

Resultados de la adición de un análogo de la GnRH (acetato de triptorelina) a la FSHr en la estimulación ovárica para ciclos de inseminación intrauterina en pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos.

Effects of the addition of GnRH agonist (triptoreline acetate) to rFSH over intrauterine insemination cycles in patients with polycystic ovary syndrome

Carrera J¹, Estrada LI², Rocas A³, Francisco E⁴, Sarquella J⁴.

¹Unitat Endocrinologia Ginecològica. ACM - Clínica de Vic. ² Servei Neurofisiologia. Hospital JOAN XXIII. ³ CTD - Unitat de Reproducció. Clínica Girona. ⁴ Laboratori Reproducció Humana, Clínica Girona.

Resumen

Objetivo: evaluar los efectos de la adición de un análogo de la GnRH (acetato de triptorelina) a la FSHr, en pacientes diagnosticadas de SOPQ bajo tratamiento inductor de ovulación para inseminación artificial.

Diseño: estudio clínico randomizado y prospectivo.

Ambito: Centro de Reproducción

Pacientes: 60 pacientes con diagnóstico SOPQ, esterilidad primaria y resistencia al tratamiento con clomifeno con criterios de inclusión para IUI.

Intervención: 30 pacientes recibieron tratamiento con triptorelina 0,1 mg/24 horas sc. a partir 21 días del ciclo (protocolo pauta larga) y a partir 3er día del ciclo 0,05 mg junto con 75 unidades de folitropina beta sc / 24 horas. 30 pacientes recibieron a partir del 3er día del ciclo folitropina beta 75 unidades sc. / 24 horas, como tratamiento único.

Parámetros analizados: dosis FSH, días de tratamiento, niveles estradiol, número de folículos > 17mm, tasa embarazos, tasa abortos, tasa gestaciones múltiples, incidencia de SHO.

Resultados: El grupo de pacientes tratados conjuntamente con triptorelina y folitropina presentaron una menor incidencia en el número de abortos junto con incrementos significativos en: dosis requerida de FSH, de los días de tratamiento, niveles de estradiol, n° de folículos > 17 mm, tasa de gestación, tasa de gestación múltiple e incidencia de SHO.

Conclusiones: La utilización conjunta de un análogo de GnRh y Folitropina en pacientes con SOPQ,

Correspondencia: Dr. J.Carrera Rotllan.

Unitat Endocrinologia Ginecològica.

ACM - Clínica de Vic.

Rda. Camprodon, 4 bis.

08500 - Vic.(Barcelona)

24586jcr@comb.es

obtiene un incremento significativo en la tasa de gestación, objetivo principal en IUI, aunque es a costa de un incremento del coste del procedimiento (duración y unidades de FSHr) y de efectos indeseables (SHO y gestaciones múltiples).

Palabras clave: Inseminación intrauterina. Esterilidad. Síndrome de ovarios poliquísticos. Análogo de la GnRH. FSH recombinante.

Summary

Objective: to assess in patients with PCOS, the results of addition of GnRH agonist (triptoreline acetate) to FSHr over intrauterine insemination cycles.

Design: prospective and randomised clinical study

Setting: Reproductive Endocrinology Clinical Center.

Patients: 60 patients with diagnosis of PCOS, primary sterility, clomiphene citrate resistant and with inclusion criterions for IUI.

Intervention(s): 30 patients were treated with triptoreline 0,1 mg / sc / 24 hours from luteal phase (long protocol) and in third day of menstrual cycle 75 units of folitropin beta were added. The other 30 patients were treated only with 75 units of folitropin beta from third day of menstrual cycle.

Main outcome measures: total FSHr dose, days of treatment, E2 levels, number of follicles > 17mm, pregnancy rates, number of miscarriages, multiple pregnancy rates and OHSS rates.

Results: the group of patients treated with triptorelin and FSHr had a decrease in number of miscarriage and significant increased in total FSHr dose, days of treatment, E2 levels, number of follicles > 17 mm, pregnancy rates, multiple pregnancy rates and incidence of OHSS.

Conclusions: the use of GnRH agonist in addition to FSHr allow to obtain a significant increase in pregnancy rates, although this group of patients had an increase of cost (days of treatment and units of FSHr), multiple pregnancy and incidence of OHSS.

