

**Resultados obtenidos con el esquema de doble estimulación en pacientes con baja  
respuesta a la estimulación ovárica**

*Results obtained with the double stimulation scheme in patients with low response to ovarian  
stimulation*

Diego Gnocchi, Constanza Bezazian, Antonio Cattaneo, Marcela Irigoyen, Lautaro Tessari,

María Laura Pisanelli, Estefanía Martínez, A. Gustavo Martínez

*Medicina Reproductiva Fertilis, San Isidro, Buenos Aires, Argentina*

*E.mail: [agmartinez@fertilis.com.ar](mailto:agmartinez@fertilis.com.ar)*

**RESUMEN**

**Introducción:** La práctica de realizar estimulación ovárica en fase lútea, en ciclos con baja respuesta a la estimulación ovárica en la fase folicular, puede dar como resultado una mayor cantidad de ovocitos en una menor cantidad de tiempo. Esta podría ser una buena estrategia para que pacientes pobres respondedoras obtengan mejores resultados.

**Objetivo:** Comparar la cantidad de ovocitos obtenidos durante la estimulación ovárica en fase folicular, con aquellos logrados por estimulación en fase lútea del mismo ciclo menstrual.

**Materiales y Métodos:** Se presenta un estudio clínico, observacional y retrospectivo. Se incluyeron 39 ciclos de 39 pacientes (edad promedio  $38.9 \pm 3.6$  años) con indicación de fecundación *in vitro* o criopreservación de ovocitos. Todas realizaron una doble estimulación ovárica en el mismo ciclo menstrual. Como criterios de inclusión debieron haber recibido en ambas estimulaciones dosis de Gonadotrofinas  $\geq 300$  UI por día, esquema de antagonistas de la GnRH y descarga con análogos de la GnRH y también haber obtenido  $\leq 4$  ovocitos en la primera aspiración folicular.

**Resultados:** No hubo diferencias significativas en el promedio de ovocitos totales ni ovocitos maduros recuperados en cada fase. Un 80% de las pacientes (31/39) del estudio lograron un

aumento del número ovocitos totales y ovocitos maduros en la sumatoria de ambas fases, con respecto a la fase folicular.

Conclusión: Nuestro estudio podría contribuir a mejorar el manejo de aquellas pacientes con una baja respuesta a la estimulación ovárica, para poder obtener mejores resultados reproductivos en un menor tiempo.

## **ABSTRACT**

Introduction: The practice of performing ovarian stimulation in the luteal phase, in cycles with low response to ovarian stimulation in the follicular phase, can result in a greater number of oocytes in a shorter amount of time. This could be a good strategy for poor responding patients to get better results.

Objective: To compare the number of oocytes obtained during follicular phase ovarian stimulation, with those achieved by luteal stimulation of the same menstrual cycle.

Materials and Methods: A clinical, observational and retrospective study is presented. 39 cycles of 39 patients (average age  $38.9 \pm 3.6$  years) were included with indication of in vitro fertilization or cryopreservation of oocytes. They all performed double ovarian stimulation in the same menstrual cycle. As inclusion criteria they should have received in both stimulations doses of Gonadotrophins  $\geq 300$  IU per day, GnRH antagonist scheme and discharge with GnRH analogues and also have obtained  $\leq 4$  oocytes in the first follicular aspiration. Results: There were no significant differences in the average total oocytes or mature oocytes recovered at each stage. 80% of patients (31/39) of the study achieved an increase in the number of total oocytes and mature oocytes in the summation of both phases, with respect to the follicular phase.

Conclusion: Our study could help improve the management of those patients with a low response to ovarian stimulation, in order to obtain better reproductive results in a shorter time.

**Palabras clave:** Estimulación ovárica, baja respondedora, recuperación de ovocitos

## INTRODUCCIÓN

A pesar del gran número de trabajos publicados sobre diferentes estrategias utilizadas en pacientes con pobre respuesta a la estimulación ovárica (POR) en los tratamientos de reproducción asistida (TRA) de alta complejidad, hasta hoy no se ha podido identificar cuál de ellos es el más eficaz para mejorar los resultados. Una de las limitantes más importantes en este punto, es la falta de uniformidad en la definición de aquellas pacientes con POR, existiendo en la literatura al menos 41 definiciones diferentes (1). A pesar de esto último, se estima que la incidencia de las mujeres con baja respuesta ovárica que realizan TRA, es de entre un 9 a un 24% (2), por lo que las pacientes con pobre respuesta a la estimulación ovárica, constituyen un alto porcentaje de la población total en los tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad (3).

