

Protocollo di stimolazione personalizzato per le pazienti a bassa prognosi riproduttiva in IVF: DuoStim/DuoFiv+

Chiara Gallo¹, Roberto Pepe², Valeria Perone³, Erika Pittana⁴, Alessandro Ruffa⁴,
Marilena Taggi⁴, Laura Rienzi^{4,5}, Danilo Cimadomo^{4,6}, Filippo Maria Ubaldi^{4,7},
Rosella Nappi^{8,9}, Alberto Vaiarelli⁴

¹Department of Obstetrics and Gynecology, University of Magna Graecia, Catanzaro, Italy

² Department of Obstetrics and Gynecology, Bari Hospital, Aldo Moro University, Italy

³Research Center for Reproductive Medicine, Gynecological Endocrinology and Menopause, IRCCS S. Matteo Foundation

⁴IVIRMA Global Research Alliance, Genera, Clinica Valle Giulia, Rome, Italy

⁵Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino "Carlo Bo", Urbino, Italy.

⁶Department of Biology and Biotechnology "Lazzaro Spallanzani",

Laboratory of Biology and Biotechnology of Reproduction, University of Pavia, Pavia, Italy

⁷Department of Pharmacy, Health and Nutritional Sciences, University of Calabria, Rende, Italy

⁸Research Center for Reproductive Medicine, Gynecological Endocrinology and Menopause,
IRCCS San Matteo Foundation, 27100 Pavia, Italy

⁹Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences,
School of Medicine, University of Pavia, 27100 Pavia, Italy

ABSTRACT

{ITA} Negli ultimi decenni si è osservato un marcato declino della natalità a livello globale e, in particolare, in Europa e in Italia. In questo contesto, le tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) rappresentano un contributo crescente alla natalità, richiedendo una ridefinizione del concetto di successo terapeutico, che oggi include non solo i tassi di gravidanza clinica, ma anche indicatori come il tasso cumulativo di nascite, l'efficienza del percorso e la riduzione dei drop-out. La comprensione dei meccanismi della folliculogenesi ha permesso di sviluppare protocolli di stimolazione ovarica più personalizzati ed efficaci. Tra questi, il DuoStim — una doppia stimolazione nello stesso ciclo ovarico — e la sua evoluzione DuoFIV+ si sono dimostrati particolarmente utili nelle pazienti con bassa prognosi o time-sensitive, consentendo il recupero di un numero maggiore di ovociti in tempi ridotti, senza comprometterne la competenza. Questi protocolli migliorano l'efficacia cumulativa dei trattamenti, riducono il carico clinico ed emotivo e aumentano le probabilità di ottenere embrioni trasferibili cromosomicamente sani, risultando vantaggiosi anche nei percorsi con PGT. L'approccio multiciclico e personalizzato, supportato da un laboratorio di embriologia altamente qualificato e da un adeguato counselling, rappresenta oggi una strategia fondamentale per ottimizzare i risultati nella PMA, in particolare nelle pazienti con prognosi riproduttiva sfavorevole.

{ENG} In recent decades, a marked decline in the birth rate has been observed globally, particularly in Europe and Italy. In this context, medically assisted reproduction techniques (ART) represent a growing contribution to the birth rate, requiring a redefinition of the concept of therapeutic success, which today includes not only clinical pregnancy rates but also indicators such as cumulative birth rates, treatment efficiency, and the reduction of dropouts. Understanding the mechanisms of folliculogenesis has enabled the development of more personalized and effective ovarian stimulation protocols. Among these, DuoStim—double stimulation in the same ovarian cycle—and its evolution, DuoFIV+, have proven particularly useful in patients with poor prognosis or time-sensitive conditions, allowing for the retrieval of a greater number of oocytes in a shorter timeframe, without compromising their competence. These protocols improve the cumulative efficacy of treatments, reduce the clinical and emotional burden, and increase the likelihood of obtaining chromosomally healthy transferable embryos, proving advantageous even in PGT treatments. The multicyclic and personalized approach, supported by a highly qualified embryology laboratory and appropriate counseling, today represents a fundamental strategy for optimizing outcomes in assisted reproduction, particularly in patients with an unfavorable reproductive prognosis.

