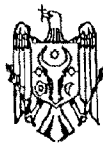




MD/EP 3261661 T2 2024.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3261661 (13) T2

(51) Int. Cl.:A61K 38/24 (2006.01.01)
C12N 5/073 (2010.01.01)
A61P 15/00 (2006.01.01)
A61P 15/08 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

<p>(21) Numărul de depozit: e 2018 0026</p> <p>(22) Data de depozit: 2016.02.25</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16709720.3, 2016.02.25</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european:3261661, 2018.01.03</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 201562121113 P; 201562121131 P; 15157661; 15185191</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.02.26; 2015.02.26; 2015.03.04; 2015.09.15</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: US; US; EP; EP</p>	<p>(49) Data publicării traducerii fasciculuului de brevet european validat: BOPI nr. 04/2024, 2024.04.30</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 42/2023, 2023.10.18</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 02/2018, 2018.02.28</p>
<p>(71) Solicitant: FERRING B.V., NL</p> <p>(72) Inventatori: ARCE SAEZ Joan Carlos, US; RUMAN Jane, US</p> <p>(73) Titular: FERRING B.V., NL</p> <p>(74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela</p>	

(54) Menotropină pentru tratarea infertilității

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la o tehnologie de reproducere asistată îmbunătățită care utilizează menotropină înalt purificată (HP-hMG) pentru a stimula dezvoltarea foliculilor în stimularea ovariană controlată, în special la femeile cu risc de răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată.

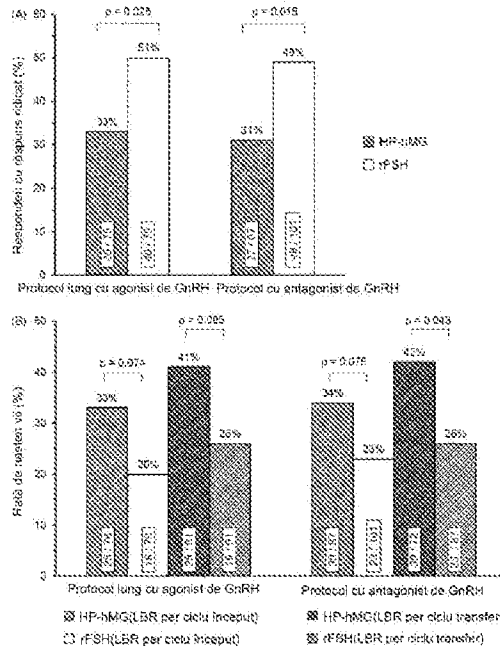
Revendicări: 7

Figuri: 2

2

MD/EP 3261661 T2 2024.04.30

FIGURA 1



(54) Menotropin for treating infertility

(57) Abstract:

1

The present invention relates to improved assisted reproductive technology using highly purified menotropin (HP-hMG) to stimulate follicle development in controlled ovarian stimulation, particularly in women at risk of a high ovarian response to controlled

2

ovarian stimulation.

Claims: 7

Fig.: 2

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENȚIEI**

5 Invenția descrisă în conținut se referă la tehnologia de reproducere asistată. În particular, în conținut sunt descrise metode pentru tratarea infertilității, inclusiv metode de stimulare ovariană controlată care pot fi deosebit de utile pentru femeile cu risc de un răspuns ovarian ridicat la aceasta.

STADIUL TEHNICII INVENȚIEI

10 Procedurile de tehnologie de reproducere asistată (ART) implică, în general, stimularea producției de ovule, recoltarea ovulelor din ovarele unei femei, combinarea acestora cu spermatozoizi *in vitro*, și transferarea lor în uterul unei femei (donator sau altă femeie). Succesul ART este îngreunat de riscurile materne și perinatale asociate cu stimularea producției de ovule, cum ar fi sindromul de hiperstimulare ovariană (SHSO) și sarcina ectopică. Alte preocupări care apar în ART sunt producția de embrioni de calitate și blastocști euploide pentru a sprijini ratele de sarcină în curs și ratele de nașteri vii.

15 Gonadotropinele, cum ar fi menotropina (de exemplu, gonadotropina umană de menopauză sau hMG), hormonul foliculostimulant (FSH) și hormonul luteinizant (LH), au fost utilizate pe scară largă pentru stimularea ovariană controlată (COS) și menotropina înalt purificată (HP-hMG) și FSH uman recombinant (r-hFSH) au fost utilizate de dată mai recentă. Eficacitatea protocoalelor de stimulare ovariană poate fi îmbunătățită utilizând agoniști ai hormonului de eliberare a hormonului gonadotropină în protocolul lung (GnRH) sau antagoniști ai GnRH pentru controlul ciclului. A se vedea, *de exemplu*, Devroey și colab. *Fertility and Sterility* 97: 561-71 (2012).

20 Deoarece răspunsurile pacientei la stimularea ovariană variază foarte mult, tratamentele sunt adesea individualizate. De exemplu, individualizarea se poate baza pe răspunsul ovarian prezis la stimularea cu gonadotropină, care prognozează un răspuns slab, normal sau ridicat. Răspunsurile ovariene ridicate sunt uzual definite ca femei care produc un număr mare de foliculi în curs de dezvoltare urmând un protocol standard de stimulare ovariană controlată (COS). Deși acești pacienți sunt în general considerați buni candidați pentru ART, răspunsul ovarian ridicat poate fi asociat cu rate mai mici de implantare și rate mai mari de avort spontan și, prin urmare, o șansă scăzută de succes în comparație cu un răspuns ovarian normal. Acești respondenți cu un răspuns ovarian ridicat prezintă, de asemenea, un risc mai mare pentru OHSS și complicațiile asociate cu acesta.

25 S-a emis ipoteza că stimularea ovariană poate avea un impact general negativ asupra calității embrionului, așa cum este evaluat prin parametrii morfologici și/sau analizele cromozomiale (*de exemplu*, euploidie vs aneuploidie). Vezi, *de exemplu*, Hamdine și colab., "Ovarian Stimulation for IVF: Mild Approaches" in *Human Fertility: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Vol. 1154, Springer Science+Business Media, New York (2014). În plus, Haaf și colab., *Fertility and Sterility* 91(3): 733-38 (2009), au raportat faptul că un randament mare de ovocite este asociat cu o rată crescută de eroare cromozomală. Cu toate acestea, Fatemi și colab., *Human Reproduction* 28(2) 442-52 (2013), au raportat faptul că răspunsul ovarian ridicat nu periclitează ratele de sarcină în curs, ci mai degrabă crește ratele de sarcină cumulate.

30 Eforturile de dezvoltare a metodelor ART îmbunătățite au implicat explorarea protocoalelor de stimulare mai blânde. De exemplu, Rubio și colab., *Human Reproduction* 25(9): 2290-2010 (2010), au raportat faptul că scăderea dozei de gonadotropină administrată persoanelor cu răspuns ridicat ar putea îmbunătăți ratele de fertilizare și calitatea embrionului, deși dozele mai mici au dus la un număr scăzut de ovocite. Alte eforturi au luat în considerare dacă gonadotropina specifică utilizată are impact asupra rezultatelor. De exemplu, Ziebe și colab., *Human Reproduction* 22(9) 2404-13 (2007), a raportat că utilizarea HP-hMG față de rFSH ar putea avea un impact asupra morfologiei embrionilor și a observat îmbunătățirea implantării, a sarcinii în curs și a ratelor de nașteri vii printre embrionii de calitate superioară derivați din stimularea cu HP-hMG în comparație cu rFSH. Trebuie remarcat, însă, faptul că, raportările lui Ziebe și colab., s-au bazat pe o evaluare vizuală a ovocitului/embrionului în ziua a treia după extragere, și nu pe baza analizei cromozomale. După cum se arată mai jos, o astfel de evaluare vizuală în ziua a treia nu permite detectarea aneuploidiei. Pe aceeași linie, La Marca și colab., *Fertility and Sterility* 0-169 (2012), au raportat faptul că printre respondenții cu răspuns ridicat prezis (subiecți cu un AMH $\geq 5,2$ ng/ml) grupul stimulat cu rFSH a avut semnificativ mai multe ovocite extrase, dar o rată de nașteri vii pe ciclu semnificativ mai scăzută în comparație cu grupul stimulat cu HP-hMG.

35 Amer și colab., *Reproduct Biol Endocrinol*, GB, Vol. 11, nr. 1 decembrie 2013 nu descriu un număr de foliculi antrali (AFC) în metodele lor. Arce și colab., *Fertil Steril*, vol. 99, nr. 6, p. 1644 dezvăluie o analiză retrospectivă a pacienților tratați cu FSH și hMG, dar nu identifică o etapă specifică de selecție, bazată pe AMH și AFC.

Prin urmare, rămâne o nevoie de metode îmbunătățite de tehnologie de reproducere asistată, în particular pentru femeile cu risc de un răspuns ridicat la stimularea ovariană controlată.

EXPUNEREA PE SCURT A INVENȚIEI

Conform prezentei invenții, este furnizată o compoziție (de exemplu, o compoziție farmaceutică) care cuprinde menotropină (gonadotropină umană de menopauză sau hMG) pentru utilizare în tratamentul unei paciente (de exemplu, o femeie cu risc de răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată) pentru a promova astfel dezvoltarea blastocitelor euploide pentru transferul viitor al blastocistului la pacienta menționată, tratamentul cuprinzând:

identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH)

$\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml înainte de tratament/stimulare [de exemplu atunci când este măsurată folosind un test Beckmann-Coulter Gen 2 așa cum este descris în Arce și colab., *Fertility and Sterility* 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (\pm coeficientul său de variabilitate)]; și un număr de foliculi antrali (AFC) > 10 în ambele ovare combinate înainte de tratament/stimulare și

administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Doza poate fi, sau poate fi echivalentă cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Orice referire la "tratament" în cele ce urmează este destinată să se refere la utilizarea compoziției descrise în conținut pentru tratamentul menționat.

Tratamentul cuprinde identificarea unei paciente care are un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente care are un nivel seric de hormon anti-mullerian (AMH)

$\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 15 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente care are un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 18 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente care are un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 20 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente care are un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente care are un nivel seric de hormon anti-mullerian (AMH)

$\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai puțin de 8 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare.

Tratamentul de promovare a dezvoltării blastocitelor euploide pentru transferul viitor de blastocisti poate crește proporția/procentul de blastocisti euploide în comparație cu proporția/procentul de blastocisti aneuploide. Tratamentul pentru promovarea dezvoltării blastocitelor euploide pentru transferul viitor al blastocistului poate reduce rata aneuploidiei. Rata aneuploidiei este discutată mai jos.

Tratamentul poate cuprinde administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 10 de tratament, de exemplu din ziua 1 până la ziua 14 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 20 de tratament.

Tratamentul pentru promovarea dezvoltării blastocitelor euploide pentru transferul viitor al blastocitelor poate promova dezvoltarea blastocitelor euploide (de exemplu, creșterea proporției/procentului de blastocisti euploide în comparație cu proporția/procentul de blastocisti aneuploide) în comparație cu o metodă comparabilă care utilizează hormonul stimulator de folicul recombinant (rFSH) cum este gonadotropina.

Tratamentul mai poate cuprinde administrarea de hCG (de exemplu hCG recombinat) pentru a declanșa ovulația.

Tratamentul mai poate cuprinde: extragerea (de exemplu, recoltarea) ovocitelor; fecundarea (de exemplu, inseminarea) ovocitelor; și permiterea ovocitelor fertilizate să se dezvolte până la stadiul de blastocist. Fertilizarea (de exemplu, inseminarea) poate fi fertilizarea *in vitro*, opțional injecție intracitoplasmatică de spermă (ICSI).

Tratamentul mai poate cuprinde evaluarea calității cromozomiale a blastocitelor obținuți după fertilizarea ovocitelor recoltate (de exemplu, pentru a identifica unul sau mai mulți blastocisti euploide). Tratamentul mai poate cuprinde transferul unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastocitelor (de exemplu, transfer proaspăt). Tratamentul mai poate cuprinde congelarea unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastocitelor.

Menotropina poate fi menotropină înalt purificată (HP-hMG).

Într-un exemplu, tratamentul poate cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 100 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 150 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Tratamentul poate cuprinde o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist GnRH în ziua 6 de tratament.

Pacienta (subiectul) este de preferință o pacientă cu ovulație. Cu alte cuvinte, se preferă ca pacienta (subiectul) să nu fie anovulator.

Conform unui alt aspect, este furnizată o compoziție care cuprinde menotropină (gonadotropină de menopauză umană sau hMG) pentru utilizare în promovarea dezvoltării blastocitelor euploide (pentru utilizare în tratamentul infertilității), tratamentul cuprinzând:

identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) înainte de tratament/stimulare [de exemplu atunci când este măsurată folosind un test Beckmann-Coulter Gen 2 așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (\pm coeficientul său de variabilitate)]; și

administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Doza poate fi, sau poate fi echivalentă cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 15 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 18 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 20 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 8 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare.

Promovarea dezvoltării blastocitelor euploide (pentru utilizarea în tratamentul infertilității) poate crește proporția/procentul de blastociti euploide în comparație cu proporția/procentul de blastociti aneuploide.

Tratamentul poate cuprinde administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 10 de tratament, de exemplu din ziua 1 până la ziua 14 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 20 de tratament.

Promovarea dezvoltării blastocitelor euploide (pentru utilizarea în tratamentul infertilității) poate duce la o creștere a proporției/procentului de blastociti euploide în comparație cu o metodă comparabilă care utilizează hormonul foliculostimulant recombinant (rFSH) cum este gonadotropina.