En nuestra región, según los datos del Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida y del Registro Argentino de Fecundación Asistida, los casos de POR, representan aproximadamente un 15% de los procedimientos que se realizan anualmente en Argentina (4-5).

Es sabido que en los TRA, la tasa de nacidos vivos aumenta a mayor número de ovocitos recuperados, especialmente en pacientes mayores de 38 años (6). Con el objetivo de lograr ese incremento en el número de ovocitos, tanto en el grupo de pacientes de edad reproductiva avanzada como también en aquellas que han tenido ciclos previos con baja respuesta a la estimulación ovárica, es que en los últimos años, se ha comenzado a emplear el tratamiento de la doble estimulación ovárica o Dual Stim. Este consiste en realizar la estimulación ovárica en la fase folicular y en la fase lútea del mismo ciclo menstrual (7-8). La aplicación de esta

estrategia se basa en el aprovechamiento del crecimiento de diferentes cohortes de folículos a lo largo de un mismo ciclo menstrual (9). Para ello se han empleado diferentes esquemas de estimulación en ambas fases, la mayoría de ellos con resultados muy alentadores. (10).

Conociendo los resultados de estos trabajos, es que en Medicina Reproductiva Fertilis, se les propuso a pacientes que habían obtenido una baja respuesta a la estimulación ovárica en la estimulación en fase folicular ( $\leq 4$  ovocitos), realizar una segunda estimulación ovárica en la fase lútea del mismo ciclo menstrual, con el fin de recuperar mayor cantidad de ovocitos e intentar de esta manera obtener mejores resultados reproductivos.

El objetivo del presente trabajo fue comparar la cantidad de ovocitos y de embriones obtenidos durante la estimulación ovárica en fase folicular (FF), con aquellos logrados por estimulación en fase lútea (FL) del mismo ciclo menstrual y evaluar los resultados obtenidos con ambas estimulaciones, en pacientes con una baja respuesta a la estimulación en fase folicular ( $\leq 4$  ovocitos MII), que estaban realizando estimulación ovárica para fecundación *in vitro* o para criopreservación de ovocitos.

## **MATERIALES Y METODOS**

Se evaluaron en forma retrospectiva los resultados de 39 ciclos de 39 pacientes, que realizaron doble estimulación ovárica en el mismo ciclo menstrual, para hacer posteriormente fecundación *in vitro* o criopreservación de ovocitos. Todos los ciclos fueron realizados en Medicina Reproductiva Fertilis, entre los meses de enero de 2019 y febrero de 2020.

La edad promedio de las pacientes fue de  $38.9 \pm 3.6$  años.

Aquellas pacientes que realizaron la estimulación ovárica para hacer luego una fecundación *in vitro*, tenían un promedio de  $2.2 \pm 1.6$  de tratamientos previos realizados.

Los criterios de inclusión para este trabajo fueron:

1- pacientes con indicación para fecundación *in vitro* o criopreservación de ovocitos;

2- que hubieran tenido una baja respuesta a la estimulación en fase folicular, definida como  $\leq 4$  ovocitos, habiendo recibido un esquema de estimulación con dosis adecuadas de gonadotrofinas ( $\geq 300$  UI por día);

3- que hubieran realizado una segunda estimulación ovárica en el mismo ciclo menstrual en el que en la estimulación en fase folicular, se habían obtenido  $\leq 4$  ovocitos.

Las pacientes que presentaban malformaciones y/o adherencias uterinas, endometriosis, cirugía pélvica previa, historia de enfermedades infectocontagiosas fueron excluidas del estudio. Solo fueron incluidos varones con espermograma normal según los parámetros del Manual de la OMS (11), por lo cual sólo se incluyeron casos que requerían fecundación *in vitro* convencional.