INTRODUZIONE

Su scala mondiale, negli ultimi decenni, si è osservato un marcato declino della fertilità. Le cause di questo fenomeno sono molteplici e includono non solo fattori legati alla salute riproduttiva, ma anche profondi cambiamenti sociali, culturali ed economici. Particolarmente significativo è il cambiamento nella percezione della genitorialità tra le nuove generazioni: se in passato la maternità e la paternità rappresentavano tappe fondamentali della vita, oggi si assiste a una riconsiderazione delle priorità individuali, con

sistemi di valori sempre più diversificati rispetto ai modelli tradizionali. In questo contesto, l'Europa registra un calo della natalità: il numero medio di figli per coppia è di circa 1.5, al di sotto del tasso di sostituzione demografica, fissato a 2.1 figli per donna. La situazione italiana riflette chiaramente questa tendenza: dal 2008 — anno in cui si è registrato il massimo numero di nati vivi dagli inizi degli anni 2000 — le nascite sono diminuite di 183 mila unità, passando da 576.659 a 392.600 nel 2022, con un calo pari al 31.8% (Report ISTAT, 2023).

La Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) ha assunto un ruolo sempre più centrale nel panorama della natalità. Secondo i dati più recenti, infatti, circa 1 bambino su 25 – pari al 4.2% delle nascite – viene concepito grazie a queste tecniche (Report ISTAT, 2023). Si tratta di un fenomeno in costante crescita, che riflette non solo il progresso scientifico e medico, ma anche profondi cambiamenti sociali e culturali. Le tecniche di PMA rappresentano oggi una risposta concreta per molte coppie che si trovano ad affrontare difficoltà legate all'infertilità o a condizioni mediche specifiche. La nascita di bambini attraverso la PMA non è più un'eccezione, ma una realtà che contribuisce in modo significativo alla natalità complessiva, ridefinendo il modo in cui intendiamo il percorso verso la genitorialità.

IL CONCETTO DI SUCCESSO IN PMA: OLTRE LA GRAVIDANZA CLINICA

La definizione di successo nei percorsi di PMA non può più limitarsi al semplice ottenimento di una gravidanza clinica, ma deve tener conto di altri parametri. Tra questi, uno dei più rilevanti è il tasso cumulativo di nascite per ciclo di stimolazione ovarica. Questo indicatore consente di valutare in modo più realistico l'efficacia complessiva del trattamento, in quanto considera non solo il primo tentativo di trasferimento embrionale, ma anche tutti i trasferimenti successivi (sia con embrioni freschi che crioconservati) ottenuti da un unico ciclo di stimolazione ovarica. In questo modo, si ottiene una misura più rappresentativa delle reali probabilità di successo per ciclo di stimolazione iniziato e dell'efficacia dei trattamenti, permettendo una valutazione più accurata e informata del percorso terapeutico (1).

Accanto all'efficacia, diventa fondamentale anche il concetto di efficienza del percorso terapeutico. Un trattamento può dirsi efficiente quando si riesce a ridurre il tempo alla gravidanza, migliorare il costo-beneficio dei trattamenti, ridurre i rischi come la sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS) e le gravidanze multiple. Queste ultime due condizioni oggi rappresentano le complicanze più importanti in un percorso di PMA.

Inoltre, un altro elemento che esprime l'efficienza di un trattamento è il tasso del drop-out ovvero il numero di coppie che abbandonano il percorso prima di raggiungere il risultato desiderato soprattutto dopo il primo fallimento. Questo fenomeno, non esclusivamente legato ad un aspetto prettamente econo-

mico, è spesso legato ad altri fattori come relazionali, personali o legati all'incapacità di prendere atto che un percorso PMA è un percorso lungo e faticoso che purtroppo può contemplare anche il mancato impianto degli embrioni trasferiti (2).

In sintesi, la concezione di successo nella PMA integra l'efficacia clinica con l'efficienza del trattamento, mirando ad un approccio sempre più personalizzato, rapido e sostenibile per i pazienti.

IL RUOLO DELLA FOLLICOLOGENESI NELLA STIMOLAZIONE OVARICA

Per massimizzare la possibilità di successo del trattamento, il numero di ovociti recuperati rappresenta un parametro cruciale. Un numero più elevato di ovociti permette di ottenere un maggior numero di embrioni e, di conseguenza, migliora le chance cumulative di gravidanza per ogni ciclo di stimolazione avviato (3).