Tratamentul mai poate cuprinde administrarea de hCG (de exemplu hCG recombinat) pentru a declanșa ovulația.

Tratamentul mai poate cuprinde: extragerea (de exemplu, recoltarea) ovocitelor; fecundarea (de exemplu, inseminarea) ovocitelor; și permiterea ovocitelor fertilizate să se dezvolte până la stadiul de blastocist. Fertilizarea (de exemplu, inseminarea) poate fi fertilizarea *in vitro*, opțional injecție intracitoplasmică de spermă (ICSI).

Tratamentul mai poate cuprinde evaluarea calității cromozomiale a blastocitelor obținuți după fertilizarea ovocitelor recoltate (de exemplu, pentru a identifica unul sau mai mulți blastociti euploide). Tratamentul mai poate cuprinde transferul unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastocitelor (de exemplu, transfer proaspăt). Tratamentul mai poate cuprinde congelarea unui blastocist identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastocitelor.

Menotropina poate fi menotropină înalt purificată (HP-hMG).

Într-un exemplu, tratamentul poate cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 75 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de

tratament, de exemplu o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 150 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Tratamentul poate cuprinde o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist GnRH în ziua 6 de tratament.

5 Pacienta (subiectul) este de preferință o pacientă cu ovulație. Cu alte cuvinte, se preferă ca pacienta (subiectul) să nu fie anovulator.

Conform unui alt aspect, este furnizată o compoziție care cuprinde menotropină (gonadotropină de menopauză umană sau hMG) pentru utilizare în tratamentul infertilității (de exemplu, stimularea ovariană controlată) pentru a dezvolta blastociștii euploide pentru transferul viitor de blastocist, tratamentul cuprinzând:

10 identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) înainte de tratament/stimulare [de exemplu atunci când este măsurată folosind un test Beckmann-Coulter Gen 2 așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (\pm coeficientul său de variabilitate)]; și

15 administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Doza poate fi, sau poate fi echivalentă cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 15 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 18 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 20 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 8 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare.

Tratamentul de dezvoltare a blastociștilor euploide pentru transferul viitor de blastocist poate crește proporția/procentul de blastociști euploide în comparație cu proporția/procentul de blastociști aneuploide.

Tratamentul poate cuprinde administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 10 de tratament, de exemplu din ziua 1 până la ziua 14 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 20 de tratament.

Tratamentul de dezvoltare a blastociștilor euploide pentru transferul viitor al blastociștilor poate crește dezvoltarea blastociștilor euploide (de exemplu, creșterea proporției/procentului de blastociști euploide în comparație cu proporția/procentul de blastociști aneuploide) în comparație cu o metodă comparabilă folosind hormonul foliculostimulant recombinant (rFSH) ca gonadotropină.

45 Tratamentul mai poate cuprinde administrarea de hCG (de exemplu hCG recombinat) pentru a declanșa ovulația.

Tratamentul mai poate cuprinde: extragerea (de exemplu, recoltarea) ovocitelor; fecundarea (de exemplu, inseminarea) ovocitelor; și permiterea ovocitelor fertilizate să se dezvolte până la stadiul de blastocist. Fertilizarea (de exemplu, inseminarea) poate fi fertilizarea *in vitro*, opțional injecție intracitoplasmatică de spermă (ICSI).

Tratamentul mai poate cuprinde evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor obținuți după fertilizarea ovocitelor recoltate (de exemplu, pentru a identifica unul sau mai mulți blastociști euploide). Tratamentul mai poate cuprinde transferul unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor (de exemplu, transfer proaspăt). Tratamentul mai poate cuprinde congelarea unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor.

Menotropina poate fi menotropină înalt purificată (HP-hMG).

Într-un exemplu, tratamentul poate cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 75 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 150

UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Tratamentul poate cuprinde o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist GnRH în ziua 6 de tratament.

Pacienta (subiectul) este de preferință o pacientă cu ovulație. Cu alte cuvinte, se preferă ca pacienta (subiectul) să nu fie anovulator.

5 Conform unui alt aspect, este furnizată o compoziție care cuprinde menotropină (gonadotropină de menopauză umană sau hMG) pentru utilizare în tratamentul infertilității la o femeie cu risc de răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată, tratamentul cuprinzând:

10 identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) [de exemplu atunci când este măsurată folosind un test Beckmann-Coulter Gen 2 așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (\pm coeficientul său de variabilitate)] și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate înainte de tratament/stimulare; și

15 administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Doza poate fi, sau poate fi echivalentă cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

20 Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 15 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 18 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 20 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Tratamentul poate cuprinde identificarea unei paciente cu un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,0 \pm 0,5$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml) și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai mic de 8 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare.

30 Tratamentul poate cuprinde administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 10 de tratament, de exemplu din ziua 1 până la ziua 14 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 20 de tratament.

35 Tratamentul mai poate cuprinde administrarea de hCG (de exemplu hCG recombinat) pentru a declanșa ovulația.

Tratamentul mai poate cuprinde: extragerea (de exemplu, recoltarea) ovocitelor; fecundarea (de exemplu, inseminarea) ovocitelor; și permiterea ovocitelor fertilizate să se dezvolte până la stadiul de blastocist. Fertilizarea (de exemplu, inseminarea) poate fi fertilizarea *in vitro*, opțional injecție intracitoplasmatică de spermă (ICSI).

40 Tratamentul mai poate cuprinde evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor obținuți după fertilizarea ovocitelor recoltate (de exemplu, pentru a identifica unul sau mai mulți blastociști euploide). Tratamentul mai poate cuprinde transferul unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor (de exemplu, transfer proaspăt). Tratamentul mai poate cuprinde congelarea unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor.

45 Menotropina poate fi menotropină înalt purificată (HP-hMG).

Pacienta (subiectul) este de preferință o pacientă cu ovulație. Cu alte cuvinte, se preferă ca pacienta (subiectul) să nu fie anovulator.

50 Într-un exemplu, tratamentul poate cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 75 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 150 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Tratamentul poate cuprinde o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist GnRH în ziua 6 de tratament.

55 Tratamentul poate crește numărul de ovocite în metafaza II (de exemplu, rezultate din tratament) în comparație cu tratamentul echivalent cu FSH. Numărul de ovocite în metafaza II va fi evaluat prin metode bine cunoscute în domeniu, așa cum este discutat mai jos.

Conform prezentei invenții, într-un alt aspect, este furnizată o compoziție (de exemplu, o compoziție farmaceutică) care cuprinde menotropină (gonadotropină umană de menopauză sau hMG) pentru utilizare în tratamentul infertilității pentru a promova astfel dezvoltarea blastociștilor euploide pentru transferul viitor al blastocistului într-o pacientă (de exemplu, o femeie cu risc de răspuns ovarian

crescut la stimularea ovariană controlată) identificată ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml [de exemplu atunci când este măsurată folosind un test Beckmann-Coulter Gen 2 așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (\pm coeficientul său de variabilitate)] înainte de
5 tratament/stimulare și identificat ca având un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare; tratamentul cuprinzând administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Doza poate fi, sau poate fi echivalentă cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

10 Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 15 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric de hormon anti-mullerian
15 (AMH)

$\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 18 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 20 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric de hormon anti-mullerian
20 (AMH)

$\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai puțin de 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare.

Tratamentul de promovare a dezvoltării blastocistoștilor euploide pentru transferul viitor de blastocistoști poate crește proporția/procentul de blastocistoști euploide în comparație cu proporția/procentul de
25 blastocistoști aneuploide. Tratamentul pentru promovarea dezvoltării blastocistoștilor euploide pentru transferul viitor al blastocistului poate reduce rata aneuploidiei. Rata aneuploidiei este discutată mai jos.

Tratamentul poate cuprinde administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 100 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 10 de tratament, de exemplu din ziua 1 până la ziua 14 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua
30 20 de tratament.

Tratamentul pentru promovarea dezvoltării blastocistoștilor euploide pentru transferul viitor al blastocistoștilor poate promova dezvoltarea blastocistoștilor euploide (de exemplu, creșterea proporției/procentului de blastocistoști euploide în comparație cu proporția/procentul de blastocistoști aneuploide) în comparație cu o metodă comparabilă care utilizează hormonul stimulator de folicul recombinant (rFSH) cum este gonadotropina.
35

Tratamentul mai poate cuprinde administrarea de hCG (de exemplu hCG recombinat) pentru a declanșa ovulația.

Tratamentul mai poate cuprinde: extragerea (de exemplu, recoltarea) ovocitelor; fecundarea (de exemplu, inseminarea) ovocitelor; și permiterea ovocitelor fertilizate să se dezvolte până la stadiul de blastocist. Fertilizarea (de exemplu, inseminarea) poate fi fertilizarea *in vitro*, opțional injecție intracitoplasmatică de spermă (ICSI).
40

Tratamentul mai poate cuprinde evaluarea calității cromozomiale a blastocistoștilor obținuți după fertilizarea ovocitelor recoltate (de exemplu, pentru a identifica unul sau mai mulți blastocistoști euploide). Tratamentul mai poate cuprinde transferul unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastocistoștilor (de exemplu, transfer proaspăt). Tratamentul mai poate cuprinde congelarea unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastocistoștilor.
45

Menotropina poate fi menotropină înalt purificată (HP-hMG).

Într-un exemplu, tratamentul poate cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 100 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 150 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Tratamentul poate cuprinde o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist GnRH în ziua 6 de tratament.
50

Pacienta (subiectul) este de preferință o pacientă cu ovulație. Cu alte cuvinte, se preferă ca pacienta (subiectul) să nu fie anovulator.

55 Descrierea generală de mai sus și descrierea detaliată sunt exemplificative și explicative și au scopul de a furniza o explicație suplimentară a invenției. Pentru înțelegerea detaliată a invenției, se face referire la următoarea descriere detaliată a variantelor de realizare specifice, luate împreună cu figurile însoțitoare. Alte obiective, avantaje și caracteristici noi vor fi ușor evidente pentru persoanele de specialitate în domeniu din următoarea descriere detaliată a invenției.

DESCRIEREA PE SCURT A FIGURILOR

Figura 1 prezintă (A) apariția răspunsului ovarian ridicat (≥ 15 ovocite extrase) și (B) ratelor de nașteri vii (LBR) în rândul femeilor clasificate ca potențiale cu răspuns ridicat de un nivel inițial ridicat de hormon anti-Müllerian (AMH). Valorile din bare sunt n/total . Valorile p se bazează pe Testul Chi-Square. Procentul de femei cu un răspuns ovarian ridicat este semnificativ mai mic pentru HP-hMG în comparație cu rFSH atât în protocolul lung cu agonist, cât și în cel cu antagonist.

Figura 2 prezintă o diagramă de flux a modelului studiului pentru studiul clinic din Exemplul 2.

DESCRIERE DETALIATĂ

În conținut sunt descrise compoziții de reproducere asistată pentru utilizare în metode tehnologice, de exemplu metode de tratare a infertilității. În particular, sunt descrise în conținut metode de stimulare ovariană controlată (COS) care pot fi deosebit de utile pentru femeile cu risc de un răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată. În unele variante de realizare, metodele sunt utile pentru optimizarea răspunsului ovarian la COS, îmbunătățirea calității embrionului, creșterea proporției de blastociști euploide produși de fertilizarea *in vitro* după stimularea ovariană controlată, scăzând proporția de blastociști aneuploidal produși de fertilizarea *in vitro* după stimularea ovariană controlată, scăderea ratei aneuploidiei de exemplu după stimularea ovariană controlată, creșterea ratelor de sarcină în curs și/sau creșterea ratei de nașteri vii.

Prezenta invenție se bazează pe descoperirea neașteptată a inventatorilor că utilizarea menotropinei înalt purificate (HP-hMG) la potențialele înalt respondente ovariene supuse stimulării ovariane controlate (COS) poate optimiza răspunsul ovarian, îmbunătăți calitatea embrionului, crește proporția de blastociști, euploide, scad proporția de blastociști aneuploide și îmbunătățesc ratele de sarcină în curs și cresc ratele de nașteri vii.

Definiții

Termenii tehnici și științifici utilizați în conținut au semnificațiile înțelese în mod obișnuit de către o persoană de specialitate în domeniul tehnologiei de reproducere asistată la care se referă prezenta invenție, dacă nu este definit altfel. În conținut se face referire la diverse metodologii cunoscute de persoanele de specialitate în domeniu. Orice materiale adecvate și/sau metode cunoscute de persoanele de specialitate în domeniu pot fi utilizate în realizarea prezentei invenții. Cu toate acestea, sunt descrise materiale și metode specifice. Materialele, reactivii și altele asemenea la care se face referire în următoarea descriere și exemple pot fi obținute din surse comerciale, dacă nu este menționat altfel.

Așa cum sunt utilizate în conținut, formele de singular "o", "un" și "cel" desemnează atât forma de singular, cât și forma de plural, cu excepția cazului în care este specificat în mod expres pentru a desemna numai forma de singular.

Așa cum este utilizat în conținut, termenul "aproximativ" înseamnă faptul că numărul sau intervalul nu este limitat la numărul exact sau intervalul stabilit, ci cuprind intervale din jurul numărului sau intervalului menționat, așa cum va fi înțeles de către persoanele de specialitate în domeniu, în funcție de contextul în care este utilizat numărul sau intervalul. Dacă nu reiese altfel din contextul sau convenția din domeniu, "aproximativ" înseamnă până la plus sau minus 10% din termenul particular.