Key words: intrauterine insemination. Infertility. PCOS. GnRH agonist. Recombinant FSH.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de ovario poliquístico (SOPQ) es una de las endocrinopatías más comunes, afecta entre el 4-7% de las mujeres en edad reproductiva (1), y es responsable del 75% de las pacientes que presentan esterilidad de causa ovulatoria (2). La asociación entre amenorrea, hirsutismo, infertilidad y ovarios poliquísticos fue inicialmente descrita por Stein y Leventhal en 1935. Desde entonces diversos hallazgos clínicos y de laboratorio se han descrito asociados con SOPQ: elevación LH, incremento sérico de testosterona y DHEAS y más recientemente hiperinsulinemia e hiperlipidemia (3). Aún hoy en día existen considerables controversias en la definición de SOPQ, aunque la definición más usada es la propuesta en 1990 por el National Institute of Health / National Institute of Child Health and Development consensus conference. En esta definición la paciente debe presentar disfunción ovulatoria así como la evidencia de hiperandrogenismo y/o hiperandrogenemia

en ausencia de otras causas de hiperandrogenemia. Recientemente se ha descrito que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria podrían tener un rol importante en la fisiopatología del SOPQ. Así niveles elevados de insulina podrían provocar una hiperandrogenemia que causaría la anovulación y la esterilidad subsiguiente (4).

En este síndrome se ha descrito una hiperfunción del eje LH -células tecales, con una producción excesiva de andrógenos, junto con una hipofunción del eje FSH- células de la granulosa, que resulta en una producción acíclica de estrógenos y una anovulación crónica (5).

Diversas alternativas terapéuticas se han propuesto en las pacientes diagnosticadas de SOPQ y que presentan esterilidad: disminución de peso, citrato de clomifeno, estimulación ovárica con gonadotrofinas urinarias / recombinantes, sola o en combinación con inseminación intrauterina (IUI) y más recientemente la metformina. El citrato de clomifeno se ha considerado el tratamiento de primera elección (6). En pa-

cientes con resistencia al clomifeno, la IUI unida a la estimulación ovárica con gonadotrofinas ha sido una de las técnicas que ha incrementado las tasas de embarazo, persistiendo, no obstante, el elevado porcentaje de abortos descrito en este síndrome (7). Esta alta tasa de abortos se ha relacionado con los elevados niveles de LH presentes en estas pacientes (8).

En pacientes con SOPQ a las que se han realizado ciclos de FIV se ha observado que la utilización de análogos de la GnRH (aGnRH) en los protocolos de estimulación, elimina los picos espontáneos de LH, facilita una maduración sincrónica de los folículos, aumenta la tasa de gestación y disminuye la incidencia de abortos. Por otra parte se ha comunicado una disminución de los niveles de insulina basal y en respuesta a la sobrecarga oral de glucosa en mujeres sometidas únicamente a tratamiento con aGnRH (9).

En trabajos previos realizados en pacientes con SOPQ en que se ha estudiado el efecto de la utilización de aGnRH en ciclos de IUI, se ha observado un incremento no significativo en la tasa de gestación y en la incidencia de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO) (10). No obstante en muchos de estos trabajos para la estimulación ovárica se empleaban gonadotrofinas de origen urinario (HMG o FSH urinaria (FSHu)).

En ciclos de FIV se ha descrito que la utilización de FSH recombinante (FSHr) produce una mayor tasa de desarrollo embrionario y un número mayor de embriones que la FSHu, junto con un cierto incremento en la tasa de gestación (11).

Existen pocos trabajos que analicen los efectos de la utilización conjunta de aGnRH y FSH recombinante en pacientes diagnosticadas de SOPQ bajo protocolo de IUI.

