

LA GESTIONE DELLE PAZIENTI IPO-RESPONSIVE ALLA SUPEROVULAZIONE

Gerardo D'Ambrogio, Maurizio Mangia

U.O. di Ostetricia e Ginecologia, "S. Giuseppe da Copertino", Copertino

Indirizzo per corrispondenza: Dott. Gerardo D'Ambrogio

U.O. di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale "S. Giuseppe da Copertino"

Via Cariano snc - 73043 Copertino, Lecce

tel: +39 083 2966111; fax: +39 083 2936263; e-mail: gdambrogio@libero.it

ABSTRACT

In vitro fertilization programs need multiple ovulation induction in order to obtain satisfying results. However, in some patients it is not possible to obtain an adequate number of follicles. These patients are commonly named low or poor responders. Usually they are characterized by normal ovulatory cycle, nevertheless the answer to ovulation induction is insufficient. This leads, sometimes, to cancellation of the IVF cycle, with a very low pregnancy rate.

Key words: *IVF, poor responders, gonadotrophins, pregnancy rate*

RIASSUNTO

I programmi di fertilizzazione in vitro necessitano di una induzione multipla dell'ovulazione per portare a risultati soddisfacenti. A volte, però, alcune pazienti sottoposte a terapie per induzione multipla non soddisfano gli obiettivi prefissati in quanto non riescono a maturare un numero sufficiente di follicoli (1). Questo gruppo di donne viene comunemente definito low oppure poor responders. Si tratta di donne generalmente normovulatorie con inadeguata risposta alla superovulazione, alle quali viene fatta diagnosi retrospettiva in quanto la risposta alla induzione, può essere considerata solo a termine del ciclo. Ciò conduce, talune volte, alla cancellazione dei cicli di fecondazione o, nei casi in cui può effettuarsi il prelievo ovocitario, a pregnancy rates molto basse (2).

Parole chiave: *IVF, poor-responders, gonadotropine, pregnancy rate*

INTRODUZIONE

Le pazienti poor responders possono presentare varie caratteristiche: età avanzata con profilo endocrinologico alterato e verosimile riduzione della riserva ovarica; età giovanile con caratteristiche endocrinologiche similari alle precedenti, ed infine pazienti giovani con profilo ormonale regolare. Queste ultime sono quelle che danno minori possibilità d'approccio in quanto difficili da diagnosticare e da trattare. Le cause della ridotta riserva ovarica sono rappresentate nella Tabella I.

Tabella I: Cause di scarsa risposta ovarica

- Età della paziente
- Pregressa chirurgia ovarica
- Fattori genetici
- Fattori endocrinologici
- Cause immunologiche
- Endometriosi
- Obesità
- Fattori infettivologici
- Sine causa

Dal punto di vista patogenetico, estrema importanza è stata riconosciuta all'azione dell'ossido nitrico sui distretti vascolari ovarico ed uterino, quale

modulatore della perfusione di questi due organi. Infatti, anche se non è stato ancora individuato il perfetto meccanismo d'azione, diversi studi in letteratura evidenziano il ruolo importante svolto dall'ossido nitrico nella maturazione follicolare, nella ovulazione e nella induzione dell'ovulazione multipla nei programmi di fecondazione in vitro (IVF) (3, 4). Manau et al hanno evidenziato una stretta correlazione tra le concentrazioni di nitriti/nitrati, la risposta ovarica, il tasso di fertilizzazione e la pregnancy rate. La somministrazione di L-arginina, precursore dell'ossido nitrico in vivo, inoltre, pare essere in grado di modulare la permeabilità e aumentare la perfusione uterina, migliorando la risposta ovarica, la recettività endometriale e la pregnancy rate (5, 6).

Bisogna inoltre ricordare che il normale processo di follicologenesi non è influenzato solamente dall'azione delle gonadotropine ipofisarie. Altri fattori quali l'ormone stimolante la crescita (Growth Hormone - GH), l'IGF-I (insulin-like-growth-factor), e l'EGF (epidermal-growth-factor) sembrano agire come regolatori dello sviluppo e della funzione follicolare. Alcuni studi hanno infatti dimostrato che, in cicli IVF, la somministrazione di GH, in aggiunta alle gonadotropine, migliora lo sviluppo follicolare sia nelle pazienti normali sia nelle poor-responders (7).