Așa cum este utilizat în conținut, "optimizarea răspunsului ovarian" se referă la optimizarea răspunsului ovarian la COS pentru a obține un număr optim de foliculi în curs de dezvoltare, cum ar fi de la 4-15 foliculi în curs de dezvoltare, aproximativ 8-15 foliculi în curs de dezvoltare, aproximativ 8-14 foliculi în curs de dezvoltare sau aproximativ 11 foliculi în curs de dezvoltare.

Așa cum este utilizat în conținut, "îmbunătățirea calității embrionului" se referă la creșterea proporției de blastociști euploide (de exemplu, blastociștii având numărul corect de cromozomi) și/sau scăderea proporției de blastociști aneuploide (de exemplu, blastociștii având un număr incorect de cromozomi) produse într-un singur ciclu de ART care implică COS urmat de fertilizare *in vitro*.

Așa cum este utilizat în conținut, "sarcină în curs" se referă la sarcina cu un făt viabil și bătaii ale inimii fetale detectabile la 10-11 săptămâni de gestație, de exemplu, la 8-9 săptămâni după transferul de blastocist/embrion.

Așa cum este utilizat în conținut, "sarcină clinică" se referă la gestație și o bătaii ale inimii fetale detectabile la 5-6 săptămâni de gestație, de exemplu, la 3-4 săptămâni după transferul de blastocist/embrion.

Așa cum este utilizat în conținut, "femeie" se referă la o femeie umană adultă. În unele variante de realizare, o femeie tratată în conformitate cu metodele descrise în conținut este identificată ca având 35 de ani sau mai tânără, sau este identificată ca având 34 de ani sau mai tânără. În unele variante de realizare, o femeie tratată în conformitate cu metodele descrise în conținut este identificată ca având 21-38 de ani, sau identificată ca având 21-37 de ani, sau identificată ca având 21-36 de ani sau identificată ca având 21-34 de ani sau identificate ca având 21-32 de ani sau identificate ca având 21-31 de ani (înainte

de tratament). În unele variante de realizare, o femeie tratată în conformitate cu metodele descrise în conținut este identificată (înainte de tratament) ca având un IMC de 38 kg/m² sau mai puțin, 36 kg/m² sau mai puțin, 34 kg/m² sau mai puțin, 32 kg/m² sau mai puțin, 30 kg/m² sau mai puțin, sau 28 kg/m² sau mai puțin, cum ar fi IMC de 18-38, 18-36, 18-34, 18-32, 18-30 sau 18-28 kg/m². În unele variante de realizare, o femeie tratată în conformitate cu metodele descrise în conținut este identificată ca având un IMC de 18-25 kg/m², 18-26 kg/m², 18-29 kg/m², 18-30 kg/m², 18-32 kg/m², 18-34 kg/m², 18-36 kg/m² sau 18-38 kg/m².

Așa cum sunt utilizate în conținut, subiecții clasificați ca fiind "cu risc de un răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată" se referă la femeile care sunt susceptibile de a dezvolta un număr mare de foliculi sau ovocite în urma unui protocol standard de stimulare ovariană controlată (COS), cum ar fi femeile cu o probabilitate mai mare decât media de a produce 15 sau mai multe ovocite. Femeile pot fi identificate ca fiind expuse riscului dacă au generat 15 sau mai multe ovocite într-un ciclu ART anterior, de exemplu, într-un tratament anterior COS. În plus sau alternativ, femeile pot fi identificate ca fiind expuse riscului dacă sunt considerate a fi expuse riscului de a dezvolta OHSS. În plus sau alternativ, femeile pot fi identificate ca fiind expuse riscului dacă au un nivel seric al hormonului anti-Müllerian (AMH) mai mare sau egal cu

aproximativ 5,2 ng/ml atunci când este evaluat așa cum este descris în conținut mai jos (sau un nivel echivalent atunci când este evaluat printr-o metodă diferită). În plus, femeile pot fi identificate ca fiind expuse riscului dacă au un număr de foliculi antrali (AFC) mai mare sau egal cu 15, mai mare sau egal cu 18 sau mai mare sau egal cu 20, în ambele ovare combinate, înainte de stimulare.

Termenul "menotropină" așa cum este utilizat în conținut include gonadotropină umană de menopauză sau hMG. Termenul "menotropină înalt purificată" așa cum este utilizat în conținut include HP-hMG disponibil sub marca comercială MENOPUR[®] de la Ferring B.V., care conține atât hormonul de stimulare a foliculilor (FSH) cât și activitatea hormonului luteinizant (LH) activată de gonadotropina corionică umană (hCG).

Termenul "agonist GnRH" așa cum este utilizat în conținut include agoniști ai hormonului de eliberare a gonadotropinei (GnRH), cum ar fi buserelina (de exemplu, Suprecur[®]), leuprorelină (de exemplu, Lupron[®]), nafarelină (de exemplu, Synarel[®]), și triptorelină (de exemplu, Trelstar[®]).

Termenul "antagonist GnRH" așa cum este utilizat în conținut include antagoniști ai hormonului de eliberare a gonadotropinei (GnRH), cum ar fi acetat de ganirelix (de exemplu, Orgalutran[®]) și acetat de cetrotrelix (de exemplu, Cetrotide[®]), care blochează acțiunea GnRH prin blocarea competitivă a receptorilor GnRH asupra gonadotropilor hipofizari și previn astfel producția de gonadotropină și eliberarea prematură a ovulelor.

Așa cum este utilizată în conținut, expresia "cantitate eficientă" se referă la doza care asigură efectul farmacologic specific pentru care medicamentul este administrat la un subiect care are nevoie de un astfel de tratament. Se subliniază faptul că o cantitate eficientă terapeutic nu va fi întotdeauna eficientă în tratarea stărilor descrise în conținut, chiar dacă o astfel de doză este considerată a fi o cantitate eficientă terapeutic de către persoanele de specialitate în domeniu. Doar pentru comoditate, dozele exemplare și cantitățile eficiente terapeutic sunt furnizate mai jos cu referire la subiecți umani adulți. Persoanele de specialitate în domeniu pot ajusta astfel de cantități în conformitate cu practicile standard, după cum este necesar, pentru a trata un subiect și/sau afecțiune/boală specifică.

Așa cum s-a menționat mai sus, prezenta invenție furnizează compoziții pentru utilizare în metode de tehnologie de reproducere care implică utilizarea menotropinei înalt purificate (HP-hMG) la femeile cu risc de un răspuns ovarian ridicat la

COS și suferă de COS. După cum s-a menționat de asemenea mai sus, în scopurile metodelor dezvăluite în conținut, femeile pot fi identificate ca fiind expuse riscului unui răspuns ovarian ridicat la COS dacă au un nivel seric al hormonului anti-Müllerian (AMH) mai mare decât sau egal cu aproximativ

5.2 ± 0,5 ng/ml, atunci când este măsurat utilizând un test Beckmann-Coulter Gen 2, așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (± coeficientul său de variabilitate). Nivelurile serice de AMH reprezintă un marker surogat pentru rezerva funcțională a foliculului ovarian și a fost raportată o corelație pozitivă între nivelurile serice de AMH și răspunsul ovarian (de exemplu, randamentul ovocitelor). *Id.* Cu toate acestea, conform lui Arce și colab., Nivelurile de AMH nu au fost corelate cu calitatea embrionului. *Id.*

În plus, așa cum s-a menționat mai sus, în scopurile metodelor dezvăluite în conținut, femeile pot fi identificate ca fiind expuse riscului unui răspuns ovarian ridicat la COS dacă au un număr de foliculi antrali (AFC) mai mare sau egal cu 15, mai mare decât sau egal cu 18 sau mai mare sau egal cu 20, în ambele ovare combinate, înainte de stimulare. Foliculii antrali sunt foliculi mici (aproximativ 2-8 mm în diametru) care pot fi vizualizați și măsurați prin ecografie transvaginală. Foliculii antrali sunt un alt marker pentru rezerva ovariană, iar AFC a fost utilizat (împreună cu alți markeri) pentru a prezice

răspunsul ovarian la COS, de exemplu, pentru a prezice dacă un anumit subiect va fi un răspuns scăzut, normal sau mare. Cu toate acestea, AFC nu a fost corelată cu calitatea embrionului.

Metode de Tehnologie de Reproducere Asistată

Metodele descrise în conținut sunt utile în orice metodă de tehnologie de reproducere care implică stimularea ovariană controlată (COS), cum ar fi pentru fertilizarea *in vitro*, inclusiv injectarea intra-citoplasmatică a spermei (ICSI), inclusiv metode care implică transferul proaspăt de ovule fertilizate (de exemplu, blastociștii/embrioni) și metode care implică congelarea ouălor fertilizate (de exemplu, blastociștii/embrioni) pentru implantare ulterioară.

În realizări specifice, subiectul care suferă de COS prezintă riscul unui răspuns ovarian ridicat la COS. În invenție, subiectul este identificat prin faptul că are un nivel seric de AMH mai mare sau egal cu aproximativ $5,2 \pm 0,5$ ng/ml ng/ml, atunci când este măsurat folosind un test Beckmann-Coulter Gen 2, așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), sau un nivel echivalent de AMH evaluat printr-o metodă diferită (\pm coeficientul său de variabilitate).

În unele variante de realizare, subiectul este identificat suplimentar sau alternativ având un AFC mai mare sau egal cu 15, mai mare sau egal cu 18 sau mai mare sau egal cu 20, în ambele ovare combinate, înainte de stimulare. În unele variante de realizare, subiectul este exclus de la tratament prin metodele descrise în conținut dacă subiectul are un AFC mai mic de 8, sau mai mic de 10, în ambele ovare combinate, înainte de stimulare. În unele variante de realizare, subiecții tratați prin metodele descrise în conținut au (sunt identificați ca având) un AFC de cel puțin 10 (≥ 10) în ambele ovare combinate, înainte de stimulare.

Subiectul poate fi identificat suplimentar sau alternativ ca fiind expus riscului dacă a generat 15 sau mai multe ovocite într-un ciclu ART anterior, de exemplu, într-un tratament anterior COS, și/sau dacă este considerat a fi expus riscului de a dezvolta SHSO.

În realizări specifice, metodele includ administrarea de HP-hMG la subiect într-o cantitate eficientă pentru a stimula dezvoltarea foliculilor. În unele realizări, HP-hMG este administrat la o doză de la aproximativ 75 UI sau 100 UI până la aproximativ 300 UI/zi, sau de la aproximativ 75 până la aproximativ 200 UI/zi, sau de la aproximativ 100 până la aproximativ 200 UI/zi, pentru de la aproximativ 1 la aproximativ 20 de zile, cum ar fi cel puțin 5 zile. Compozițiile farmaceutice care cuprind HP-hMG sunt disponibile comercial, cum ar fi MENOPUR[®] produs vândut de Ferring B.V., care este formulat pentru injecție subcutanată. În mod tipic, o doză inițială este de 150 UI/zi în primele 5 zile, care poate fi ajustată ulterior (*de exemplu.*, în ziua 6 în continuare) pe baza răspunsului ovarian (folicular) al subiectului, care poate fi evaluat, de exemplu, prin ecografie transvaginală (TVUS). De exemplu, odată ce foliculul principal atinge > 12 mm în diametru, doza poate fi ajustată cu 75 UI per ajustare. De obicei, doza este ajustată în sus sau în jos atunci când atât nivelul seric de estradiol, cât și numărul de foliculi > 12 mm sunt fie prea scăzute, fie prea mari la a 6^a zi de stimulare. HP-hMG se administrează zilnic până la atingerea nivelului dorit de producție de foliculi. De exemplu, HP-hMG poate fi administrat până când s-au dezvoltat trei foliculi cu un diametru > 17 mm, după cum poate fi determinat de TVUS. De obicei, perioada maximă de dozare HP-hMG este de 20 de zile.

În unele variante de realizare, metodele includ administrarea unui antagonist GnRH în timpul unei porțiuni din perioada de administrare a HP-hMG. De exemplu, un antagonist de GnRH poate fi administrat odată ce foliculul principal atinge 14 mm în diametru și poate fi continuat prin restul perioadei de administrare HP-hMG. Când antagonistul GnRH este acetat de ganirelix (cum ar fi Orgalutran[®]), o doză tipică este de 0,25 mg/zi administrată subcutanat.

În alte variante de realizare, metodele includ administrarea unui agonist GnRH înainte de stimularea ovariană, cum ar fi administrarea de triptorelină (în mod uzual la 0,1 mg/zi subcutanat) sau leuprorelină (de exemplu, Lupron[®]).

Odată ce nivelul dorit de producție de foliculi este atins, ovulația poate fi stimulată prin metode cunoscute în domeniu, cum ar fi printr-o injecție în bolus de gonadotropină corionică umană (hCG). O doză tipică de hCG recombinată (cum ar fi Ovitrelle[®]) este de 250 μ g (6.500 UI de activitate hCG), în mod uzual administrată printr-o singură injecție subcutanată. Apoi, ovocitele sunt extrase și fertilizate prin metode cunoscute în domeniu, cum ar fi ICSI.

Pentru metodele de transfer proaspăt, unul sau mai mulți blastociști sunt selectați pentru transfer la câteva zile după fertilizare (de exemplu, după 5 zile). Blastociștii rămași pot fi congelați prin metode cunoscute în domeniu pentru transferul viitor (inclusiv vitrificarea). În realizări specifice, metodele descrise în conținut sunt utilizate într-un singur protocol de transfer de blastocist, în care un singur blastocist este selectat pentru transfer proaspăt. În conformitate cu acele variante de realizare, blastociștii rămași pot fi congelați prin metode cunoscute în domeniu pentru transferul viitor.