El objetivo de este trabajo es analizar los efectos de la utilización conjunta de un análogo de la GnRH (acetato de triptorelina) y FSHr (folitropina beta) sobre los resultados obtenidos en la IUI en pacientes diagnosticadas de SOPQ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron en el estudio 60 pacientes con esterilidad primaria, diagnóstico de SOPQ y con criterios de inclusión para primer ciclo de IUI. Todas las pacientes incluidas en el estudio eran pacientes en que no se habían conseguido ciclos ovulatorios utilizando citrato de clomifeno a dosis crecientes o bien no se había logrado gestación después de 3 ciclos ovulatorios con citrato de clomifeno. El diagnóstico de SOPQ se realizó en base a los criterios ecográficos

descritos por Adams (12), junto con la presencia de alteraciones menstruales (oligo o amenorrea) y / o signos de hiperandrogenismo (hirsutismo, acné o alopecia). Todas las pacientes eran de raza caucásica y de una edad inferior a 37 años. Los estudios practicados en las pacientes fueron: IMC, analítica hormonal en los días 3 (FSH, LH, 17 B-estradiol, DHAS, 17 - hidroxiprogesterona, cortisol y testosterona) y 21 del ciclo (progesterona), junto con las serologías para Lues, Toxoplasma, Rubeola, HbsAg, HVC y HIV. Asimismo se practicaron estudios de la función tiroidea, determinación de los niveles de prolactina, ecografía vaginal e histerosalpingografía. En las pacientes en que se halló alguna anomalía distinta al SOPQ en la ecografía y/o histerosalpingografía, se realizó laparoscopia e histeroscopia. En sus parejas se realizaron los estudios de serología de Lúes, HbsAg, HVC, HIV, junto con un seminograma, cultivo seminal y test de recuperación espermática. Fueron excluidas del estudio las pacientes con diagnóstico laparoscópico de endometriosis, FSH > 15 u. en 3er día del ciclo, HSG y /o laparoscopia con ambas trompas no permeables y parejas con REM < 3 x 10⁶. Asimismo fueron excluidas las pacientes en que se hallaron alteraciones importantes de la función tiroidea, función suprarrenal, hiperprolactinemia, valores de testosterona superiores a 200 ng/dl y serología HIV positiva en alguno de los miembros de la pareja.

Previamente a su inclusión en el estudio las pacientes fueron informadas de las características y del objetivo del estudio, dando su conformidad escrita para la realización del trabajo.

Mediante distribución por números aleatorios las 60 pacientes fueron randomizadas en 2 grupos compuestos por 30 pacientes cada uno de ellos. El grupo A lo constituían 30 pacientes que recibieron a partir del 3er día del ciclo 75 unidades de folitropina beta (Puregon) vía subcutánea cada 24 horas. El grupo B fue constituido por 30 pacientes que a partir del 21 día del ciclo recibieron acetato de triptorelina (Decapeptyl) 0,1 mg / 24 horas / sc, y a partir del 3er día del siguiente ciclo 0,05 mg de triptorelina y 75 unidades de folitropina beta / 24 horas/ sc.

Se realizaron controles ecográficos (valoración endometrial y tamaño folicular) y analíticos (17 B-estradiol) a partir del 5º día de estimulación con folitropina. Si la respuesta era considerada insuficiente (estradiol < 50 y/o folículos < 10 mm) se incrementaba la dosis de folitropina en 25 unidades diarias, realizando un nuevo control a los 4 días del cambio de tratamiento. Cuando la respuesta se consideraba adecuada se mantenía el mismo esquema terapéutico y se realizaban nuevos controles ecográficos y analíticos a

las 48-72 horas, hasta que como mínimo un folículo o un máximo de 3 alcanzaban un tamaño de 18 mm. En ese momento se inducía la ovulación mediante la administración de 10.000 unidades de B-hCG vía intramuscular. Entre las 36 - 38 horas posteriores a la administración de la B-hCG se realizaba la IUI. Se procedía a la cancelación del ciclo si existían >3 folículos >18mm, o bien unos niveles de estradiol >1000 pg / ml.

La técnica utilizada para la preparación de la muestra de semen para IUI fue la de gradiente de densidades mediante Percoll. La técnica de gradiente es la que ha demostrado una mayor eficacia en la recuperación de espermatozoides móviles (13).

Para la realización de la IUI la paciente era colocada en posición ginecológica, se procedía a un lavado de las secreciones vaginales con PBS y se procedía a realizar la IUI bajo control ecográfico. El catéter utilizado era un Gynetics.