Dal punto di vista diagnostico i parametri che vengono analizzati nei diversi studi in letteratura per predire la scarsa riserva ovarica sono i seguenti: incremento giornaliero dell'estradiolo inferiore a 200 nmol/24 ore (8) o inferiore del 40% die (9), numero di follicoli presenti al momento della somministrazione dell'HCG (Human Chorionic Gonadotropin) non superiore

ai 2-3 (10, 8, 11), numero di ovociti prelevati inferiore a 3 (11, 12), numero di fiale di gonadotropine utilizzate per indurre una superovulazione uguale o maggiore a 58, concentrazioni plasmatiche di E2 nel giorno di somministrazione dell'HCG comprese tra valori inferiori o uguali a 300 pg/ml a valori inferiori o uguali a 1300 pg/ml. Quest'ultimo parametro considera un range talmente ampio da renderlo scarsamente attendibile.

Pertanto, a tutt'oggi si è ancora alla ricerca di test predittivi in grado di poter riconoscere le pazienti poor responders ancor prima di sottoporle ad un ciclo di induzione multipla, in modo da poter informare correttamente la coppia sulle aspettative di successo e da non attuare protocolli inefficaci, con la successiva cancellazione del ciclo.

L'età anagrafica della donna rappresenta un fattore scarsamente predittivo, nonostante numerosi studi affermino che a partire dai 38 anni le gonadotropine esogene hanno una minore efficacia nella stimolazione follicolare, con conseguente ridotta secrezione di estrogeni e scarso recupero ovcitario. I test elencati nella Tabella II permettono di predire l'insufficiente risposta ovarica. Tuttavia, pur essendo largamente utilizzati nella pratica clinica, non sono dotati di un'elevata specificità.

Tabella II: Test predittivi di scarsa risposta ovarica

- FSH basale
- Estradiolo basale e FSH basale
- Valutazione ecografica dell'ovaio
- Inibina B
- Test al clomifene citrato
- FSH test di stimolazione
- Valutazione capacità angiogenica

Il test più semplice, poco costoso e meno invasivo per la valutazione della riserva ovarica è il dosaggio basale dell'FSH, da effettuarsi in terza giornata del ciclo mestruale (fase follicolare precoce). Diversi studi hanno messo in evidenza, per valori basali di FSH superiori a 25 UI/l, una significativa riduzione della pregnancy rate (14, 15). Non si è rilevata alcuna modifica della predittività del test nonostante fosse presente una variabilità interciclica nelle pazienti, così come non vi è stata correlazione con la perdita iatrogena di una gonade. Inoltre, la selezione della campionatura per età ha fatto sì che non vi fossero interferenze legate a tale parametro nella valutazione dei dati raccolti. Va però ricordato che esistono pazienti poor-responders con valori di FSH basali apparentemente normali che attualmente sfuggono ad una valutazione predittiva.

Il dosaggio basale di FSH ed estradiolo è più efficace della sola valutazione dell'FSH, poiché valori elevati di estradiolo possono abbassare i livelli di FSH e nascondere così un deficit di riserva ovarica. Inoltre, un valore elevato di estradiolo può indicare uno stadio funzionale più avanzato nello sviluppo follicolare, con conseguente minor reclutamento ovcitario in corso di stimolazione. Un valore elevato di estradiolo, a prescindere del livello anche normale dell'FSH basale è sempre correlato con una riduzione della pregnancy rate (14, 16, 17).

Lo studio ecografico delle ovaie prevede la valutazione delle dimensioni e del numero di follicoli primordiali. Questi dati si correlano in maniera significativa con la predittività di riserva ovarica. Infatti, studi condotti in donne stimolate per programmi di IVF hanno evidenziato scarsa responsività per dimensioni ovariche inferiori a 3 cm (18, 19).

Più recente, come test predittivo di scarsa responsività ovarica, è il dosaggio ematico dell'inibina B, peptide prodotto verosimilmente dalla coorte di follicoli ovarici reclutati in fase follicolare precoce che agisce, successivamente, da inibitore del rilascio dell'FSH.

Il dosaggio di tale peptide, quindi, rappresentativo del reclutamento follicolare, può considerarsi marker biologico di riserva ovarica (20). Inoltre,

diversi studi hanno dimostrato come sia più predittivo il dosaggio dell'inibina rispetto a quello dell'FSH, in 3° giornata, nella valutazione dell'effettivo reclutamento follicolare (21). Esistono, infine, in letteratura studi che evidenziano come un basso dosaggio di inibina B al 3° giorno del ciclo si correli, in corso di induzione multipla dell'ovulazione, ad un minor numero di follicoli maturi, ad un aumento di cicli cancellati e ad una peggiore pregnancy rate (22). Tuttavia, occorre ricordare che il dosaggio dell'inibina B è ancora una tecnica abbastanza complessa e non routinaria nella pratica clinica.