Pentru metodele "congelare totală", blastociștii selectați sunt înghețați prin metode cunoscute în domeniu pentru transferul viitor.

În realizări specifice, selecția blastocistului este ghidată de analiza morfologică. De exemplu, calitatea morfologică a blastocistului poate fi evaluată prin determinarea expansiunii blastocistului și a stării de ecloziune, gradarea masei celulare interioare și gradarea trofotodermului conform sistemului de clasificare a blastocistului Gardner. A se vedea, *de exemplu*, Van den Abbeel și colab., Reproductive Biomed. OnLine 27: 353-61 (2013). De exemplu, blastociștii cu expansiune blastocist și starea de ecloziune 4, 5 sau 6, gradul de masă celulară internă A și gradul de trofotoderm A sau B pot fi considerați de calitate "excelentă", în timp ce blastociștii cu expansiune de blastocist și starea de ecloziune 3, 4, 5 sau 6, masa celulară internă de gradul A sau B și trofotodermul de gradul A sau B pot fi considerați de calitate "bună".

În plus sau alternativ, calitatea blastocistului este evaluată prin analiză cromozomială, inclusiv screening genetic (de exemplu, screening genetic preimplantare sau PGS) pentru a detecta aneuploidia. În unele variante de realizare, analiza cromozomială include screening cromozomial complet (CCS) așa cum este descris, de exemplu, în Forman și colab., Fertility and Sterility 100: 718-24 (2013). După cum se raportează în această lucrare, CCS poate fi efectuată înainte de transferul proaspăt sau înainte de congelarea blastocistului pentru transferul viitor.

Conform prezentei invenții, într-un alt aspect, este furnizată o compoziție care cuprinde menotropină pentru utilizare în tratamentul infertilității pentru a reduce rata de aneuploidie în blastociștii rezultați la un pacient identificat ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) > 10 în ambele ovare combinate, de exemplu un număr de foliculi antrali (AFC) > 15 în ambele ovare combinate înainte de tratament/stimulare, tratamentul cuprinzând administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 a tratament.

În conținut termenul "rată de aneuploidie" este definit ca un procent [de exemplu pentru un subiect (pacient)] și calculat ca de 100 de ori raportul dintre numărul de blastociști aneuploide și numărul total de blastociști. Numărul de blastociști aneuploide poate fi determinat, de exemplu prin metodele descrise mai sus (de exemplu, analiză cromozomială, cum ar fi PGS, CCS). Numărul total de blastociști poate fi determinat, de exemplu prin metode bine cunoscute în domeniu, (de exemplu, prin cele descrise și la care se face referire în Exemplul 2 de mai jos).

Prin "tratamentul infertilității pentru a reduce rata aneuploidiei în blastociștii rezultați" se înțelege faptul că tratamentul reduce rata aneuploidiei în blastociștii care rezultă din tratament (de exemplu, reduce efectiv numărul de blastociști aneuploidali produși de tratament în raport cu numărul total de blastociști produși prin tratament). Tratamentul poate reduce rata aneuploidiei comparativ cu tratamentul echivalent cu FSH.

Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric de hormon anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 15 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 18 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric de hormon anti-mullerian (AMH)

$\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 20 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare. Pacienta poate fi identificată ca având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) nu mai puțin de 10 în ambele ovare combinate, înainte de tratament/stimulare.

Tratamentul poate cuprinde administrarea unei doze, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 10 de tratament, de exemplu din ziua 1 până la ziua 14 de tratament, de exemplu din ziua 1 până în ziua 20 de tratament.

Tratamentul mai poate cuprinde administrarea de hCG (de exemplu hCG recombinat) pentru a declanșa ovulația.

Tratamentul mai poate cuprinde: extragerea (de exemplu, recoltarea) ovocitelor; fecundarea (de exemplu, inseminarea) ovocitelor; și permiterea ovocitelor fertilizate să se dezvolte până la stadiul de blastocist. Fertilizarea (de exemplu, inseminarea) poate fi fertilizarea *in vitro*, opțional injecție intracitoplasmatică de spermă (ICSI).

Tratamentul mai poate cuprinde evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor obținuți după fertilizarea ovocitelor recoltate (de exemplu, pentru a identifica unul sau mai mulți blastociști euploide). Tratamentul mai poate cuprinde transferul unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor (de exemplu, transfer proaspăt). Tratamentul mai poate cuprinde congelarea unui blastocist euploid identificat prin evaluarea calității cromozomiale a blastociștilor.

Menotropina poate fi menotropină înalt purificată (HP-hMG).

Într-un exemplu, tratamentul poate cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 75 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament, de exemplu o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 150 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament. Tratamentul poate cuprinde o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist GnRH în ziua 6 de tratament.

Conform prezentei invenții, într-un alt aspect, compoziția este utilă pentru a reduce rata aneuploidiei în blastocistiții rezultați pentru transferul viitor de blastocist.

În unele variante de realizare, susținerea fazei luteale este asigurată prin administrarea de progesteron, cum ar fi inserțiile vaginale de progesteron, din ziua de după extragerea ovocitelor până la 10-15 zile după transferul de blastocist/embrion și/sau din ziua transferului de blastocist/embrion până la confirmarea sarcinii în curs, în conformitate cu protocoalele cunoscute în domeniu.

În unele realizări, sarcina clinică este confirmată de TVUS la 5-6 săptămâni de gestație (de exemplu, 3-4 săptămâni după transferul de blastocist/embrion). În unele realizări, sarcina în curs este confirmată de TVUS la 10-11 săptămâni de gestație (de exemplu, 8-9 săptămâni după transferul de blastocist/embrion).

În unele realizări, subiectul este urmărit pentru a evalua rezultatul sarcinii (de exemplu, nașteri vii) și/sau sănătatea neonatală.

După cum s-a arătat mai sus, metodele descrise în conținut sunt utile pentru îmbunătățirea calității embrionului, creșterea proporției de blastocisti euploide, scăderea proporției de blastocisti aneuploide, creșterea ratelor de sarcină în curs și/sau creșterea ratei de nașteri vii, în comparație cu metode comparabile care utilizează hormonul stimulator de folicul recombinant. (rFSH) cum este gonadotropina. În particular, metodele descrise în conținut pot avea ca rezultat o proporție crescută de blastocisti euploide (de exemplu, o proporție scăzută de blastocisti aneuploide), în comparație cu metodele comparabile care utilizează rFSH cum este gonadotropină. Metodele descrise în conținut pot duce, de asemenea, la creșterea ratelor de sarcină în curs și/sau la creșterea ratei de nașteri vii, în comparație cu metode comparabile care utilizează rFSH cum este gonadotropina, cum ar fi o creștere cu 8% sau 10% sau mai mare a ratelor de sarcină în curs și/sau creșterea rata natalității vii. În unele variante de realizare, metodele au ca rezultat mai puține ouă, dar o proporție mai mare de blastocisti euploide în comparație cu metode comparabile care utilizează rFSH cum este gonadotropina.

Alte aspecte ale metodelor descrise în conținut sunt ilustrate în următoarele exemple, care nu sunt limitative în niciun fel.

EXEMPLE

Exemplul 1 - Analiza Retrospectivă

A fost întreprinsă o analiză retrospectivă a datelor colectate în două studii clinice controlate randomizate care compară rezultatul tratamentului la pacienții supuși stimulării cu HP-hMG sau FSH recombinat în urma unui protocol lung cu agonist de GnRH (Anckaert și colab., Human Reproduction 27: 1829-39 (2012)) sau un protocol cu antagonist de GnRH (Arce și colab., Fertility and Sterility, 99: 1644-53 (2013)).

1. Populațiile de Studiu

Principalele criterii de includere pentru studiul lung cu agonist au fost femeile cu vârsta cuprinsă între 21-37 de ani cu indicații majore pentru FIV (cum ar fi infertilitatea tubară, infertilitate inexplicabilă sau infertilitate ușoară a factorului masculin), nivelurile de FSH în limite normale (1-12 UI/L), IMC de 18-29 și cicluri menstruale regulate de 21-35 de zile, despre care se presupunea că sunt ovulatorii. Principalele criterii de includere pentru studiul cu antagonist au fost femeile cu vârsta cuprinsă între 21-34 de ani cu un diagnostic primar de infertilitate de infertilitate inexplicabilă sau infertilitate ușoară a factorului masculin, niveluri de FSH de 1-12 UI/L, IMC de 18-25 și cicluri menstruale regulate de 24-35 de zile.

2. Protocoale de studiu

În protocolul lung cu agonist, mecanismul de acțiune prin scăderea densității a fost efectuat utilizând triptorelină (0,1 mg/zi) (Decapepty[®], Ferring Pharmaceuticals A/S) a început cu 5-7 zile înainte de începerea estimată a următoarelor menstruații și a continuat până la sfârșitul administrării gonadotropinei. Gonadotropina (HP-hMG sau rFSH) a fost administrată la 225 UI/zi în primele 5 zile și apoi ajustată în funcție de răspunsul ovarian.

În protocolul cu antagonist, gonadotropina (HP-hMG sau rFSH) a fost administrată la 150 IU/zi în primele 5 zile și apoi ajustată în funcție de răspunsul ovarian din ziua 6. În ziua 6 antagonistul de GnRH (ganirelix, Orgalutran, MSD) a fost a început cu 0,25 mg/zi și a continuat pe tot parcursul tratamentului cu gonadotropină.

În ambele protocoale, s-au administrat 250 µg hCG (Choriogonadotropin alfa, Ovitrelle, Merck Serono) când au fost observați trei foliculi cu diametrul ≥ 17 mm, iar recuperarea ovocitelor a avut loc 36 ± 2 ore mai târziu.

Suportul luteal a fost asigurat prin administrarea vaginală de progesteron

În protocolul lung cu agonist, 1 sau 2 embrioni au fost transferați în ziua 3. În protocolul cu antagonist, 1 blastocist a fost transferat în ziua 5.

Nașterea vie a fost definită ca nașterea a (cel puțin) unui nou-născut viu.

3. Teste de ser

AMH a fost analizat prin test de imunosorbție legat de enzime (studiu lung cu agonist: Immunotech Beckman Coulter AMH ELISA; studiu cu antagonist: Beckman Coulter Gen 2 ELISA; $1 \text{ ng/ml} = 7,14 \text{ } \mu\text{mol/L}$). Testele AMH au avut o sensibilitate de 0,35 și 0,08 ng/ml și o imprecizie totală (% coeficient de variație) de $< 9,5$ și $< 7,7$ în Immunotech Beckman Coulter și, respectiv, Beckman Coulter Gen 2. FSH, estradiolul și progesteronul au fost analizate prin imunotest de electrochimiluminiscentă (Roche-Diagnostics ECLIA).

4. Analize statistice

În total, cele două studii au cuprins 1372 de femei. În analiza retrospectivă, femeile au fost clasificate ca fiind potențial cu răspunsuri ridicate dacă AMH inițială se afla în prima quartilă superioară (percentila a 75^a) din distribuția AMH observată. În ambele protocoale, percentila a 75^a a fost identică ($5,0 \text{ ng/ml} = 37,4 \text{ } \mu\text{mol/L}$). În analiza retrospectivă, o sută cincizeci și cinci de femei tratate în protocolul lung cu agonist al GnRH (76 și 79 în grupurile HP-hMG și, respectiv, rFSH) și 188 de femei în protocolul cu antagonist al GnRH (87 și 101 în HP-hMG și, respectiv, grupurile rFSH) au fost clasificate ca potențiale cu răspuns ridicat.

În fiecare protocol, caracteristicile inițiale, datele de sfârșit de stimulare, răspunsul ovarian și datele embrionare au fost comparate între femeile grupate în funcție de valoarea lor AMH în ziua 1 de stimulare (> 75 versus \leq percentila 75). S-au efectuat analize similare pentru potențialele cu răspunsuri mari, comparând tratamentele cu gonadotropină (HP-hMG versus rFSH) în cadrul fiecărui protocol. Datele continue și categorice au fost comparate folosind testul Wilcoxon și, respectiv, testul Chi-Square sau Fisher exact. Pentru potențialele cu răspuns ridicat, riscul de răspuns ridicat (≥ 15 ovocite extrase) și șansa de a avea nașteri vii au fost comparate între tratamente folosind testul Chi-Square. Diferențele observate în ratele de nașteri vii între grupurile de tratament cu gonadotropină au fost analizate în continuare în populația comună de potențiale cu răspuns ridicat din ambele protocoale pentru a determina dacă ar putea fi atribuite caracteristicilor inițiale sau variabilelor de sfârșit de stimulare. Pentru fiecare variabilă, a fost montat un model de regresie logistică, incluzând grupul de tratament și variabila în cauză în predictorul liniar. Doar ciclurile de tratament proaspete au fost incluse în prezentul set de date.

5. Rezultate

Categoria AMH ridicat comparativ cu categoria AMH non-ridicat

Atât în protocolul lung cu agonist, cât și în protocolul cu antagonist, femeile din categoria AMH ridicată s-au caracterizat prin vârstă mai mică, lungime mai mare a ciclului menstrual, AFC mai mare, FSH mai scăzut și volum ovarian mai mare la începutul stimulării decât femeile din categoria cu AMH non-ridicat. ($p \leq 0,003$ pentru fiecare variabilă). Aceste caracteristici sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Datele demografice și inițiale, la sfârșitul stimulării, ovocite și embrioni ale femeilor grupate după concentrația de AMH la începutul stimulării (quartilele 1-3 versus quartila 4).