Las pacientes de ambos grupos recibieron soporte de fase lútea con progesterona natural micronizada a dosis de 200 mg / 12 horas vía vaginal, desde el día de la inseminación hasta la realización de la determinación de la B-hCG, que se realizaba los 14 días de la IUI.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos se ha utilizado la comparación de medias para grupos independientes y el test de Chi-cuadrado. Se han considerado significativas diferencias de $p < 0,05$

RESULTADOS

Estudio de la población

En la tabla 1 se expresan los datos de la población femenina en cuanto a edad, IMC, FSH y LH 3er día, DHEAS, Testosterona, Cortisol y duración de la esterilidad (expresada en años) en los dos grupos. Los datos están expresados en media y desviación estándar. En cuanto a estos datos no existían diferencias significativas entre ambos grupos. Los resultados del DHEAS, testosterona y cortisol estaban dentro de los rangos de normalidad.

En la tabla 2 se indican las características de los varones en cuanto a edad y cifras de REM. Las cifras se expresan en media y desviación estándar (paréntesis). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

En la tabla 3 se expresan los resultados (media) en cuanto a unidades de FSH utilizadas, días de tratamiento, niveles de E2 el día de B-hCG, número de folículos mayores de 17 mm, tasa de gestación, tasa de gestación múltiples, tasa de cancelación, número de abortos y desarrollo de SHO. Los abortos se han expresado de manera cuantitativa y sin realizar comparaciones estadísticas debido a su bajo número.

En el gráfico 1 se representan el número total de gestaciones, las gestaciones únicas y las gestaciones

Tabla 1

Características de la población femenina

	Grupo A	Grupo B
Edad	28,6±0,9	29,1±0,8
IMC	30,2±1,28	29,7±1,22
Duración esterilidad	3,1±1,5	3,3±1,4
FSH 3er día	5,2±0,39	4,9±0,30
LH 3er día	10,9±1,22	11,3±0,97
DHEAS	6,80±0,89	7,1±0,92
Testosterona	2,54±0,63	2,49±0,82
Cortisol	12,2±2,8	13,6±2,4

Tabla 2

Características población masculina

	Grupo A	Grupo B	Significación
Edad	31,4 (2,9)	30,3 (3,1)	p no significativa
REM (x 106)	11,9 (4,3)	12,7(4,1)	p no significativa

Tabla 3

Resultados obtenidos.

	Grupo A	Grupo B	Significación
Dosis FSH (unidades)	1325	1562	$p < 0,001$
Días de tratamiento	14,5±2,6	16,5±2,8	$p < 0,05$
Niveles E2	678±269	799±302	$p < 0,01$
Folículos > 17 mm	1,8±0,7	2,3±0,6	$p < 0,01$
Tasa de gestación %	16,6	26,6	$p < 0,05$
Tasa gestaciones múltiples %	20	37,5	$p < 0,05$
Tasa de cancelación %	6,6	13,3	$p < 0,05$
Abortos	2	1	-
SHO %	10	20	p no significativa

gemelares obtenidas en cada grupo de pacientes. En ninguno de los dos grupos hubo ningún embarazo de más de 2 fetos.