Tanto en fase folicular como en fase lútea la estimulación ovárica se realizó empleando el esquema publicado por Ubaldi (9) con 150 UI diarias de rFSH (Gonal-F, Merck-Serono, Italy) y 150 UI diarias de rFSH + 75 UI diarias de rLH (Pergoveris, Merck-Serono, Italy) a partir del día 2 del ciclo, comenzando la administración de antagonista de GnRH (Cetrotide 0.25 mg, Merck-Serono Italy) desde el momento en que el tamaño del folículo mayor alcanzara los 14 mm. La descarga de la ovulación se realizó empleando el dos dosis de agonista de GnRH Triptorelina (Gonapeptyl daily 105  $\mu$ g, Ferring, Suiza). Luego de 5 días de la aspiración folicular, se continuó con la segunda estimulación en fase lútea del mismo ciclo menstrual, con el mismo esquema utilizado anteriormente y luego se realizó la segunda aspiración folicular

En aquellos casos en los que se realizó fecundación *in vitro*, se realizó el cultivo hasta el Día 3, momento en el cual los embriones fueron vitrificados con el método Cryotop (Kitazato, Japón). Los embriones desvitrificados fueron transferidos empleando ciclo natural para la preparación endometrial. En los que se realizó la criopreservación de ovocitos, los mismos

fueron denudados 90 a 120 minutos luego de la aspiración folicular y fueron inmediatamente vitrificados con el método Cryotop.

Tanto en fase folicular como en fase lútea se registraron las cancelaciones de tratamientos, el número de ovocitos totales y el número de ovocitos maduros (Metafase II). En aquellos casos en los que se realizó fecundación in vitro también se registró el número de embriones de 8 células en día 3, y en forma secundaria en los casos en los que se realizó la transferencia embrionaria se registraron las tasas de embarazo, de aborto y de nacimiento.

Para poder analizar el porcentaje de pacientes que se beneficiaron con el uso de la estrategia de doble estimulación se conformaron 4 grupos:

Grupo 1: Pacientes que obtuvieron ovocitos maduros en ambas fases.

Grupo 2: Pacientes que obtuvieron ovocitos maduros solo en fase folicular.

Grupo 3: Pacientes que obtuvieron ovocitos maduros solo en fase lútea.

Grupo 4: Pacientes que no obtuvieron ovocitos maduros en ambas fases.

### **Análisis estadístico**

Los datos continuos se presentan como media absoluta con desviación estándar. Las variables categóricas se presentan como frecuencia porcentual absoluta con intervalo de confianza del 95%. El test exacto de Fisher y el test de Kruskal-Wallis se utilizaron para evaluar las diferencias entre las variables categóricas y continuas, respectivamente. Valores de  $p < 0.05$  fueron considerados significativos.

### **RESULTADOS**

No se encontraron diferencias significativas entre fase folicular y fase lútea en cuanto al número de aspiraciones foliculares en las que se recuperaron ovocitos, ni en las aspiraciones en las que se recuperaron ovocitos en Metafase II. Tampoco hubo diferencias en el promedio

de ovocitos totales recuperados, ni en el promedio de ovocitos maduros recuperados en cada fase (TABLA 1).

Tabla 1.- Resultado de las aspiraciones foliculares realizadas en fase folicular y fase lútea

	Fase folicular	Fase lútea	
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos	37/39 (95%)	38/39 (97%)	p>0.05
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos maduros	29/39 (71%)	33/39 (85%)	p>0.05
Promedio de ovocitos recuperados	2.3±1.7	2.5±1.6	p>0.05
Promedio de ovocitos maduros recuperados	1.3±1.2	1.5±1.2	p>0.05

Al comparar el promedio de ovocitos totales recuperados en fase folicular con el promedio del total de ovocitos recuperados en ambas fases se observó una diferencia significativa a favor de la sumatoria de ambas fases (2.3±1.7 vs. 4.9±1.8, p<0.001). Lo mismo ocurrió cuando se comparó el promedio de ovocitos Metafase II recuperados en fase folicular con el promedio del total recuperado en ambas fases (1.3±1.2 vs. 2.9±2.0, p<0.001).

Al realizar la comparación entre la fase folicular la fase lútea según los grupos etarios  $\leq 39$  años (edad promedio 36.1±2.6 años) y  $\geq 40$  años (edad promedio 41.8±1.5 años) tanto dentro de los mismos como entre los ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas (p<0.05) en cuanto al número de aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos, al número de aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos maduros, al promedio de ovocitos recuperados y al promedio de ovocitos maduros recuperados (TABLA 2).