È fondamentale chiarire però che la stimolazione ovarica non ha la capacità di generare ovociti "ex novo". Al contrario, il suo compito è quello di ottimizzare il reclutamento dei follicoli antrali già presenti in un determinato momento del ciclo ovarico. Da ciò, deriva la necessità di strategie di stimolazione più raffinate e personalizzate basate sulla conoscenza della fisiologia ovarica, in particolare della follicologenesi (4, 5).

Comprendere le dinamiche di questo processo permette di adattare i protocolli di stimolazione in base alla riserva ovarica (AFC: conta follicoli antrali; AMH: Ormone antimulleriano), alla risposta attesa e alle caratteristiche individuali della paziente, migliorando così l'efficienza e l'efficacia del trattamento.

Sebbene la quantità degli ovociti sia importante, la competenza degli ovociti è cruciale. Il numero degli ovociti necessari al fine di ottenere un embrione competente definito come una blastocisti euploide cambia in funzione dell'età della donna. Infatti, mentre in una donna giovane (<35 anni) possono essere sufficienti 4–5 ovociti maturi (MII) per ottenere una blastocisti euploide, in una paziente con età materna avanzata, intorno ai 41 anni, ne sono generalmente necessari più di 10. L'immagine (Figura n.1) illustra chiaramente che il numero di ovociti MII necessari per ottenere una blastocisti euploide, in relazione all'età materna ed in assenza di un fattore maschile severo, aumenta all'aumentare dell'età della donna.

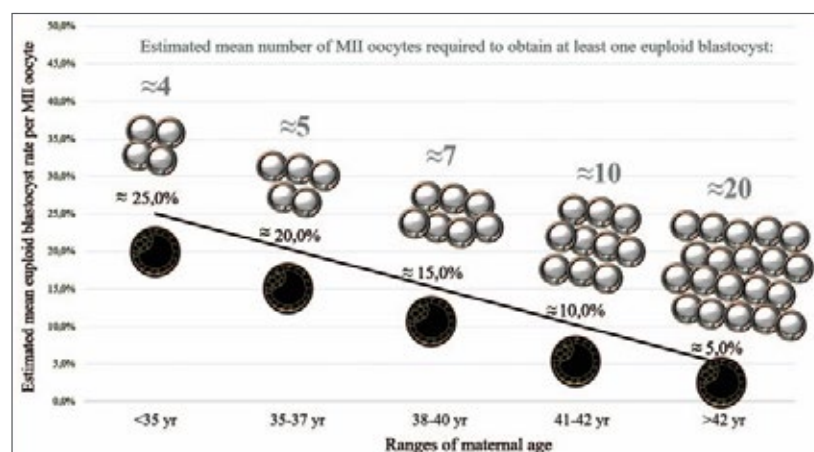


Figura 1. Numero medio stimato di ovociti in metafase II necessari per ottenere almeno una blastocisti euploide. I tassi medi di blastocisti euploide per ovocita MII in base all'età materna sono stati stimati sulla base di un tasso medio di blastocisti del 35% per ovocita MII, indipendente dall'età materna (dati GENERA in fase di revisione), e sul tasso di euploidia per blastocisti riportato da Franiak et al. [24] e Capalbo et al [23]. Il tasso di blastocisti per ovocita MII è stato stimato in assenza di fattore maschile di infertilità. MII, metafase II. (from ref #6)