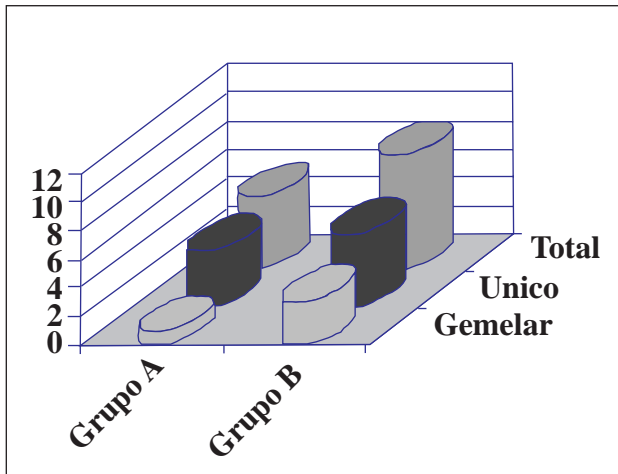


Figura 1

Características de los embarazos obtenidos en ambos grupos

DISCUSIÓN

Dentro de la problemática de la inducción de la ovulación en pacientes con SOPQ cabe resaltar el riesgo de desarrollar SHO, embarazo múltiple, elevado número de abortos y una elevada tasa de ciclos cancelados por el propio riesgo de SHO y por ovulaciones espontáneas. El citrato de clomifeno se ha considerado el tratamiento de primera elección en pacientes diagnosticadas de SOPQ con problemas de esterilidad. No obstante un grupo de estas pacientes no presentan respuesta a este tratamiento. Esta falta de respuesta viene definida por la ausencia de ciclos ovulatorios o bien por no conseguir gestación. Una de las alternativas terapéuticas propuestas en este grupo, ha sido la combinación de IUI y estimulación ovárica mediante la utilización conjunta de aGnRH y gonadotrofinas. La utilización de aGnRH permitiría reducir los niveles endógenos de LH, obtener una maduración sincrónica de los folículos y reducir el número de abortos y de ciclos cancelados (14). No obstante debido a los controvertidos datos existentes sobre la tasa de ovulación y embarazo, combinados con informes de SHO graves y al incremento de los costes de su utilización, han hecho hasta ahora de los aGnRH un tratamiento de segunda línea o coadyuvante en estas pacientes (15). Cabe resaltar que un número importante de trabajos realizados con aGnRH han utilizado gonadotrofinas de origen urinario en la estimulación ovárica.

Recientemente se ha descrito un incremento significativo de la tasa de gestación en pacientes con esterilidad de origen desconocido en las que se ha realizado IUI y estimulación ovárica con FSHr y aGnRH (16). Existen pocos trabajos que analicen la utilización conjunta de aGnRH y FSHr en pacientes con SOPQ bajo protocolo de IUI.

En este estudio prospectivo y randomizado se ha comprobado que la utilización conjunta de aGnRH y FSHr produce un incremento significativo de la tasa de gestación, uno de los objetivos fundamentales de las unidades de reproducción. La causa de este incremento parecería estar relacionada con dos factores. En primer lugar, con el incremento en el número de folículos maduros existente en este grupo. El mayor número de folículos maduros se relacionaría también con el incremento en la tasa de gestaciones múltiples, niveles de estradiol y de SHO (17). El segundo factor que podría explicar el incremento de la tasa de gestación, es el hecho de que la utilización de aGnRH permite predecir con mucha exactitud el momento de la ovulación y realizar la IUI en el momento óptimo, evitando además el hecho de ovulaciones espontáneas y de inseminaciones repetitivas.

Un factor a considerar sería la influencia que pudiera tener sobre el incremento de la tasa de gestación el efecto de los aGnRH sobre el endometrio, ya que en éste existen numerosos receptores para los aGnRH y ello podría hacer pensar en un posible efecto beneficioso a este nivel. No obstante, en trabajos previos que han estudiado este factor, se ha descrito o bien un deterioro de la fase lútea (18) o bien no se han demostrado efectos positivos ni negativos sobre el endometrio que afectaran la implantación (19).

La tasa de gestaciones múltiples en el grupo de análogos es significativamente superior, no obstante se mantiene dentro los parámetros habituales descritos por otros autores al realizar ciclos de IUI (20). Resaltar que todas las gestaciones múltiples obtenidas fueron de embarazos gemelares, no existiendo embarazos múltiples de mayor orden.

La duración del tratamiento ha sido significativamente superior en el grupo de aGnRH, aun que en ambos grupos ha estado dentro de los intervalos descritos en estudios previos (21). Cabe resaltar que aunque la duración se ha mantenido en parámetros descritos, se ha observado una tendencia a un menor número de días de tratamiento respecto a trabajos previos. Ello podría ser debido a la dosis inicial utilizada de 75 UI de FSHr, cuando en trabajos previos la dosis inicial más habitualmente utilizada era de 50 UI. (22). Esta disminución en el número de días de

tratamiento podría ser también beneficiosa en la tasa de gestación. Así, se ha descrito que la aproximación de la duración de la estimulación ovárica a un ciclo natural, podría mejorar los resultados obtenidos en cuanto a gestaciones y abortos precoces (23). El aumento en el número de unidades de FSH requeridas en el grupo de aGnRH quedaría compensado por el incremento de la tasa de gestación y en la disminución del número de ciclos que a largo plazo requerirían estos pacientes.