Tabla 2.- Resultado de las aspiraciones foliculares realizadas en fase folicular y fase lútea según los grupos etarios  $\leq 39$  años y  $\geq 40$  años

	$\leq 39$ años		$\geq 40$ años		
	fase folicular	fase lútea	fase folicular	fase lútea	
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos					
	19/20 (95%)	20/20 (100%)	18/19 (95%)	18/19 (95%)	p>0.05
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos maduros					
	14/20 (70%)	16/20 (80%)	15/19 (79%)	18/19 (95%)	p>0.05
Promedio de ovocitos recuperados					
	2,6 $\pm$ 1,7	2,4 $\pm$ 1,5	2,1 $\pm$ 1,6	2,6 $\pm$ 1,7	p>0.05
Promedio de ovocitos maduros recuperados					
	1,3 $\pm$ 1,1	1,3 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 1,1	1,8 $\pm$ 1,0	p>0.05

En la TABLA 3 se comparan la edad promedio y el número de ciclos previos realizados, en los 4 grupos de análisis. No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las dos variables analizadas.

Tabla 3.- Edad promedio e intentos realizados en los cuatro grupos de análisis



Grupo	Fase folicular	Fase lútea	N	Edad promedio	Intentos realizados
1	con M II	con M II	24	39.0±4.0	1.9±0.9
2	con M II	sin M II	4	38.8±3.3	2.5±1.9
3	sin M II	con M II	7	40.1±2.6	2.6±2.5
4	sin M II	sin M II	4	36.3±2.1	3.3±2.6

M II = Metafase II

Al analizar el promedio de ovocitos totales recuperados en fase folicular con respecto al promedio del total de ovocitos recuperados en ambas fases en los cuatro grupos, se observaron diferencias significativas en el grupo 1 y 3 en favor de la sumatoria de ambas fases (TABLA 4).

Tabla 4.- Comparación de ovocitos recuperados en fase folicular con los recuperados en ambas fases

Grupo	Fase folicular	Fase lútea	N	Fase folicular	Ambas fases	
1	con ovocitos	con ovocitos	24	2.7±1.8 a	5.5±2.7 b	p<0.0001
2	con ovocitos	sin ovocitos	4	2.0±1.9	3.8±3.6	p>0.05
3	sin ovocitos	con ovocitos	7	1.3±1.0 c	3.6±2.2 d	p<0.05
4	sin ovocitos	sin ovocitos	4	2.3±1.7	4.0±2.2	p>0.05

M II = Metafase II

Algo similar ocurrió al analizar el promedio de ovocitos Metafase II recuperados en fase folicular con respecto al promedio del total de ovocitos Metafase II recuperados en ambas fases en los cuatro grupos, donde observó una diferencia significativa en el grupo 1 en favor

de la sumatoria de ambas fases. Los grupos 3 y 4 no pudieron ser analizados estadísticamente (TABLA 5).

Tabla 5.- Comparación de ovocitos Metafase II recuperados en fase folicular con los recuperados en ambas fases

Grupo	Fase folicular	Fase lútea	N	Fase folicular	Ambas fases	
1	con M II	con M II	24	1.9±1.0 a	3.9±1.7 b	p<0.0001
2	con M II	sin M II	4	1.5±1.0	1.5±1.0	p>0.05
3	sin M II	con M II	7	0.0±0.0	1.7±1.0	N/A
4	sin M II	sin M II	4	0.0±0.0	0.0±0.0	N/A

M II = Metafase II; N/A = No analizable

De acuerdo a los resultados obtenidos, en un 80% (31/39) de los pacientes en los que se aplicó la estrategia de doble estimulación ovárica (Grupos 1 y 3) se observó un aumento en el número absoluto de ovocitos Metafase II recuperados en la sumatoria de ambas fases con respecto a la fase folicular.

Al analizar los 33 casos en los que se realizó fecundación *in vitro*, no se encontraron diferencias significativas (p>0.05) en el número de ovocitos fecundados que alcanzaron el estadio de 8 células en Día 3 de cultivo entre aquellos obtenidos en fase folicular (13/37, 35%) y en fase lútea (16/43, 37%).

Al momento de la redacción del presente trabajo se habían realizado la transferencia embrionaria en Día 3, a 22 pacientes (76% del total), quedando aún a la espera de transferencia 7 pacientes. Se obtuvo una tasa de embarazo del 18% (4/22), registrándose un

aborto en semana 12 de desarrollo. Finalmente se registró una tasa de niños nacidos vivos del 14% (3/22).