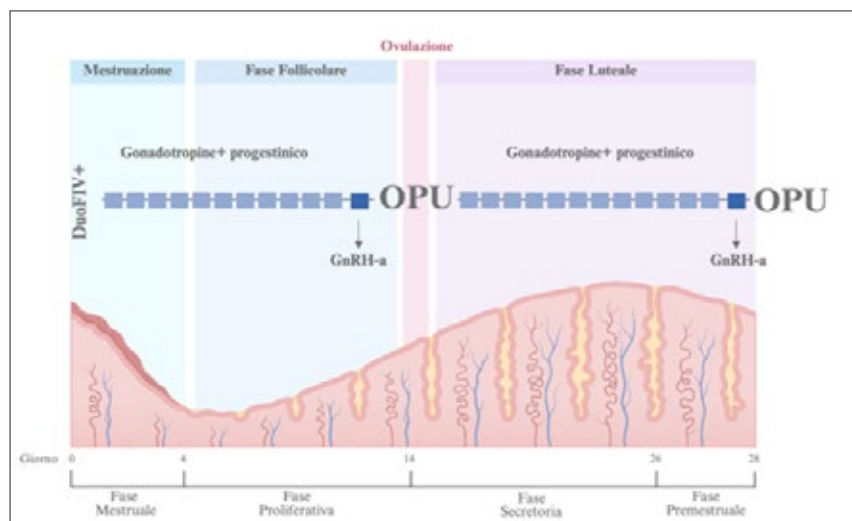


Figura 2: Schema terapeutico del DuoStim/DuoFiv+ in relazione alle diverse fasi del ciclo.

NUOVE STRATEGIE DI STIMOLAZIONE OVARICA: IL PROTOCOLLO DUOSTIM

La tradizionale concezione del ciclo ovarico, basata su un'unica ondata follicolare mensile, è stata superata da recenti evidenze che hanno dimostrato la presenza di multiple ondate di crescita follicolare all'interno dello stesso ciclo ovarico (6).

Oggi sappiamo che la follicologenesi è un processo estremamente dinamico, caratterizzato da ondate follicolari maggiori o ovulatorie, in cui avvengono reclutamento, selezione e dominanza, e da ondate minori o anovulatorie. Queste conoscenze hanno permesso di sviluppare protocolli di stimolazione più flessibili, particolarmente utili per specifiche categorie di pazienti candidate alla stimolazione ormonale.

Sulla base di queste conoscenze, oggi è possibile iniziare una stimolazione ormonale in qualsiasi momento del ciclo mestruale, in fase follicolare tardiva, in fase luteale o anche in modo del tutto casuale, senza dover attendere un giorno preciso del ciclo. Questa possibilità è particolarmente utile per le pazienti in cui il fattore tempo è fondamentale, come nelle donne che devono preservare la fertilità prima di iniziare trattamenti oncologici quali chemioterapia o radioterapia.

Da questa nuova comprensione dei meccanismi legati alla follicologenesi nasce il protocollo DuoStim che, a differenza della stimolazione ovarica convenzionale, in cui viene effettuata un'unica stimolazione nella fase follicolare precoce per ottenere il maggior numero possibile di ovociti maturi in un solo prelievo, prevede due stimolazioni ovariche consecutive all'interno dello stesso ciclo ovarico: la prima in fase follicolare e la seconda in fase luteale, per un totale di due prelievi ovocitari nell'arco di circa 30 giorni (3, 4).

L'obiettivo di questa strategia è aumentare il numero totale di ovociti recuperati in un intervallo di tempo ristretto, ottimizzando così l'efficacia e l'efficienza del trattamento nelle pazienti time-sensitive. Tale approccio si è dimostrato particolarmente vantaggioso anche per le coppie candidate alla Diagnosi Genetica Preimpianto (PGT): un maggior numero di ovociti consente infatti di ottenere più embrioni da sottoporre ad analisi, incrementando la probabilità di individuare un embrione euploide nel caso di PGT-A (Diagnosi Genetica Preimpianto per Aneuploidie) o un embrione non affetto nel caso di PGT-M (Diagnosi Genetica Preimpianto per Malattie Monogeniche).

L'adozione del protocollo DuoStim ha dimostrato un incre-

mento significativo dell'efficacia dei trattamenti di PMA senza intaccare la competenza degli ovociti in termini di fecondazione, blastulazione, tasso di euploidia ed anche la possibilità di impianto (3-5).

Un dato interessante è che la seconda stimolazione, effettuata in fase luteale, si è dimostrata più efficace nel recupero ovocitario rispetto alla prima stimolazione, nonostante il protocollo utilizzato fosse identico in termini di tipo e dosaggio di gonadotropine. Questa maggiore efficienza può essere spiegata da diversi fattori: un effetto di priming ormonale indotto dalla prima stimolazione, l'uso del trigger con agonista per indurre la maturazione ovocitaria e l'influenza biomeccanica del primo prelievo sulla nuova ondata follicolare. Questi dati evidenziano l'importanza della variabilità biologica non solo tra cicli diversi (inter-ciclica), ma anche all'interno dello stesso ciclo (intra-ciclica) (7)(8-10).