Nel tentativo di individuare dei test predittivi della riserva ovarica sono stati presi in considerazione anche dei test endocrini dinamici. Tra questi il più semplice è il test al citrato di clomifene. Nato per valutare la riserva ovarica in pazienti di età superiore o uguale a 35 anni, si effettua somministrando 100 mg di citrato di clomifene dal 5° al 9° giorno del ciclo, dopo aver dosato l'FSH al 3° giorno e ripetendo il dosaggio in 10° giorno. Il test viene definito anormale quando la somma dei due valori risulta ≥ 26 mUI/ml. Tale anomalità si correla con una predittività $>$ del 90% e quindi con una buona sensibilità e specificità.

Questo test presenta una maggiore sensibilità rispetto al dosaggio dell'FSH basale al 3° giorno, ma è gravato da una maggiore incidenza di falsi positivi, soprattutto se utilizzato in una popolazione a basso rischio (23). Un altro test dinamico utilizzato per la valutazione della riserva ovarica è l'Exogenous FSH Ovarian Reserve Test (EFFORT), che determina i livelli plasmatici basali di FSH e l'incremento dell'estradiolo plasmatico dopo 24 ore dalla somministrazione, in terza giornata, di FSH purificato alla dose di 300 UI. Il valore predittivo del test positivo è del 90% mentre quello negativo è del 81% (12). Infine, studi recenti hanno correlato la scarsa risposta ovarica dopo stimolazione, con la minor velocità di per fusione, valutata attraverso l'utilizzo del color-Doppler, all'interno dello stroma ovarico (24).

MANAGEMENT INDUTTIVO NELLE POOR-RESPONDERS

Negli ultimi decenni, con l'avvento delle tecniche di riproduzione assistita, FSH urinari e urofollitropina sono stati utilizzati per indurre l'ovulazione multipla. Di conseguenza, anche il trattamento delle pazienti poor-responders ha beneficiato di tali sostanze in differenti protocolli per la stimolazione ovarica controllata. Dosaggi elevati di gonadotropine urinarie, di FSH ricombinante, di GH, di agonisti e antagonisti del GnRH rappresentano tuttora le armi più utilizzate nella pratica clinica.

Da un'accurata revisione della letteratura internazionale recente emerge che l'orientamento predominante per il trattamento delle pazienti poor-responders sia quello dell'utilizzo dell'FSH ricombinante con protocollo "step down", preceduto da una soppressione con agonisti del GnRH di tipo "flare". Questo tipo di approccio rappresenta la scelta più utilizzata, anche perché l'impiego di protocolli lunghi comporta il consumo di un maggior numero di fiale di gonadotropine, una pessima pregnancy rate ed una scarsa qualità degli ovociti e degli embrioni.

Alcuni autori hanno dimostrato l'efficacia di questo protocollo in uno studio di confronto tra pazienti alle quali venivano somministrate le gonadotropine secondo lo schema "step down" e pazienti sottoposte a stimolazione mediante somministrazione continua con gonadotropine, dopo soppressione con GnRH agonista somministrato dal 1° giorno del ciclo di IVF alla dose di 100µg/die, ridotto a 25µg/die dal 3° giorno del ciclo, e stimolazione con FSHr alla dose di 450UI/die dal 3° al 5° giorno. I risultati mostravano una significativa riduzione del numero di fiale di FSHr utilizzate nel braccio con protocollo "step down" rispetto a quello con somministrazione continua. Inoltre, le concentrazioni di estradiolo al momento della somministrazione di hCG, il numero di ovociti recuperati e la pregnancy rate risultavano invariati nei due bracci (25).

Altri studi hanno confrontato l'FSH ricombinante con quello urinario nel

protocollo precedentemente descritto, constatando come i dati emersi evidenziassero un maggior recupero di ovociti, una migliore maturità ovocitaria, una migliore qualità embrionaria ed una migliore pregnancy rate nel braccio in cui veniva utilizzato l'FSH ricombinante (26, 27).

In conclusione, è importante sottolineare che lo sviluppo del follicolo sem-

bra avvenire nella fase follicolare precoce. Di conseguenza, una volta avvenuto il reclutamento follicolare nelle pazienti poor-responders, l'incremento dei dosaggi delle gonadotropine non solo non produce dei vantaggi significativi, ma può portare ad un inutile incremento dei costi.