## **DISCUSIÓN**

Al igual que en varios reportes publicados, este trabajo muestra un incremento estadísticamente significativo del número de ovocitos totales y MII obtenidos con la estrategia de doble estimulación ovárica, sin presentar diferencias significativas en el número total de ovocitos ni el número de MII recuperados en fase folicular con aquellos obtenidos en fase lútea (7,9,12).

Los resultados de este trabajo coinciden con reportes en los que también emplearon rFSH y rLH para la estimulación ovárica (9), y también con otros donde se utilizaron esquemas con letrozole, citrato de clomifeno, HMG o corifolitropina alfa (12-14). Sin embargo, algunos trabajos han encontrado diferencias en los resultados de los ovocitos recuperados entre ambas fases. Mientras que un reporte muestra mejores resultados en fase folicular (15), otro reporta mejores resultados en fase lútea (16).

En el presente trabajo hemos observado en el análisis de los resultados obtenidos por grupos un marcado beneficio de esta estrategia en los grupos 1 y 3. En primer lugar, el grupo 1 es el de las pacientes que lograron obtener ovocitos maduros en ambas fases. En este grupo es claro el beneficio de la doble estimulación. En segunda instancia, también en el grupo 3 las pacientes fueron favorecidas por la doble estimulación; aunque en este grupo no ha sido posible la aplicación de una herramienta estadística debido a que el resultado de la fase folicular fue 0 (cero), en números absolutos hay un aumento en el número de ovocitos Metafase II producto de la obtención de los mismos en fase lútea ( $1.7 \pm 1.0$  ovocitos Metafase II). Dado que el número absoluto de ovocitos Metafase II aumenta a expensas de los que

fueron obtenidos en la fase lútea en ambos grupos podemos decir que el 80% (31/39) de las pacientes de este trabajo retrospectivo, fueron beneficiadas por el uso de este esquema de estimulación ovárica.

En aquellas pacientes que realizaron fecundación de sus ovocitos y posterior transferencia embrionaria, tenemos al día de hoy solo resultados parciales, ya que no se han transferido todas ellas; hemos obtenido una tasa de nacido vivo similar a la reportada por otros trabajos que emplean el esquema de doble estimulación ovárica (7,9,17). Dado que en la bibliografía el consenso referido a las pacientes con baja respuesta ovárica es que la tasa de nacido vivo es menor al 10% (18), nuestros resultados refuerzan la opinión de varios autores con respecto a las ventajas de la doble estimulación ovárica en el mismo ciclo en este tipo de pacientes (19,20). Esto está relacionado con el hecho de que, al obtener un mayor número ovocitos en un mismo ciclo, aumenta la posibilidad de tener un embrión viable para conseguir el embarazo en corto plazo.

Una ventaja adicional de esta estrategia es que, al aumentar el número de ovocitos para fecundar, aumenta el número de embriones viables. También hay evidencia en la bibliografía que a mayor número de ovocitos Metafase II se obtiene un mayor número de embriones euploides (21). Más aún, recientemente ha sido demostrado que la tasa de embriones euploides no difiere entre los provenientes de ovocitos obtenidos en fase folicular y en fase lútea (9). Una de las fortalezas de esta estrategia, es que permite disminuir el tiempo de búsqueda de embarazo, lo cual es fundamental en las pacientes con baja respuesta ovárica. La demora en conseguir resultados resulta en cansancio físico, una gran carga emocional y frustración que hace que las pacientes abandonen los tratamientos (22,23). La modalidad de doble estimulación, logra disminuir el tiempo que implica realizar dos estimulaciones de la manera tradicional, lo cual demandaría más tiempo, evitando que a la espera de realizar el

segundo tratamiento, pueda verse deteriorada aún más la reserva ovárica. Por lo que este grupo de pacientes podría obtener beneficios de la doble estimulación, al obtener mejores resultados en menor tiempo.

Es importante mencionar a las pacientes que desean criopreservar ovocitos en forma electiva y sobre todo en aquellos casos de la paciente oncológica que criopreservará ovocitos y a las pacientes de edad reproductiva avanzada pese a que tengan buena reserva ovárica. Todas ellas se verían beneficiadas en obtener mayor cantidad de ovocitos en menor cantidad de tiempo.