	Protocol lung cu agonist al GnRH			Protocol cu antagonist al GnRH		
	AMH Q1-Q3	AMH Q4		AMH Q1-Q3	AMH Q4	
	\leq percentila 75 ($\leq 5,2$ ng/ml)	$>$ percentila 75 ($> 5,2$ ng/ml)	p	\leq percentila 75 ($\leq 5,2$ ng/ml)	$>$ percentila 75 ($> 5,2$ ng/ml)	p
Variabil	($n = 468$)	($n = 155$)	Valoare*	($n = 561$)	($n = 188$)	Valoare*
Caracteristici clinice						
Vârsta (ani)	31 (29, 34)	30 (28, 32)	$<0,001$	31 (29, 33)	30 (28, 32)	$<0,001$
IMC (kg/m^2)	21,9 (20,3, 24,0)	21,3 (20,1, 23,5)	0,113	21,9 (20,3, 23,8)	21,8 (20,5, 23,5)	0,868
Durata ciclu (zile)	28 (28, 29)	29 (28, 30)	$<0,001$	28 (28, 29)	29 (28, 30)	$<0,001$
Primul ciclu	327 (70%)	104 (67%)	0,517	427 (76%)	134 (71%)	0,186

	Protocol lung cu agonist al GnRH			Protocol cu antagonist al GnRH		
	AMH Q1-Q3	AMH Q4		AMH Q1-Q3	AMH Q4	
	≤ percentila 75 (≤5,2 ng/ml)	> percentila 75 (>5,2 ng/ml)	<i>p</i>	≤ percentila 75 (≤5,2 ng/ml)	> percentila 75 (>5,2 ng/ml)	<i>p</i>
Variabil	(<i>n</i> = 468)	(<i>n</i> = 155)	Valoare*	(<i>n</i> = 561)	(<i>n</i> = 188)	Valoare*
Caracteristici clinice						
de tratament, (%) <i>n</i>						
Ziua 1 (înainte de stimulare)						
Volum ovarian (ml)	8,5 (6,0, 11,8)	10,4 (7,7, 14,3)	<0,001	10,6 (8,0, 14,2)	13,2 (9,6, 16,8)	<0,001
AFC (<i>n</i>)	10 (7, 14)	11 (8, 18)	<0,001	14 (11, 17)	18 (15, 22)	<0,001

	Protocol lung cu agonist al GnRH			Protocol cu antagonist al GnRH		
	AMH Q1-Q3	AMH Q4		AMH Q1-Q3	AMH Q4	
	≤ percentila 75 (≤5,2 ng/ml)	> percentila 75 (>5,2 ng/ml)	<i>p</i>	≤ percentila 75 (≤5,2 ng/ml)	> percentila 75 (>5,2 ng/ml)	<i>p</i>
Variabilă	(<i>n</i> = 468)	(<i>n</i> = 155)	Valoare*	(<i>n</i> = 561)	(<i>n</i> = 188)	Valoare*
AMH (ng/ml)	3.0 (2.1, 4.0)	7.0 (5.8, 8.5)	<0,001	2.4 (1.4, 3.6)	6.9 (6.0, 8.7)	<0,001
FSH (IU/l)	3.8 (3.0, 4.9)	3.4 (2.7, 4.4)	0,003	7.2 (6.2, 8.5)	6.5 (5.7, 7.6)	<0,001
Sfârșitul stimulării						
Estradiol (nmol/l)	5,5 (4,0, 7,3)	8,5 (6,2, 13,0)	<0,001	5,7 (4,1, 8,2)	8,7 (6,3, 13,3)	<0,001
Progesteron (nmol/l)	2,6 (2,0, 3,4)	3,2 (2,4, 3,9)	<0,001	2,5 (1,9, 3,2)	2,9 (2,1, 3,8)	<0,001
Raport progesteron/estradiol	0,46 (0,35, 0,63)	0,36 (0,24, 0,49)	<0,001	0,42 (0,30, 0,60)	0,32 (0,21, 0,44)	<0,001
Foliculi ≥12 mm (<i>n</i>)	10 (8, 13)	15 (12, 19)	<0,001	10 (7, 13)	15 (11, 18)	<0,001
Grosime endometru (mm)	11 (9, 12)	11 (10, 12)	0,079	10 (9, 12)	11 (10, 12)	0,039
Model de ecogenitate endometrială (hipo, izo, hiper) (%)	39,49, 13	34, 51, 15	0,544	40,51,9	36, 54, 10	0,668
Anulare ciclu pentru hiper-răspuns ovarian, <i>n</i> (%)	2 (<1%)	7 (5%)	0,001	1 (<1%)	1 (<1%)	0,439
SHSO precoce (moderat/sever), <i>n</i> (%)	1 (<1%)	7 (5%)	<0,001	4 (<1%)	8 (4%)	0,003
Intervenție pentru hiper-răspuns ovarian, <i>n</i> (%)	2 (<1%)	11 (7%)	<0,001	16 (3%)	19 (10%)	<0,001

Recuperare ovocite						
Femei cu recuperare ovocite, <i>n</i> (%)	446 (95%)	145 (94%)	0,392	537 (96%)	185 (98%)	0,088
Ovocite recuperate (<i>n</i>)	9 (6, 12)	14 (10, 18)	<0,001	8 (5, 11)	12 (9, 17)	<0,001
Femei cu ≥ 15 ovocite recuperate, <i>n</i> (%)	76 (16%)	65 (42%)	<0,001	63 (11%)	76 (40%)	<0,001
Date despre fertilizare și embrioni						
Rata de fertilizare (%)	60 (33, 75)	52 (29, 70)	0,091	60 (43, 75)	58 (42, 71)	0,193

	Protocol lung cu agonist al GnRH			Protocol cu antagonist al GnRH		
	AMH Q1-Q3	AMH Q4		AMH Q1-Q3	AMH Q4	
	\leq percentila 75 ($\leq 5,2$ ng/ml)	$>$ percentila 75 ($> 5,2$ ng/ml)	<i>p</i>	\leq percentila 75 ($\leq 5,2$ ng/ml)	$>$ percentila 75 ($> 5,2$ ng/ml)	<i>p</i>
Variabilă	(<i>n</i> = 468)	(<i>n</i> = 155)	Valoare*	(<i>n</i> = 561)	(<i>n</i> = 188)	Valoare*
Embrioni, ziua 3 (<i>n</i>)	2 (1, 5)	3 (2, 6)	0,029			
Femei cu embrion(i) de calitate superioară, ziua 3, <i>n</i> (%)†	199 (45%)	73 (50%)	0,229			
Blastociști, ziua 5 (<i>n</i>)				2 (1, 4)	3 (1,6)	<0,001
Femei cu blastocist(ști) de bună calitate, ziua 5, <i>n</i> (%)‡				266 (50%)	106 (57%)	0,068
Femei cu transfer, <i>n</i> (%)	397 (89%)	122 (84%)	0,119	462 (86%)	159 (86%)	0,976
<p>Valorile sunt mediane (IQR) dacă nu se indică altfel.</p> <p>* Test Wilcoxon (date continue); Test Chi-Square sau test Fisher exact (date pe categorii). †Embrionii de calitate superioară au fost definiți ca 4-5 celule în ziua 2, ≥ 7 celule în ziua 3, blastomeri de dimensiuni egale și fragmentare $\leq 20\%$ în ziua 3 și fără multinucleție.</p> <p>‡Blastociștii de bună calitate au fost definiți ca blastociști cu un scor de expansiune și ecloziune ≥ 4 și cu masă celulară internă și grad de trofocoderm de A sau B, folosind definițiile descrise de Gardner & Schoolcraft, In-vitro culture of human blastocysts, In "TOWARDS REPRODUCTIVE CERTAINTY: FERTILITY AND GENETICS BEYOND 1998, Jansen & Mortimer, ed. (The Parthenon Publishing Group, New York 1999), pg. 378-88.</p> <p>Printre femeile cu ovocite recuperate.</p>						

5 Analiza retrospectivă a relevat faptul că, independent de protocolul utilizat, femeile cu AMH ridicat au prezentat semnificativ ($p < 0,001$ pentru fiecare variabilă) niveluri serice mai ridicate de estradiol și progesteron, precum și un număr crescut de foliculi în creștere ≥ 12 mm la sfârșitul stimulării. În plus, femeile cu AMH mare au avut semnificativ ($p \leq 0,003$ pentru fiecare variabilă) mai multe ovocite extrase, apariția crescută a răspunsului ridicat, frecvența mai mare a SHSO precoce și intervenții pentru hiper-răspuns. În protocolul lung cu agonist, anularea ciclului din cauza hiper-răspunsului ovarian a apărut mai frecvent în rândul femeilor din categoria AMH ridicată ($p = 0,001$). La sfârșitul stimulării, nu s-au observat diferențe relevante clinic în grosimea endometrului sau modelele de ecogenitate între cele două categorii de AMH. Semnificativ mai mulți embrioni în ziua 3 (protocol lung cu agonist: $p = 0,029$)

10

sau blastocistii în ziua 5 (protocol cu antagonist: $p < 0,001$) au fost disponibili la femeile cu AMH ridicat, dar proporția de femei cu embrioni de calitate superioară sau blastocist(ști) de bună calitate a fost similară în cele două categorii de AMH.

6. Stimularea HP-hMG versus rFSH în Categoria AMH Ridicat

5 În cadrul fiecărui protocol, nu au existat diferențe relevante din punct de vedere clinic între cele două grupuri de tratament cu gonadotropină din categoria AMH ridicat în ceea ce privește demografia, istoricul de fertilitate și markerii rezervei ovariene, așa cum se arată în Tabelul 2 de mai jos. IMC a fost semnificativ mai mic la femeile tratate cu rFSH, dar nu s-a considerat a fi de relevanță clinică. (Cu toate acestea, este posibil ca un IMC mai mare să reducă răspunsul ovarian.) La sfârșitul stimulării, niveluri
10 mai mari de estradiol ($p = 0,012$) și niveluri mai scăzute de progesteron ($p < 0,001$) au fost observate cu HP-hMG în protocolul cu antagonist și respectiv protocolul lung cu agonist.

Tabelul 2. Comparația caracteristicilor liniei de bază, la sfârșitul stimulării, ale ovocitelor și embrionului între femeile tratate cu HP-hMG și rFSH, cu potențial de a fi cu răspuns ridicat la un AMH ridicat la începutul stimulării.

	Protocol lung cu agonist al GnRH			Protocol cu antagonist al GnRH		
	AMH Q4: > percentila 75 (>5,2 ng/ml)			AMH Q4: > percentila 75 (>5,2 ng/ml)		
	HP-hMG	rFSH	<i>p</i>	HP-hMG	rFSH	<i>p</i>
Variabil	(<i>n</i> = 76)	(<i>n</i> = 79)	Valoare*	(<i>n</i> = 87)	(<i>n</i> = 101)	Valoare*
Caracteristici clinice						
Vârsta (ani)	30 (28, 32)	30 (28, 32)	0,743	30 (28, 33)	30 (28, 31)	0,039
IMC (kg/m ²)	22.5 (20.7,23.8)	20.8 (19.8,22.8)	0,002	22.1 (21.0,23.9)	21.6 (20.1,23.0)	0,022
Durata ciclu (zile)	29 (28, 30)	29 (28, 30)	0,682	29 (28, 30)	29 (28, 31)	0,382
Primul ciclu de tratament, <i>n</i> (%)	52 (68%)	52 (66%)	0,731	57 (66%)	77 (76%)	0,105
Ziua 1 (înainte de începere stimulare)						
Volum ovarian (ml)	10,3 (7,9, 13,9)	10,5 (7,7, 14,8)	0,807	13,4 (9,1, 17,0)	13,0 (9,9, 16,7)	0,885
AFC (<i>n</i>)	12 (8, 20)	11 (8, 16)	0,486	18 (15,22)	18 (15,22)	0,934
AMH (ng/ml)	7,0 (5,9, 8,5)	7,0 (5,7, 8,4)	0,912	7,1 (6,2, 8,7)	6,8 (6,0, 8,3)	0,347
FSH (IU/l)	3,2 (2,6, 4,4)	3,6 (2,8, 4,4)	0,257	6,7 (5,6, 7,7)	6,4 (5,7, 7,5)	0,251

15

Sfârșitul stimulării						
Estradiol (nmol/l)	8,7 (6,4, 13,0)	8,4 (6,1, 12,8)	0,736	9,7 (6,8, 14,8)	7,8 (5,5, 12,4)	0,012
Progesteron (nmol/l)	2,7 (1,9, 3,6)	3,6 (2,8, 4,5)	<0,001	2,8 (2,1, 3,9)	3,0 (2,1, 3,8)	0,857
Raport progesteron/estradiol	0,31 (0,21, 0,42)	0,43 (0,30, 0,52)	<0,001	0,26 (0,20, 0,41)	0,34 (0,24, 0,47)	0,011
Foliculi ≥12 mm (<i>n</i>)	15 (12, 18)	16 (13, 19)	0,274	14 (11, 18)	16 (12, 19)	0,064
Grosime endometru (mm)	11(10,12)	11(10,12)	0,522	11 (10, 12)	11 (10, 12)	0,478