Se ha constatado un incremento significativo del número de ciclos cancelados en el grupo de aGnRH. A pesar de este incremento, los resultados obtenidos en ambos grupos están en concordancia con trabajos previos realizados con la utilización aislada de FSHu o FSHr. (24) Resaltar que todos los ciclos cancelados en el grupo de aGnRH fueron debidos a niveles de E2 > 1000 pg / ml.

A pesar del poco número de casos observados, ha existido un mayor número de abortos en el grupo tratado con FSHr sola. Una de las causas podría ser la persistencia en este grupo de un elevado cociente entre andrógenos y estrógenos. La predominancia de los niveles de andrógenos se ha relacionado con un incremento en la tasa de abortos (25). Trabajos previos realizados en pacientes con SOPQ y en ciclos de FIV, han observado que la utilización previa de aGnRH produce una disminución significativa de la tasa de abortos. Esta disminución se ha relacionado con la reducción del cociente LH/FSH y de las concentraciones séricas de andrógenos (26).

Aunque no se han hallado diferencias significativas, se ha constatado un incremento de los casos de SHO en el grupo tratado con aGnRH. Este incremento estaría en concordancia con trabajos previos realizados en pacientes con SOPQ bajo ciclos de fecundación in vitro y en tratamiento con aGnRH. La causa parecería estar relacionada con el mayor reclutamiento folicular existente en este grupo (27). No obstante cabe resaltar que todos los casos de SHO, en ambos grupos, fueron catalogados como leves o moderados, sin que hubiera que realizarse ningún ingreso hospitalario. Cabe esperar que con futuros trabajos puedan optimizarse los protocolos de tratamiento y disminuir el número de SHO en el grupo de aGnRH.

Como conclusión podríamos decir que, a la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, la combinación de IUI y estimulación ovárica mediante aGnRH y FSHr es un protocolo a valorar en pacientes con SOPQ y que presentan resistencia al citrato de clomifeno. Futuros trabajos con mayor número de pacientes serían necesarios para poder corroborar estos datos.

BIBLIOGRAFIA

1. **Asunción M, Calvo RM, San Millan JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF.**: A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J.Clin. Endocrinol. Metab* 2000; 85: 2434-2438.
2. **Hull MGR.**: Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinologic and demographic studies. *Gynecol Endocrinol* 1987; 1: 235-245.
3. **Moggetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M.**: Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6 month trial, followed by open, long term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 139-146.
4. **Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC. and Dunaif A.**: Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective controlled study in 254 affected women. *J.Clin.Endocrinol. Metab* 1999; 84: 165-169.
5. **Yen SSC.**: The polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 1980; 12: 177.
6. **Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P.**: Clomiphene citrate for ovulation induction in women with oligo-amenorrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD000056.
7. **Pabuccu R, Duru NK, Orthon E, Küçük T, Yenen MC.**: Low- dose gonadotropins plus intrauterine insemination treatment in patients with clomiphene resistant polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2000; 74 (3). Suppl 1: S143-S144.
8. **Tulppala M, Stenman U-H, Cacciatore B, Ylikorkala O.**: Polycystic ovaries and levels of gonadotrophins and androgens in recurrent miscarriage: prospective study in 50 women. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100: 348 - 352.
9. **Tropeano G, Liberale Y, Vuolo IP, Barini A, Caroli G, Carfagna P, Menini E.**: Effects of ovary suppression by a long acting GnRH agonist on circulating GH, insulin-like growth factor I and insulin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 1997; 20: 220-224.
10. **Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P.**: Gonadotrophin-releasing hormone analogue as an adjunct to gonadotropin therapy for clomiphene-resistant polycystic ovarian syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2000 (2).
11. **Hoomans EHM, Nyboe Andersen AN, Loft A et al.**: A prospective randomised, assessor-blind, multicentre