Una limitación de ésta estrategia cuando se utiliza para realizar fecundación in vitro, es que no se puede realizar la transferencia de embriones en fresco debido al desfasaje con la ventana de implantación, teniendo que criopreservar los embriones obtenidos. Sin embargo, es sabido que la criopreservación no afecta la capacidad del embrión de implantar y, por consiguiente, tampoco afecta la tasa de embarazo (24,25).

Nuestros resultados nos alientan al empleo de la doble estimulación durante las Fases Follicular y Lútea en el mismo ciclo menstrual, ya que proporciona más oportunidades para recuperar ovocitos tanto en las pacientes bajas respondedoras, produciendo embriones con un potencial de desarrollo similar y también en aquellas paciente que desean criopreservar mayor número de ovocitos.

## **REFERENCIAS**

1. Baerwald A, Pierson R. Ovarian follicular waves during the menstrual cycle: physiologic insights into novel approaches for ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2020; 114:443-57.
2. Polyzos NP, Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? *Fertil Steril.* 2011; 96:1058-61.

3. Ubaldi F, Vaiarelli A, D'Anna R, Rienzi L. Management of poor responders in IVF: is there anything new? *Biomed Res Int.* 2014; 2014:352098.
4. SAMeR. Registro Argentino de Fecundación Asistida. Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR). 2018. [http://www.samer.org.ar/pdf/Datos\\_rafa\\_2018.pdf](http://www.samer.org.ar/pdf/Datos_rafa_2018.pdf).
5. Zegers-Hochschild F, Crosby JA, Musri C, Borges de Souza MC, Martinez AG, Amaral Silva A, et al. Assisted reproductive techniques in Latin America: the Latin American Registry, 2017. *RBM Online* 2020; 1:44-54.
6. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400135 treatment cycles. *Hum Reprod.* 2011; 26:1768-74.
7. Kuang Y, Chen Q, Hong Q, Lyu Q, Ai A, Fu Y, et al.. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programs (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online.* 2014; 29:684-91.
8. Kuang Y, Hong Q, Chen Q, Lyu Q, Ai A, Fu Y, et al. Luteal-phase ovarian stimulation is feasible for producing competent oocytes in women undergoing *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment, with optimal pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 2014; 101:105-11.
9. Ubaldi FM, Capalbo A, Vaiarelli A, Cimadomo D, Colamaria S, Alviggi C, et al. Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril.* 2016; 105:1488-95.
10. Vaiarelli A, Cimadomo D, Conforti A, Schimberni M, Giuliani M, D'Alessandro P, et al. 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. *Fertil Steril*. 2020; 113:121-30.

11. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edn. Geneva: World Health Organization. 2010.
12. Alsbjerg B, Haahr T, Elbaek HO, Laursen R, Povlsen BB, Humaidan P. Dual stimulation using corifollitropin alfa in 54 Bologna criteria poor ovarian responders - a case series. *Reprod Biomed Online*. 2019 385:677-82
13. Madani T, Hemat M, Arabipoor A, Khodabakhshi SH, Zolfaghari Z. Double mild stimulation and egg collection in the same cycle for management of poor ovarian responders. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2019; 48:329-33.
14. Rashtian J, Zhang J. Luteal-phase ovarian stimulation increases the number of mature oocytes in older women with severe diminished ovarian reserve. *Syst Biol Reprod Med*. 2018; 64:216-9.
15. Bourdon M, Santulli P, Maignien C, Pocate-Cheriet K, Marcellin L, Chen Y, et al. The Ovarian Response After Follicular Versus Luteal Phase Stimulation with a Double Stimulation Strategy. *Reprod Sci*. 2020; 27:204-10.
16. Boots CE, Meister M, Cooper AR, Hardi A, Jungheim ES. Ovarian stimulation in the luteal phase: systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2016; 33:971-80.
17. Liu C, Jiang H, Zhang W, Yin H. Double ovarian stimulation during the follicular and luteal phase in women  $\geq 38$  years: a retrospective case-control study. *Reprod Biomed Online*. 2017;35:678-84.
18. Polyzos NP, Nwoye M, Corona R, Blockeel C, Stoop D, Haentjens P, et al. Live birth rates in Bologna poor responders treated with ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Reprod Biomed Online*. 2014; 28:469-74.

