression with gonadotropin-releasing hormone analogues and on subsequent pregnancy rates. *Fertil Steril* 1998;70:1063-9.
 20. Lindheim S, Barad D, Witt B, Ditkoff E, Sauer M. Short-term gonadotropin suppression with oral contraceptives benefits poor responders prior to controlled ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet* 1996;16:745-7.
 21. Al-Mizyen E, Sabatini L, Lower AM, Wilson CMY, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Does pretreatment with progestogen or oral contraceptive pills in low responders followed by the GnRH-a flare protocol improve the outcome of IVF-ET? *J Assist Reprod Genet* 2000;17:140-6.
 22. Leondires MP, Escalpes M, Segars JH, Scott RT, Miller BT. Microdose follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRH-a) compared with luteal phase GnRH-a for ovarian stimulation at in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999;72:1018-23.
 23. Olivennes F, Fanchin R, De Ziegler D, Frydman R. Poor responders: screening and treatment possibilities. *J Assist Reprod Genet* 1993;10:115-7.
 24. Tavmergen E, Göker EN, Sendag F, Sendag H, Levi R. Comparison of short and long ovulation induction protocols used in ART applications according to the ovarian response and outcome of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 2002;266:5-11.
 25. Loutradis D, Stefanidis K, Drakakis P, et al. Comparison between "short" and "long" protocols in an ICSI programme. *European Journal of Obstetrics & Gynecol Reprod Biol* 2005;120:69-72.
 26. Hillier S.G. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994;9:188-91.
 27. Valbuena D, Martin J, De Pablo JL. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertil Steril* 2001;76:962-8.