BIBLIOGRAFIA

1. Ben Rafael Z, Bider D, Dan U, et al. Combined gonadotrophin releasing hormone agonist/human menopausal gonadotrophin therapy (GnRH/hMG) in normal, high and poor-responders to hMG. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1991; 8:333-6.
2. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, et al. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104:521-7.
3. Tao M, Kodama H, Kagabu S, et al. Possible contribution of follicular interleukin-1 to nitric oxide generation in human pre-ovulatory follicles. *Human Reprod* 1997; 12:2220-5.
4. Manau D, Balash J, Jimenez W, et al. Follicular fluid concentrations of adrenomedullin, vascular endothelial growth factor, nitric oxide in IVF cycles: relationship to ovarian response. *Human Reprod* 2000; 15:1295-9.
5. Battaglia C, Salvatori M, Maxia N, et al. Adjuvant L-arginine treatment for in vitro fertilization in poor-responder patients. *Human Reprod* 1999; 14:1690-7.
6. Battaglia C, Mancini F, De Aloysio D. Management delle pazienti "poor responders". CIC Edizioni Internazionali. Atti del I° Congresso Nazionale "Qualità di vita della donna nel terzo millennio. Dall'adolescenza alla senescenza". Lecce 2002.
7. Artini PG, Battaglia C, D'Ambrogio G, et al. Relationship between human oocyte maturity, fertilization and follicular fluid growth factors. *Human Reprod* 1994; 9:902-6.
8. Owen J, West C, Mason B, et al. Co-treatment with growth hormone of suboptimal responders in IVF-ET. *Human Reprod* 1991; 6:524.
9. Smitz J, Devroey P, Camus M, et al. Addition of buserelin to human menopausal gonadotrophins in patient with failed stimulation for IVF or GIFT. *Human Reprod* 1988; 3:35.
10. Pellicer A, Ballester M, Serrano M, et al. Aetiological factors involved in the low response to gonadotrophins in infertile women with normal basal serum FSH level. *Human Reprod* 1994; 9:806.
11. Dor J, Sedman D, Amudai E, et al. Adjuvant growth hormone therapy in poor responders to in vitro-fertilization: a prospective randomised placebo-controlled double blind study. *Human Reprod* 1995; 10:40.
12. Fanchin R, De Ziegler D, Olivennes F, et al. Exogenous follicle stimulation hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable screening test for detecting "poor responders" in in vitro fertilization. *Human Reprod* 1994; 9:1607-11.
13. Ibrahim Z, Matson P, Buck P, et al. The use of biosynthetic human growth hormone to augment ovulation induction one agonist- with buserelin acetate/human menopausal gonadotrophin in women with a poor ovarian response. *Fertil Steril* 1991; 55: 202.
14. Scott RT, Toner JT, Mausher SJ, et al. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1990; 54:297-302.
15. Brown JR, Liu HC, Sewitch KF, et al. Variability of day 3 FSH level in eumenorrhoeic women. *J Reprod Med* 1995; 40:620-4.
16. Evers JLH, Slaats P, Land JA, et al. Elevated levels of basal estradiol predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998; 69:1010-4.
17. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR, et al. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997; 68:272-7.
18. Lass A, Brinsden P. The role of ovarian volume in reproductive medicine. *Human Reprod Update* 1999; 5:256-66.
19. Scheffer GJ, Broekmans FJM, Dorland M, et al. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999; 72:845-51.
20. Klein NA, Illinworth PJ, Groome NP, et al. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:2742-5.
21. Danfort DR, Arbogast LK, Mrouek J, et al. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian ageing. *Fertil Steril* 1998; 70:119-23.
22. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, et al. Day 3 serum inhibin B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997; 67:1010-14.
23. Barnhart K, Osberff J. Follicle stimulating hormone as a predictor of fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1998; 10:227-32.
24. Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, et al. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril* 1999; 71:22-9.
25. Cedrin-Durnerin I, Bstandig B, Herve F, et al. A comparative study of high fixed-dose and decremental-dose regimens of gonadotrophins in a minidose gonadotrophin-releasing hormone agonist flare protocol for poor responders. *Fertil Steril* 2000; 73:1055-6.
26. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, et al. Recombinant follicle stimulating hormone in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. *Human Reprod* 1999; 14:1431-4.
27. Ravhon A, Lawrie H, Ellenbogen A, et al. A prospective, randomized controlled trial comparing the efficacy of recombinant follicle-stimulating hormone in three different in vitro fertilization protocols. *Fertil Steril* 2000; 73:908-12.