Sfârșitul stimulării						
Model de ecogenitate endometrială (hipo, izo, hiper) (%)	44,43, 13	24, 60, 17	0,033	31, 58, 11	41, 50, 9	0,386
Anularea ciclului pentru hiper-răspunsul ovarian, n (%)	3 (4%)	4 (5%)	1,000	0 (0%)	1 (<1%)	-
	Protocol lung cu agonist al GnRH			Protocol cu antagonist al GnRH		
	AMH Q4: > percentila 75 (>5,2 ng/ml)			AMH Q4: > percentila 75 (>5,2 ng/ml)		
	HP-hMG	rFSH	p	HP-hMG	rFSH	p
Variabil	(n = 76)	(n = 79)	Valoare*	(n = 87)	(n = 101)	Valoare*
SHSO precoce (moderat/sever), n (%)	3 (4%)	4 (5%)	1,000	3 (3%)	5 (5%)	0,727
Intervenție pentru hiper-răspuns ovarian, n (%)	5 (7%)	6 (8%)	1,000	7 (8%)	12 (12%)	0,470

Recuperare ovocite						
Femei cu recuperare ovocite, n (%)	72 (95%)	73 (92%)	0,555	85 (98%)	100 (99%)	0,475
Ovocite recuperate (n)	12 (9, 16)	15 (11,20)	0,007	12 (8, 15)	14 (10, 19)	0,033
Femeile cu ≥ 15 ovocite extrase, n (%)	25 (33%)	40 (51%)	0,025	27 (31%)	49 (49%)	0,015
Date despre fertilizare și embrioni						
Rata de fertilizare (%)	50 (27, 73)	56 (35, 69)	0,826	57 (43, 69)	60 (41, 73)	0,663
Embrioni în ziua 3 (n)	3 (2, 6)	4 (2, 6)	0,806			
Femei cu embrion(i) de calitate superioară în ziua 3, n (%)†	38 (53%)	35 (48%)	0,561			
Blastociști în ziua 5 (n)				3 (1,6)	3 (1, 6)	0,969
Femeile cu blastocist(ști) de bună calitate în ziua 5, n (%)‡				55 (65%)	51 (51%)	0,060
Femei cu transfer, n (%)	61 (85%)	61 (84%)	0,848	72 (85%)	87 (87%)	0,655

Valorile sunt mediane (IQR) dacă nu se indică altfel.

* Testul Wilcoxon (date continue); Testul Chi-Square sau testul Fisher exact (date pe categorii).

†Embrionii de calitate superioară au fost definiți ca 4-5 celule în ziua 2, ≥7 celule în ziua 3, blastomeri de dimensiuni egale și fragmentare ≤20% în ziua 3 și fără multinucleație.

‡Blastociștii de bună calitate au fost definiți ca blastociști cu un scor de expansiune și ecloziune ≥4 și cu masă celulară internă și grad de trofoderm de A sau B, folosind definițiile descrise de Gardner & Schoolcraft, *supra*.

Printre femeile cu ovocite extrase.

- 5 Analiza retrospectivă a evidențiat că HP-hMG a fost asociat cu un număr mediu mai mic de ovocite extrase la femeile cu AMH ridicat, în comparație cu rFSH (protocol lung cu agonist: -3 ovocite, $p = 0,007$; protocol cu antagonist: -2 ovocite, $p = 0,033$). În ambele protocoale, procentul de femei cu un răspuns ovarian ridicat a fost semnificativ mai mic pentru HP-hMG comparativ cu rFSH (protocol cu

agonist lung: 33% față de 51%, $p = 0,025$; protocol cu antagonist: 31% față de 49%, $p = 0,015$) (a se vedea Figura 1A). Prin urmare, riscul de răspuns ridicat a fost redus cu HP-hMG cu 35 și, respectiv, 37%. Nu au existat diferențe aparente între cele două grupuri de gonadotropine în ceea ce privește anulările ciclului din cauza răspunsului excesiv, SHSO precoce moderat/sever sau intervenții pentru răspuns excesiv în oricare dintre protocoale.

În cadrul fiecărui protocol, rata de fertilizare, numărul de embrioni/blastocști disponibili pentru transfer, femeile cu embrion(i) de calitate superioară/blastocist(ști) de bună calitate și procentele de femei cu transfer au fost similare între grupurile HP-hMG și rFSH în categoria AMH înalt. Cu toate acestea, în ambele protocoale o tendință statistică ($p \leq 0,10$) pentru rata îmbunătățită a nașterilor vii pe ciclu la început a fost observată pentru HP-hMG comparativ cu rFSH (a se vedea Figura 1B). Când a fost limitată la femeile cu transfer de embrioni, diferența în rata nașterilor vii dintre HP-hMG și rFSH a fost semnificativă statistic ($p = 0,043$) în protocolul cu antagonist.

Când au fost integrate datele femeilor cu AMH ridicat din ambele protocoale, tratamentul cu HP-hMG a fost asociat cu o incidență semnificativ mai mică a răspunsului ridicat (32% (52/163) față de 49% (89/180), $p < 0,001$) și creșterea ratei nașterilor vii pe ciclu la început 34% (55/163) față de 22% (39/180), $p = 0,012$), precum și pe ciclu de transfer embrionar (41% (55/133) față de 26% (39/148), $p = 0,008$) comparativ cu tratamentul cu rFSH. Analiza de regresie logistică (Tabelul 3 de mai jos) a indicat faptul că tipul de protocol GnRH nu a explicat diferența dintre ratele de nașteri vii dintre HP-hMG și rFSH, deoarece a rămas semnificativ ($p = 0,012$) în analiza ajustată. Probabilitatea unei nașteri vii a crescut semnificativ odată cu disponibilitatea unui embrion de calitate superioară/blastocist de bună calitate pentru transfer ($p < 0,001$), în timp ce un nivel crescut de progesteron ($p = 0,042$) și creșterea raportului progesteron/estradiol ($p = 0,042$) la sfârșitul stimulării a scăzut semnificativ probabilitatea de nașteri vii (Tabelul 3 de mai jos). Cu toate acestea, în toate analizele ajustate, diferența dintre cele două preparate de gonadotropină a rămas semnificativă ($p < 0,05$) indicând faptul că rata mai mare a nașterilor vii la femeile cu AMH ridicat și stimulate cu HP-hMG nu a putut fi atribuită diferențelor dintre variabilele de bază și de sfârșit de stimulare examinate.

Tabelul 3. Analiza de regresie logistică a ratei de nașteri vii cu ajustarea caracteristicilor liniei de bază sau variabilele de sfârșit de stimulare.

	Populația generală de potențiale cu răspunsuri ridicate ($n = 343$)	
Variabile	OR [95% CI]	Valoare P ^a
Ajustarea tipului de protocol de stimulare		
Protocol cu antagonist vs. protocol lung cu agonist	1,11 [0,69; 1,80]	0,666
HP-hMG vs. rFSH	1,85 [1,14; 2,99]	0,012
Ajustare în funcție de vârstă		
Vârsta (ani)	1,00 [0,92; 1,09]	0,975
HP-hMG vs. rFSH	1,84 [1,14; 2,98]	0,013
Ajustare pentru IMC		
IMC (kg/m ²)	1,03 [0,92; 1,15]	0,579
HP-hMG vs. rFSH	1,79 [1,10; 2,92]	0,020
Ajustare pentru lungimea ciclului menstrual		
Durata ciclu (zile)	1,05 [0,92; 1,19]	0,500
HP-hMG vs. rFSH	1,84 [1,14; 2,98]	0,013
Ajustare pentru primul ciclu de tratament		
Primul ciclu de tratament	1,09 [0,65; 1,85]	0,737
HP-hMG vs. rFSH	1,85 [1,14; 2,99]	0,012
Ajustare pentru numărul total de foliculi în ziua 1 de stimulare		
Numărul total de foliculi	0,99 [0,96; 1,02]	0,435
HP-hMG vs. rFSH	1,89 [1,16; 3,07]	0,010
Ajustare pentru FSH în ziua 1 de stimulare		

	Populația generală de potențiale cu răspunsuri ridicate ($n = 343$)	
Variabile	OR [95% CI]	Valoare P ^a
FSH (IU/l)	1,10 [1,00; 1,21]	0,060
HP-hMG vs. rFSH	1,89 [1,16; 3,06]	0,010
Ajustare pentru estradiol la sfârșitul stimulării		
Estradiol (nmol/l)	0,99 [0,96; 1,03]	0,716
HP-hMG vs. rFSH	1,85 [1,14; 3,01]	0,013
Ajustare pentru progesteron la sfârșitul stimulării		
Progesteron (nmol/l)	0,84 [0,71; 0,99]	0,042
HP-hMG vs. rFSH	1,76 [1,08; 2,87]	0,024
Ajustare pentru progesteron/estradiol la sfârșitul stimulării		
Progesteron/estradiol	0,26 [0,07; 0,95]	0,042
HP-hMG vs. rFSH	1,68 [1,02; 2,75]	0,040
Ajustare pentru numărul de foliculi ≥ 12 mm la sfârșitul stimulării		
Foliculi ≥ 12 mm	1,05 [0,99; 1,10]	0,094
HP-hMG vs. rFSH	1,93 [1,18; 3,16]	0,008
Reglarea grosimii endometriale la sfârșitul stimulării		
Grosime endometru (mm)	0,97 [0,85; 1,10]	0,653
HP-hMG vs. rFSH	1,84 [1,13; 2,99]	0,014
Ajustare pentru numărul de ovocite extrase		
Număr de ovocite extrase	1,00 [0,96; 1,04]	0,973
HP-hMG vs. rFSH	1,85 [1,13; 3,02]	0,014
Ajustare pentru embrion(i) de calitate superioară/blastocist(i) de bună calitate în ziua		
≥ 1 embrion de calitate superioară/blastocist de bună calitate	2,61 [1,48; 4,61]	<0,001
HP-hMG vs. rFSH	1,80 [1,08; 3,00]	0,025
OR = raport diferență; CI = intervalul de încredere Wald ^a Test Wald cu două căi de OR = 1 (fără efect).		

Aceste rezultate arată că prevalența pacienților cu un răspuns ovarian ridicat (adică ≥ 15 ovocite extrase) a fost de aproximativ trei ori mai mare la femeile cu AMH crescută ($\geq 5,2$ ng/ml) decât la femeile din categoria AMH non-ridicată atât Protocol lung cu agonist al GnRH și cu antagonist al GnRH. Deși femeile cu AMH mare au prezentat hiper-răspuns ovarian atât în protocoalele cu antagonist, cât și în protocolul lung cu agonist, stimularea ovariană cu HP-hMG a fost asociată cu o rată de răspuns ridicat substanțial mai mică decât stimularea cu rFSH. Prin urmare, riscul de a dezvolta un răspuns ridicat în cazul în care este prezis un răspuns excesiv poate fi redus cu aproximativ o treime prin utilizarea HP-hMG în loc de FSH pentru stimularea ovariană controlată, chiar și în protocolul antagonist GnRH.

Fără a fi legat de nicio teorie, este posibil ca răspunsul ovarian mai moderat cu HP-hMG și, în consecință, riscul redus de hiper-răspuns cu HP-hMG în comparație cu rFSH, să fie atribuite cel puțin parțial izoformei diferite de FSH. profilurile HP-hMG și rFSH, care pot influența biopotența *in vivo* la om și, prin urmare, rata răspunsului ovarian ridicat în rândul potențialilor cu răspuns ridicat. Alți factori care contribuie pot fi activitatea LH furnizată de HP-hMG care nu este prezentă în rFSH și profilul izoformei FSH post-menopauză găsit în activitatea FSH a HP-hMG.

Analizele de regresie logistică în populația generală nu au identificat nicio variabilă(variabile) specifică care să explice diferitele rate ale nașterilor vii între stimularea HP-hMG și rFSH, dar au indicat

că nivelurile de progesteron și raporturile progesteron/estradiol la sfârșitul stimulării și disponibilitatea de embrioni de calitate superioară/blastociști de bună calitate (așa cum au fost evaluați morfologic; aneuploidia nu a fost evaluată) au influențat ratele de nașteri vii.

Solicitanții au constatat faptul că evaluarea vizuală a ovocitului/embrionului în ziua a treia după extragere [vezi de exemplu Ziebe și colab., Human Reproduction 22(9) 2404-13 (2007)] nu furnizează nicio indicație de aneuploidie. Într-adevăr, solicitanții au constatat faptul că nu este neobișnuit ca ovocitul/embrionul "cel mai bine aspectat" (pe baza evaluării vizuale din ziua a treia) să fie considerat aneuploid (în urma analizei cromozomiale/screeningului genetic) și să conducă la un rezultat nereușit. Prin urmare, este nevoie de o tehnică care să mărească probabilitatea dezvoltării blastociștilor euploide (scade proporția/procentul de blastociști aneuploide), astfel încât să reducă accentul pus pe evaluarea vizuală a ovocitului/embrionului.

O analiză suplimentară a rezultatelor a sugerat inventatorilor faptul că utilizarea HP-hMG pentru stimularea controlată a ovarelor are un efect direct asupra îmbunătățirii calității ovocitelor și poate reduce rata aneuploidiei și indică faptul că progesteronul, raportul progesteron/estradiol și calitatea embrionului joacă un rol în rezultatul tratamentului la pacienții cu risc de hiper-răspuns pe baza nivelurilor serice ridicate de AMH.