- study comparing 150 IU recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon) and 225 IU highly purified urinary follicle stimulating hormone (Metrodin-HP) in a fixed-dose regimen in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 1999; 14: 2442-2447.
12. **Adams J, Franks S, Polson DW, Mason HD, Abdulwahid N, Tucker M, Morris DV, Price J, Jacobs HS.:** Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone. *Lancet* ii, 1985; 1375-1378.
 13. **Pyunjabi V, Gerris J, Van Bijilen J.:** Comparison between different pre-treatment techniques for sperm recovery prior to intrauterine insemination, GIFT or IVF. *Human Reprod* 1990; 5: 75-78.
 14. **Homburg R, Levy T, Berkovitz D, Farchi J, Feldberg D, Ashkenazi J, Ben-Rafael Z.:** Gonadotropin-releasing hormone agonist reduces the miscarriage rate for pregnancies achieved in women with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 1993; 59: 527-531.
 15. **Scheele F, Hompes PGA, Van der Mer et al.:** The effects of a gonadotropin-releasing hormone agonist on treatment with low dose follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1993; 8: 699-704.
 16. **Carrera J, Estrada LI, Sarquella J, Soriano P.:** Effect of addition of GnRH agonist (leuprolide acetate) to FSHr in the protocols of ovarian stimulation for insemination cycles. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*. 2002; 19 (2): 109-114.
 17. **Navot D, Goldstein N, Mor-Josef S, Simon A, Relou A, Birkenfeld A.:** Multiple pregnancies: risk factors and prognostic variables during induction of ovulation with human menopausal gonadotrophins. *Hum Reprod* 1991; 6: 1152-1155.
 18. **Testart J, Forman R, Belaisch-Allart J, Volante M, Hazout A, Strubb N, Frydman R.:** Embryo quality and uterine receptivity in vitro fertilization cycles with or without agonists of gonadotrophin-releasing hormone. *Hum Reprod* 1989; 4: 198-201.
 19. **Remohi J, Gutierrez A, Vidal A, Tarin JJ, Pellicer A.:** The use of gonadotrophin-releasing hormone analogues in women receiving oocyte donation does not affect implantation rates. *Hum Reprod* 1994 Sep; 9 (9): 1761-1764
 20. **Pasqualotto EB, Falcone T, Goldberg JM, Petrauskis C, Nelson DR, Agarwal A.:** Risk factors for multiple gestation in women undergoing intrauterine insemination with ovarian stimulation. *Fertil Steril* 1999; 72: 613-618.
 21. **Homburg R, Levy T, Ben-Rafael Z.:** A comparative prospective study of conventional regimen with chronic low-dose administration of follicle-stimulating hormone for ovulation induction associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995; 63: 729-733.
 22. **Hayden CJ, Rutherford AJ, Balen AH.:** Induction of ovulation with the use of a starting dose of 50 units of recombinant human follicle-stimulating hormone (Puregon). *Fertil Steril* 1999; 71 (1): 106-108.
 23. **Kolstad HA, Bonde JP, Hjollund NH, Jensen TK, Henriksen TB, Ernst E, Giwercman A, Skakkebaek NE, Olsen J.:** Menstrual cycle pattern and fertility: a prospective follow-up study of pregnancy and early embryonal loss in 295 couples who were planning their first pregnancy. *Fertil Steril* 1999 Mar; 71 (3): 490-496
 24. **White DM, Polson DW, Kiddy D.:** Induction of ovulation with low dose gonadotrophins in polycystic ovary syndrome: an analysis of 109 pregnancies in 225 women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3821-3824.
 25. **Brzyski RG, Grow DR, Sims JA, Seltman HJ.:** Increase in androgen: estrogen ratio specifically during low-dose follicle-stimulating hormone therapy for polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995; 64: 693-697.
 26. **Damarío MA, Barmat L, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z.:** Dual suppression with oral contraceptives and gonadotrophin releasing-hormone agonists improves in vitro fertilization outcome in high responder patients. *Hum Reprod* 1997; 12: 2359-2365.
 27. **Hompes PGA.:** Agonistas de la GnRH en el síndrome de los ovarios poliquísticos. *Cuad Med Reprod* 1998; 4: 181-202.