19. Baerwald A, Pierson R. Ovarian follicular waves during the menstrual cycle: physiologic insights into novel approaches for ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2020;114:443-57.
20. Sighinolfi G, Sunkara SK, La Marca A. New strategies of ovarian stimulation based on the concept of ovarian follicular waves: From conventional to random and double stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2018; 37:489-97.
21. Irani M, Canon C, Robles A, Maddy B, Gunnala V, Qin X, et al. No effect of ovarian stimulation and oocyte yield on euploidy and live birth rates: an analysis of 12 298 trophoctoderm biopsies. *Hum Reprod*. 2020; 35:1082-9.
22. Bosch E, Bulletti C, Copperman AB, Fanchin R, Yarali H, Petta CA, et al. Delphi TTP Consensus Group. How time to healthy singleton delivery could affect decision-making during infertility treatment: a Delphi consensus. *Reprod Biomed Online*. 2019; 38:118-30.
23. Modest AM, Wise LA, Fox MP, Weuve J, Penzias AS, Hacker MR. IVF success corrected for drop-out: use of inverse probability weighting. *Hum Reprod*. 2018; 33:2295–301.
24. Bosch E, De Vos M, Humaidan P. The Future of Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11:67.
25. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. 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. *Hum Reprod Update*. 2017; 23:139-55.



## TABLAS

Tabla 1.- Resultado de las aspiraciones foliculares realizadas en fase folicular y fase lútea

	Fase folicular	Fase lútea	
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos	37/39 (95%)	38/39 (97%)	p>0.05
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos maduros	29/39 (71%)	33/39 (85%)	p>0.05
Promedio de ovocitos recuperados	2.3±1.7	2.5±1.6	p>0.05
Promedio de ovocitos maduros recuperados	1.3±1.2	1.5±1.2	p>0.05

Tabla 2.- Resultado de las aspiraciones foliculares realizadas en fase folicular y fase lútea según los grupos etarios  $\leq 39$  años y  $\geq 40$  años

	$\leq 39$ años		$\geq 40$ años		
	fase folicular	fase lútea	fase folicular	fase lútea	
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos					
	19/20 (95%)	20/20 (100%)	18/19 (95%)	18/19 (95%)	p>0.05
Aspiraciones foliculares con recuperación de ovocitos maduros					
	14/20 (70%)	16/20 (80%)	15/19 (79%)	18/19 (95%)	p>0.05
Promedio de ovocitos recuperados					
	2,6 $\pm$ 1,7	2,4 $\pm$ 1,5	2,1 $\pm$ 1,6	2,6 $\pm$ 1,7	p>0.05
Promedio de ovocitos maduros recuperados					
	1,3 $\pm$ 1,1	1,3 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 1,1	1,8 $\pm$ 1,0	p>0.05

Tabla 3.- Edad promedio e intentos realizados en los cuatro grupos de análisis

Grupo	Fase folicular	Fase lútea	N	Edad promedio	Intentos realizados
1	con M II	con M II	24	39.0±4.0	1.9±0.9
2	con M II	sin M II	4	38.8±3.3	2.5±1.9
3	sin M II	con M II	7	40.1±2.6	2.6±2.5
4	sin M II	sin M II	4	36.3±2.1	3.3±2.6

M II = Metafase II

Tabla 4.- Comparación de ovocitos recuperados en fase folicular con los recuperados en ambas fases

Grupo	Fase folicular	Fase lútea	N	Fase folicular	Ambas fases	
1	con ovocitos	con ovocitos	24	2.7±1.8 a	5.5±2.7 b	p<0.0001
2	con ovocitos	sin ovocitos	4	2.0±1.9	3.8±3.6	p>0.05
3	sin ovocitos	con ovocitos	7	1.3±1.0 c	3.6±2.2 d	p<0.05
4	sin ovocitos	sin ovocitos	4	2.3±1.7	4.0±2.2	p>0.05

M II = Metafase II

Tabla 5.- Comparación de ovocitos Metafase II recuperados en fase folicular con los recuperados en ambas fases

Grupo	Fase folicular	Fase lútea	N	Fase folicular	Ambas fases	
1	con M II	con M II	24	1.9±1.0 a	3.9±1.7 b	p<0.0001
2	con M II	sin M II	4	1.5±1.0	1.5±1.0	p>0.05
3	sin M II	con M II	7	0.0±0.0	1.7±1.0	N/A
4	sin M II	sin M II	4	0.0±0.0	0.0±0.0	N/A

M II = Metafase II; N/A = No analizable