Exemplul 2 - Studiu Clinic Prospectiv

Un studiu clinic de fază IV randomizat, evaluator-orb care compară HP-hMG și rFSH într-un ciclu de antagonist al GnRH cu transferul obligatoriu de un singur blastocist într-o populație de subiecți cu răspuns ridicat este planificat pentru Statele Unite. Scopul acestui studiu este de a demonstra faptul că HP-hMG este cel puțin non-inferior rFSH în ceea ce privește rata sarcinii în curs (OPR) la potențialele înalt respondente care urmează tratament FIV/ICSI. Subiecții vor fi clasificați prospectiv ca potențiali cu răspuns ovarian ridicat pe baza unui nivel seric de AMH $\geq 5,0$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2$ ng/ml) prin testul Beckmann-Coulter Gen 2 așa cum este descris în Arce și colab., Fertility and Sterility 99: 1644-53 (2013), folosind un singur laborator de referință (ReproSource, Inc., Woburn, MA) utilizând materiale și reactivi din testul Beckman Coulter-DSL (Chaska, MN).

Studiul multicentric de fază IV, randomizat, deschis, evaluator-orb, grup paralel, va fi efectuat la aproximativ 25-30 de centre de infertilitate din Statele Unite. Aproximativ 600 de femei vor fi înscrise. Subiecții trebuie să aibă între 21 și 36 de ani, cu cicluri menstruale ovulatorii regulate de 21 până la 35 de zile, chiar și până la 45 de zile (21 până la 45 de zile), cu un indice de masă corporală (IMC) între 18 și 32 kg/m², sau 18 și 30 kg/m², infertilitate inexplicabilă sau ușoară a factorului masculin pentru o perioadă de ≥ 1 an, eligibilă pentru ICSI conform investigatorului și AMH $\geq 5,0$ ng/ml (de exemplu, $\geq 5,2$ ng/ml). Criteriile suplimentare de includere pot fi având un AFC ≥ 10 , ≥ 15 , ≥ 18 sau ≥ 20 în ambele ovare combinate. Criteriile cheie de excludere includ endometrioza stadiul I-IV, infertilitatea severă a factorilor masculini, sindromul ovarului polichistic (PCOS) și răspunsul anterior slab la un ciclu COS. Criteriile suplimentare de excludere pot fi un AFC < 8 sau < 10 în ambele ovare combinate.

Protocolul de bază este schițat în Figura 2. Opțional, pilulele contraceptive orale combinate (COCP) începute în ciclul menstrual anterior vor fi continuate pentru maximum 21 de zile. Subiecții vor fi randomizați 1:1 pentru a suferi COS fie cu HP-hMG, fie cu rFSH într-un ciclu de antagonist al GnRH. După întreruperea COCP, gonadotropinele (fie HP-hMG, fie rFSH) vor fi începute în a 3^a zi a sângerării de întrerupere, dar nu mai devreme de a 5^a zi după întreruperea COCP. Doza de gonadotropină va fi inițiată la 150 UI în primele 5 zile. Începând cu Ziua 6 de stimulare, pe baza răspunsului folicular evaluat de TVUS, doza poate fi ajustată în fiecare zi, după cum este necesar, cu 75 UI per ajustare. Cu toate acestea, doza maximă de gonadotropină va fi de 300 UI/zi; Doza de gonadotropină poate continua timp de maximum 20 de zile. Dozarea sub limită este interzisă.

Când foliculul principal este > 14 mm în diametru, antagonistul GnRH (acetat de ganirelix) va fi inițiat la o doză zilnică de 0,25 mg și va fi continuat pe toată perioada de tratament cu gonadotropină. Se va administra o singură injecție de 250 μ g hCG (coriogonadotropină alfa) pentru a induce maturarea foliculară finală, de îndată ce 3 foliculi cu diametrul ≥ 17 mm sunt observați pe TVUS. Dacă un subiect are > 25 de foliculi, acesta va primi un declanșator agonist al GnRH și toți blastociștii rezultați vor fi vitrificați după biopsia trofoectodermului, fără transfer de embrioni proaspăt pentru a scădea riscul de SHSO.

Recuperarea ovocitelor va avea loc la aproximativ 36 de ore după administrarea hCG. Ovocitele vor fi inseminate folosind spermatozoizi partener prin ICSI la 4 ± 1 ore după extragere. Calitatea ovocitului, embrionului și blastocistului va fi evaluată zilnic timp de 5 zile după extragerea ovocitelor. În ziua 5 după ICSI, va fi transferat un singur blastocist de cea mai bună calitate disponibilă; toți blastociștii rămași vor fi înghețați folosind metoda de vitrificare.

Biopsia trofoectodermului (TE) pentru screening genetic pre-implantare (PGS), opțional cu tehnologie de secvențiere de generație următoare (NGS), se va efectua cu laser în Ziua 5 sau Ziua 6 de

blastocist expandat, dar rezultatele nu vor fi utilizate pentru a determina selecția unui blastocist. pentru transfer proaspăt.

A doua zi după extragerea ovocitelor, se introduce progesteron vaginal (100 mg de două ori pe zi - Endometrin[®]; Ferring) va fi inițiat pentru susținerea fazei luteale și va continua până în ziua testului β -hCG (10 până la 15 zile după transferul blastocist/embrion). Suportul luteal poate fi continuat până la confirmarea sarcinii în curs.

Sarcina biochimică va fi confirmată de un β -hCG pozitiv la aproximativ 2 săptămâni după transferul de blastocist. Sarcina clinică va fi confirmată de TVUS indicând cel puțin un sac gestațional intrauterin cu băți ale inimii fetale la 5 până la 6 săptămâni de gestație. Sarcina în curs va fi confirmată de cel puțin un făt intrauterin viabil la 10 până la 11 săptămâni de gestație.

Pentru subiecții fără sarcină în curs de desfășurare în ciclul proaspăt, transferurile unice de blastocist congelat pot fi inițiate în decurs de 1 an de la începerea tratamentului fiecărui subiect. Rezultatele PGS vor fi utilizate pentru a selecta blastocistii euploizi pentru transferul congelat. Se vor colecta date ciclului de înlocuire a embrionului congelat-decongelat, inclusiv informații despre transferul de blastocist, testul β -hCG, sarcina clinică și sarcina în curs

Urmărirea post-test va include colectarea de informații despre nașteri (născuți-vii și sănătatea neonatală), care vor fi colectate pentru toți subiecții cu o sarcină în curs în ciclul proaspăt sau ciclurile de înlocuire a embrionilor congelați-dezghețați de 1 an post-randomizare. Rata de nașteri vii după ciclul proaspăt și rata cumulativă de nașteri vii după ciclurile de înlocuire a embrionului proaspăt și de 1 an post-randomizare congelați-dezghețați vor fi evaluate ca parte a urmăririi post-test.

HP-hMG utilizat va fi Menopur, furnizat sub formă de flacon cu pulbere (75 UI activitate FSH și 75 UI activitate LH) și 2 seringi pre-umplute cu solvent (fiecare conținând 1,1 ml). După reconstituire, fiecare flacon eliberează 75 UI de activitate FSH și 75 UI de activitate LH.

FSH utilizat va fi FSH recombinant (GONAL-F), furnizat sub formă de stilou injector și cartușe umplute cu 300, 450 sau 900 UI activitate FSH /1,08 ml soluție injectabilă.

Celelalte medicamente utilizate vor fi:

- Ganirelix acetat injectabil, produs de Merck, furnizat sub formă de seringă pre-umplută (0,5 ml) care eliberează 0,25 mg ganirelix. O doză zilnică de 0,25 mg va fi continuată pe toată perioada de tratament cu gonadotropină.

- Ovidrel (coriogonadotropină alfa), produs de EMD Serono, furnizat sub formă de seringă pre-umplută (0,5 ml) care eliberează 250 μ g coriogonadotropină alfa, care urmează să fie administrat ca o singură injecție, de îndată ce 3 foliculi cu diametrul ≥ 17 mm sunt observați pe TVUS.

- Endometrinul (progesteronul), fabricat de Ferring, va fi furnizat sub formă de capsule pentru a fi administrat vaginal de 2 ori pe zi, fiecare eliberând 100 mg de progesteron (200 mg/zi).

Obiectivul principal este rata sarcinii în curs, definită ca prezența a cel puțin unei sarcini intrauterine cu un făt viabil cu băți ale inimii fetale detectabile la 10-11 săptămâni de gestație. Obiectivele secundare includ:

- rata de sarcină biochimică (β -hCG pozitivă)
- rata clinică a sarcinii (ecografia transvaginală care arată cel puțin un sac gestațional intrauterin cu băți ale inimii fetale la 5-6 săptămâni de gestație)
 - Pierderea timpurie a sarcinii (definită ca 2 teste β -hCG pozitive, dar nicio sarcină în curs la 10-11 săptămâni de gestație în ciclul proaspăt.)
- rata natalității vii
- dezvoltarea foliculară, așa cum este evaluată de TVUS, nivelul foliculului (numărul total de foliculi, numărul de foliculi ≤ 9 mm, 10-11 mm, 12-14 mm, 15-16 mm și ≥ 17 mm) și nivelul subiectului (cea mai mare dimensiune a foliculului, medie dimensiunea foliculului, dimensiunea medie a 3 foliculi cei mai mari și numărul mediu de foliculi ≥ 17 mm, ≥ 15 mm și ≥ 12 mm).

- profil endocrin (estradiol seric [E2], progesteron [P4], hCG, LH)

- ovocite extrase, rata de fertilizare și calitatea embrionului

Numărul de ovocite extrase, numărul de ovocite în metafaza II și numărul de ovocite fertilizate normal (2PN) vor fi rezumate prin distribuția frecvenței și prin statistici descriptive pentru fiecare grup de tratament.

Stadiul de maturitate a ovocitelor va fi evaluat înainte de a fi supus ICSI. Stadiul de maturitate va fi clasificat ca veziculă germinală, metafaza I, metafaza II, degenerată sau altele.

Rata de fertilizare va fi exprimată ca procent pentru fiecare subiect și calculată ca de 100 de ori raportul dintre numărul de ovocite 2PN fertilizate și numărul de ovocite extrase.

Calitatea embrionilor la 3 zile după extragerea ovocitelor va fi evaluată prin stadiul de clivaj, uniformitatea blastomerului, dimensiunea celulei, gradul de fragmentare și semnele vizuale de multinucleare.

Calitatea blastociștilor la 5 zile după extragerea ovocitelor va fi evaluată prin expansiunea blastocistului și starea de ecloziune, gradarea masei celulare interioare a blastocistului și gradarea trofotodermului. Distribuțiile de frecvență vor fi furnizate pentru fiecare grup de tratament la nivel de blastocist. Blastocistul de cea mai bună calitate la 5 zile după extragerea ovocitelor la nivel de subiect va fi rezumat pentru blastociști de calitate excelentă și blastociști de bună calitate separat prin tratament folosind statistici descriptive.

• rata aneuploidiei

Rata aneuploidiei va fi exprimată ca procent pentru fiecare subiect și calculată ca de 100 de ori raportul dintre numărul de blastociști aneuploide și numărul total de blastociști. Numărul de blastociști aneuploide poate fi determinat, de exemplu prin metodele descrise mai sus (de exemplu, analiză cromozomală, cum ar fi PGS, CCS).

• evaluarea endometrului prin TVUS

Grosimea endometrului și modelul de ecogenitate vor fi rezumate prin distribuția frecvenței și prin statistici descriptive, după caz, pentru fiecare grup de tratament în ziua 6 de stimulare, ultima zi de stimulare și în momentul transferului blastocistului în ciclul proaspăt.

Testare Embrion și Blastocist.

Număr și Calitate Embrion în Ziua 3

Fiecare embrion va fi evaluat în ziua 3 post-inseminare. Evaluarea calității va consta în evaluarea stadiului de clivaj și a parametrilor morfologiei embrionului (uniformitatea blastomerului, dimensiunea celulei, gradul de fragmentare și semnele vizuale de multinucleație). Etapa de clivaj va fi definită de numărul de blastomeri.

Uniformitatea blastomerelor va fi clasificată ca blastomere de dimensiuni egale sau blastomere de dimensiuni inegale (cel mai mare blastomer >25% mai mare în diametru mediu comparativ cu cel mai mic blastomer).

Dimensiunea celulei va fi clasificată ca dimensiune a celulei specifice etapei sau dimensiunea celulei nu specifice etapei.

Gradul de fragmentare va fi clasificat ca 1 dintre următoarele: 0%, 1-10%, 11-20%, 21-25%, 26-30%, 31-50% sau >50% fragmentare sau total fragmentat (nu se recunosc blastomeri).

Semnul vizual de multinucleație va fi evaluat ca da sau nu.

Număr și Calitate Blastocist în Ziua 5

Starea Expansiunii și Eclozării Blastocistului, Gradarea în Masă a Celulelor Interioare ale Blastocistului și Gradarea Trofotoderm

Evaluarea calității blastociștilor în ziua 5 după extragerea ovocitelor va consta în evaluarea a 3 parametri: expansiunea blastocistului și starea de ecloziune, gradarea masei celulare interioare a blastocistului și gradarea trofotodermului. Scorul se bazează pe sistemul de clasificare al lui Gardner & Schoolcraft, 1999 [Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of human blastocysts. In: Towards reproductive certainty (Ed Jansen R & Mortimer D). The plenary proceedings of the 11th world congress on in vitro fertilization and human reproductive genetics. The Parthenon Publishing Group. 1999. 378-88.], cu adăugarea de categorii D pentru masa celulară internă și trofotoderm.

Expansiunea blastocistului și starea de ecloziune vor fi evaluate ca 1 dintre următoarele:

1: Un blastocist precoce, blastocelul fiind mai puțin de jumătate din volumul embrionului.