APPLICAZIONI CLINICHE DEL PROTOCOLLO DUOSTIM

Il DuoStim risulta particolarmente indicato per tutte le pazienti time-sensitive per le quali il tempo rappresenta un fattore importante: i) pazienti di età materna avanzata (>35anni) (11, 12); ii) donne con bassa riserva ovarica ed età materna avanzata; iii) pazienti con una risposta ovarica subottimale o scarsa; iv) donne candidate ad analisi genetica preimpianto per patologie monogeniche (PGT-M) o con cariotipo anormale (PGT-SR) per le quali aumentare il numero degli embrioni significherebbe aumentare le probabilità di trovare un embrione sano; v) pazienti candidate a preservazione della fertilità per ragioni mediche (13).

L'evoluzione della doppia stimolazione: il protocollo DuoFiv+ L'esperienza clinica del protocollo DuoStim e la ricerca di ottimizzare la compliance di questo trattamento per le pazienti, hanno portato ad una sua evoluzione in un protocollo più semplificato e personalizzato chiamato DuoFiv+. Questo approccio, sviluppato dal gruppo Genera, integra la doppia stimolazione con strategie di supporto ormonale e una gestione logistica più efficiente, con l'obiettivo di ridurre il carico emotivo e clinico per la paziente mantenendo al contempo elevata l'efficienza del trattamento (7).

DuoFiv+ rappresenta un approccio più "friendly", grazie alla riduzione del numero di iniezioni sottocutanee, fino a 12 in meno

rispetto al DuoStim convenzionale, resa possibile dall'utilizzo di progestinici orali, che prevengono l'ovulazione precoce e consentono una maggiore flessibilità nel monitoraggio ecografico della stimolazione (2). Questo approccio permette di ottimizzare tempi e costi del trattamento, migliorando complessivamente l'esperienza della stimolazione ormonale per la paziente.

La prima stimolazione inizia con la somministrazione sottocutanea giornaliera di gonadotropine a partire dal secondo o terzo giorno del ciclo, in associazione a un progestinico per via orale, utilizzato per prevenire l'ovulazione precoce. Quando i criteri ecografici e ormonali indicheranno la maturazione follicolare, l'ovulazione verrà indotta mediante un agonista del GnRH (ormone di rilascio delle gonadotropine), seguito dal prelievo ovocitario circa 35 ore dopo. Gli ovociti recuperati vengono quindi analizzati e quelli maturi sottoposti a fecondazione, con successiva coltura degli embrioni fino allo stadio di blastocisti. A questo punto è possibile effettuare la biopsia per la PGT e procedere al congelamento delle blastocisti ottenute. Dopo cinque giorni dal prelievo si avvia una seconda stimolazione in fase luteale con lo stesso schema terapeutico impiegato nella prima fase. Questa seconda stimolazione avrà una durata media leggermente superiore, estendendosi di circa un giorno rispetto alla precedente (Figura n.2).

Al fine di ottimizzare il processo, le biopsie degli embrioni ottenuti verranno analizzate simultaneamente ed una volta ottenuto l'embrione sano, questo verrà trasferito in utero durante un ciclo di preparazione endometriale, che potrà essere spontaneo o medicato (5).

Il protocollo DuoStim/DuoFIV+ si è dimostrato una strategia efficace nell'ottica di un approccio multiciclico, in cui il rischio di drop-out o di interruzione del trattamento rappresenta un fattore critico nella valutazione dell'efficienza di un percorso di procreazione medicalmente assistita (PMA). Le pazienti con bassa prognosi riproduttiva, secondo le classificazioni Poseidon

e Bologna, presentano infatti probabilità cumulative per ciclo iniziato significativamente ridotte. Per questo motivo, è fondamentale discutere in anticipo con la coppia le limitate possibilità di successo per ogni singolo ciclo, rendendola consapevole che il percorso può includere eventuali insuccessi. Costruire adeguate risorse emotive, psicologiche ma anche economiche durante tutto il percorso di PMA, anche di fronte a un eventuale fallimento, è cruciale non solo per il benessere della coppia, ma anche per mantenere continuità e adesione ai trattamenti, migliorando così l'efficacia complessiva e l'efficienza del percorso terapeutico.