2: Un blastocist cu un blastocel al cărui volum este jumătate sau mai mare decât jumătate din cel al embrionului.

3: Un blastocist cu un blastocel care umple complet embrionul.

4: Un blastocist expandat cu un volum de blastocel mai mare decât cel al embrionului timpuriu, cu o zonă de subțiere.

5: Un blastocist eclozionat cu trofotodermul care începe să hernieze prin zonă.

6: Un blastocist eclozionat, în care blastocistul a scăpat complet din zonă.

Pentru blastociștii cu statutul de expansiune și ecloziune 3-6, se va evalua gradarea masei celulare interioare a blastocistului și gradarea trofotodermului.

Clasificarea masei celulare interioare a blastocistului va fi evaluată ca 1 dintre următoarele:

A: Strânse, multe celule.

B: Grupate vag, mai multe celule.

C: Foarte puține celule.

D: Masă celulară degenerativă sau fără masă celulară.

Clasificarea trofotodermului va fi evaluată ca 1 dintre următoarele:

- A: Multe celule formând un epiteliu coeziv.
- B: Puține celule care formează un epiteliu lax.
- C: Foarte puține, celule mari.
- D: Celule degenerative sau foarte mari.

5 Blastociștii cu starea de expansiune și ecloziune 3-6 vor avea un scor care combină cei 3 parametri (expansiunea blastocistului și starea de ecloziune, masa celulară internă și trofotodermul); de exemplu, 4AB pentru un blastocist cu expansiune de blastocist și stare de ecloziune 4, gradul de masă celulară internă A și gradul B de trofotoderm.

Calitate Generală Blastocist în Ziua 5

10 Calitatea generală a blastocistului în ziua 5 se bazează pe expansiunea blastocistului și starea de ecloziune, gradarea masei celulare interioare și gradarea trofotodermului.

Blastociștii de calitate excelentă sunt definiți ca fiind cei cu expansiune și stare de ecloziune a blastocistului 4, 5 sau 6, gradul de masă celulară internă A și gradul de trofotoderm A sau B. Numărul și procentul de blastociști de calitate excelentă în ziua 5 este un obiectiv secundar. Aceasta se va baza pe cel mai bun scor general de calitate al evaluărilor de după inseminare din Ziua 5.

15 Blastociștii de bună calitate sunt definiți ca fiind cei cu expansiune și eclozare a blastocistului 3, 4, 5 sau 6, gradul de masă celulară internă A sau B și trofotodermul gradul A sau B. Numărul și procentul de blastociști de bună calitate în ziua 5 se va baza pe cel mai bun scor general de calitate.

20 Se va calcula numărul și procentul de blastociști de calitate excelentă și blastociștii de bună calitate în ziua 5. Cel mai bun blastocist bazat pe morfologia Zilei 5 va fi transferat.

Evaluare Compactare în Morule

Vor fi evaluați și embrionii care nu au atins stadiul de blastocist în ziua 5, dar sunt morule. Morulele vor fi clasificate ca 1 dintre următoarele 3 opțiuni:

25 Compactat: compactare completă. Celule strâns compactate. Membranele celulare individuale nu mai sunt vizibile.

Compactare: stadiu incipient. Celulele pot fi distinse.

Compactare anormală: compactare regională sau parțială sau puține celule (<8) în compactare

Morulele din ziua 5 pot fi luate în considerare pentru cultura extinsă, conform standardului de îngrijire a investigatorului/locului.

30 Embrionii din ziua 6 pot fi apoi supuși biopsiei și vitrificării trofotodermului sau pot fi aruncați. Calitatea embrionilor din Ziua 6 trebuie evaluată și înregistrată pe eCRF într-un mod similar cu cel de mai sus.

Obiectivele post-test includ:

35 Rata cumulativă a nașterilor vii pentru transferul de blastociști proaspeți și congelați (definită ca proporție de subiecți cu cel puțin 1 naștere vie viabilă mai mare de 21 de săptămâni de gestație);

Rata de nașteri vii pentru transferul de blastocist proaspăt (definită ca proporție de subiecți cu cel puțin 1 naștere vie viabilă mai mare de 21 de săptămâni de gestație);

Rata de pierdere timpurie a sarcinii în transferul de blastocist congelat este definită ca 2 teste pozitive pentru β -hCG, dar nicio sarcină în curs la 10-11 săptămâni de gestație în ciclul congelat;

40 Rata de pierdere a sarcinii tardive (definită ca o sarcină confirmată în curs, dar nicio naștere vie viabilă mai mare de 21 de săptămâni de gestație); și Rata β -hCG pozitivă, rata de sarcină clinică și rata de sarcină în curs pentru transferurile de blastocist congelat.

Inventatorii de față consideră că acest studiu va arăta că stimularea femeilor cu risc de un răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată cu HP-hMG îmbunătățește calitatea embrionului, crește proporția de blastociști euploide, scade proporția de blastociști aneuploide, scade rata aneuploidei, crește ratele de sarcină în curs și/sau crește ratele de nașteri vii, în comparație cu metode comparabile care utilizează hormonul foliculostimulant recombinant (rFSH) cum este gonadotropină. De exemplu, inventatorii prezentei cereri de brevet de invenție consideră faptul că acest studiu va arăta că stimularea femeilor cu risc de un răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată cu HP-hMG are ca rezultat mai puține ovule, dar o proporție mai mare de blastociști euploide în comparație cu metodele comparabile care utilizează rFSH cum este gonadotropina. Mai mult, inventatorii prezentei cereri de brevet de invenție consideră că acest studiu va arăta faptul că stimularea femeilor cu risc de un răspuns ovarian ridicat la stimularea ovariană controlată cu HP-hMG are ca rezultat mai puține ovule, dar o rată mai mică de aneuploidie în comparație cu metodele comparabile care utilizează rFSH cum este gonadotropină.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- SAAD A AMER ET AL: "The influence of circulating anti-Müllerian hormone on ovarian responsiveness to ovulation induction with gonadotrophins in women with polycystic ovarian syndrome: a pilot study", REPRODUCTIVE BIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY, BIOMED CENTRAL LTD, GB, vol. 11, no. 1, 17 December 2013 (2013-12-17), page 115, XP021171351, ISSN: 1477-7827, DOI: 10.1186/1477-7827-11-115
- US-A- 4 725 579
- ARCE JOAN-CARLES ET AL: "Antimüllerian hormone in gonadotropin releasing-hormone antagonist cycles: prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good-prognosis patients", FERTILITY AND STERILITY, vol. 99, no. 6, 6 May 2013 (2013-05-06), page 1644, XP028591395, ISSN: 0015-0282, DOI: 10.1016/J.FERTNSTERT.2012.12.048
- US-A1- 2005 020 489
- S. ZIEBE ET AL: "Influence of ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH on embryo quality parameters in patients undergoing IVF", HUMAN REPRODUCTION, vol. 22, no. 9, 28 June 2007 (2007-06-28), pages 2404-2413, XP055208240, ISSN: 0268-1161, DOI: 10.1093/humrep/dem221
- US-A1- 2014 235 540
- DEVROEY PAUL ET AL: "A randomized assessor-blind trial comparing highly purified hMG and recombinant FSH in a GnRH antagonist cycle with compulsory single-blastocyst transfer", FERTILITY AND STERILITY, vol. 97, no. 3, 3 March 2012 (2012-03-03), pages 561-571, XP028902191, ISSN: 0015-0282, DOI: 10.1016/J.FERTNSTERT.2011.12.016
- ELLEN ANCKAERT ET AL: "The value of anti-Müllerian hormone measurement in the long GnRH agonist protocol: association with ovarian response and gonadotrophin-dose adjustments", HUMAN REPRODUCTION, OXFORD JOURNALS, GB, vol. 27, no. 6, 1 June 2012 (2012-06-01), pages 1829-1839, XP002686253, ISSN: 0268-1161, DOI: 10.1093/HUMREP/DES101 [retrieved on 2012-04-03]

(57) Revendicări:

1. Compoziție cuprinzând menotropină pentru utilizare în tratamentul infertilității la o pacientă pentru a promova astfel dezvoltarea de blastociști euploide pentru un transfer viitor de blastocist la o pacientă, tratamentul cuprinzând:

identificarea unei paciente având un nivel seric al hormonului anti-mullerian (AMH) $\geq 5,2 \pm 0,5$ ng/ml și un număr de foliculi antrali (AFC) ≥ 10 în ambele ovare combinate înainte de tratament/stimulare; și

administrarea unei doze de, sau a unei doze echivalente cu, 75 până la 300 UI hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

2. Compoziție pentru utilizare conform revendicării 1 în care tratamentul pentru promovarea dezvoltării blastociștilor euploide pentru un transfer viitor de blastocist crește proporția/procentul de blastociști euploide în comparație cu proporția/procentul de blastociști aneuploide și/sau reduce rata aneuploidiei.

3. Compoziție pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările precedente în care tratamentul mai cuprinde:

administrarea de hCG pentru a declanșa ovulația.

4. Compoziție pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările precedente în care menotropina este menotropină înalt purificată (HP-hMG).

5. Compoziție pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările precedente în care tratamentul cuprinde o etapă de administrare la o pacientă a unei doze de, sau o doză echivalentă cu, 75 până la 200 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

6. Compoziție pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările precedente în care tratamentul cuprinde o etapă de administrare la pacientă a unei doze de, sau echivalentă cu o doză de 150 UI HP-hMG pe zi, din ziua 1 până la cel puțin ziua 5 de tratament.

7. Compoziție pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările precedente, cuprinzând o etapă suplimentară de administrare a unui antagonist de GnRH în ziua a 6-a de tratament.

FIGURA 1

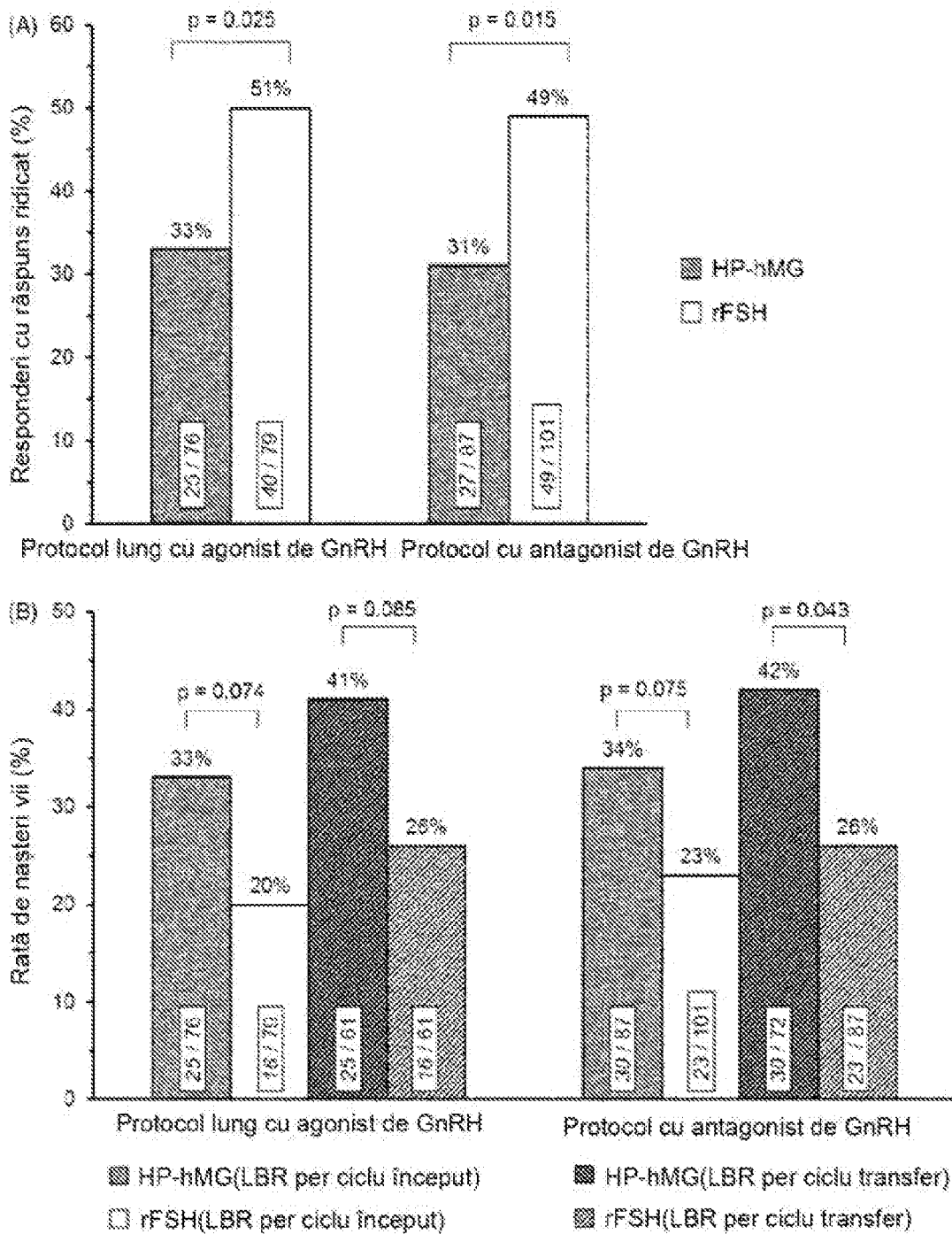


FIGURA 2

Harta de Flux a Modelului de Studiu