CONCLUSIONI

L'aumento del numero di ovociti per ciclo ovarico, senza comprometterne la qualità, rappresenta un obiettivo centrale nella PMA moderna, in particolare per le pazienti a scarsa prognosi. In questo contesto, il protocollo DuoStim e la sua evoluzione DuoFIV+ costituiscono approcci innovativi e promettenti, supportati da solide basi fisiologiche e da dati clinici in crescente evidenza.

Risulta pertanto fondamentale un counselling personalizzato, basato sull'età della paziente, sulla durata dell'infertilità e sulla storia clinica, affiancato da un setting tecnologico adeguato. Un laboratorio altamente qualificato è infatti essenziale per supportare lo sviluppo embrionale fino allo stadio di blastocisti, applicare protocolli di vitrificazione sicuri ed efficaci e, quando indicato, eseguire la PGT per valutare lo stato di salute degli embrioni.

In conclusione, il protocollo DuoFIV+ rappresenta un esempio efficace di approccio multiciclico per le pazienti a bassa prognosi riproduttiva, nelle quali il successo per singolo ciclo è limitato. Studi futuri su popolazioni selezionate saranno utili per confermare questi risultati e valutare l'applicabilità di tali protocolli anche in altre categorie di pazienti.

{BIBLIOGRAFIA}

1. Vaiarelli A, Cimadomo D, Petriglia C, Conforti A, Alviggi C, Ubaldi N et al. DuoStim - a reproducible strategy to obtain more oocytes and competent embryos in a short time-frame aimed at fertility preservation and IVF purposes. A systematic review. *Ups J Med Sci* 2020;125:121-30.
2. Vaiarelli A, Ruffa A, Cerrillo M, Garcia-Velasco JA. GnRH agonist trigger in poor prognosis patients undergoing a multicycle approach through DuoStim or consecutive stimulations: a SWOT analysis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2024;36:124-33.
3. 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 e1.
4. Vaiarelli A, Cimadomo D, Trabucco E, Vallefucio R, Buffo L, Dusi L et al. 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. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:317.
5. Cimadomo D, Vaiarelli A, Colamaria S, Trabucco E, Alviggi C, Venturella R et al. Luteal phase anovulatory follicles result in the production of competent oocytes: intra-patient paired case-control study comparing follicular versus luteal phase stimulations in the same ovarian cycle. *Hum Reprod* 2018;33:1442-8.
6. Vaiarelli A, Venturella R, Vizziello D, Bulletti F, Ubaldi FM. Dual ovarian stimulation and random start in assisted reproductive technologies: from ovarian biology to clinical application. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2017;29:153-9.
7. Vaiarelli A, Pittana E, Cimadomo D, Ruffa A, Colamaria S, Argento C et al. A multicycle approach through DuoStim with a progestin-primed ovarian stimulation (PPOS) protocol: a valuable option in poor prognosis patients undergoing PGT-A. *J Assist Reprod Genet* 2025;42:255-64.
8. Buendgen NK, Schultze-Mosgau A, Cordes T, Diedrich K, Griesinger G. Initiation of ovarian stimulation independent of the menstrual cycle: a case-control study. *Arch Gynecol Obstet* 2013;288:901-4.

9. 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 programmes (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online* 2014;29:684-91.
10. Wang N, Wang Y, Chen Q, Dong J, Tian H, Fu Y et al. Luteal-phase ovarian stimulation vs conventional ovarian stimulation in patients with normal ovarian reserve treated for IVF: a large retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016;84:720-8.
11. Vaiarelli A, Cimadomo D, Argento C, Ubaldi N, Trabucco E, Drakopoulos P et al. Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) is an intriguing strategy to improve oocyte yield and the number of competent embryos in a short timeframe. *Minerva Ginecol* 2019;71:372-6.
12. 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.
13. Vaiarelli A, Cimadomo D, Rienzi L, Ubaldi FM. Reply: 'Second stimulation in the same ovarian cycle', probably a terminology more appropriate than 'luteal phase stimulation' in the DuoStim protocol. *Hum Reprod* 2021;36:1723-4.