

Reproducción Asistida

Comparación del “Protocolo Corto” versus “Antagonistas” con o sin Citrato de Clomifeno para estimulación en FIV de pacientes con “baja respuesta”

Comparison of “Short Protocol” versus “Antagonists” with or without Clomiphene Citrate for stimulation in IVF of patients with “low response”

Martínez F, Coroleu B, Marqués L, Parera N, Buxaderas R, Tur R, Barri P N

Servicio de Medicina de la Reproducción. Departamento de Obstetricia y Ginecología.
Instituto Universitario Dexeus. Barcelona. España

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la utilidad del antagonista Cetrorelix con o sin CC y gonadotropinas urinarias o recombinantes, en el tratamiento de estimulación para FIV de las mujeres con antecedente de baja respuesta, comparado con el protocolo corto. Se incluyeron 90 pacientes que fueron aleatorizadas de manera prospectiva en 4 grupos de tratamiento: Grupo A: Protocolo Corto (n=23). Grupo B: Cetrorelix + FSHr+HMG (n=21); Grupo C: Cetrorelix +CC+FSHr; Grupo D: Cetrorelix+CC+HMG (n=26). Los grupos fueron homogéneos para edad, FSH y estradiol basal. Los niveles de estradiol el día de hCG fueron significativamente más bajos en el grupo B (938+497 pg/ml), que en el resto (A=1579+900 pg/ml, C=1044+461 pg/ml, D=1492+901 pg/ml). Se realizó transferencia de embriones en 65 pacientes, y se obtuvieron 18 embarazos, lo que supuso una tasa global de embarazo de 20% por paciente, y de 27,7% por transferencia. Se produjeron 7 abortos (38,9%) y 11 embarazos en curso. El grupo C presentó globalmente los mejores resultados. No hubo diferencias estadísticamente significativas en las tasas de embarazo por paciente ni por transferencia, ni en las tasas de implantación ni de aborto entre los cuatro grupos.

En mujeres con antecedentes de baja respuesta, los antagonistas parecen permitir una reducción de la dosis necesaria de gonadotropinas exógenas y del número de días de tratamiento, con unas tasas de embarazo similares a las de los protocolos con agonistas.

Palabras clave: Agonistas de LHRH. Antagonistas. Citrato de Clomifeno. Fecundación in Vitro. Baja respuesta

Correspondencia: Dra. F. Martínez
Institut Universitari Dexeus
Paseo Bonanova, 67
08017 Barcelona
Pacmar@dexeus.com

Summary

The aim of the study was to evaluate the usefulness of the antagonist Cetrorelix with or without Clomiphene Citrate and urinary or recombinant gonadotropins in the treatment of stimulation for IVF in women with prior low response, compared to the short protocol. Ninety patients were prospectively randomised into four treatment groups: Group A: Short protocol (n= 23). Group B: Cetrorelix + FSHr+HMG (n=21); Group C: Cetrorelix +CC+FSHr; Group D: Cetrorelix+CC+HMG(n=26). All four groups were homogeneous for age, and basal FSH and estradiol. Estradiol levels on day of HCG were significantly lower in group B (938+497 pg/ml), than in the other three groups (A=1579+900 pg/ml, C=1044+461 pg/ml, D=1492+901 pg/ml). There were 65 embryo transfer that yielded 18 pregnancies, which gives pregnancy rates of 20% per patient and 27% per embryo transfer. There were 7 abortions (38.9%) and 11 ongoing pregnancies. There were not significant differences in pregnancy rates per patient, and per transfer, neither implantation nor abortion rates among four groups.

In women with previous low response, antagonists seem to allow a reduction in the total dose of gonadotropins and number of days of treatment , to produce similar pregnancy rates to protocols with agonists.

Key word: LHRH Agonist. Antagonist. Clomiphene citrate. In Vitro Fertilization. Low response

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de la baja respondedora en Fecundación in vitro (FIV) continúa siendo un reto frustrante, pues representan un grupo cada vez más numeroso entre las mujeres que solicitan tratamiento. Requieren significativamente mayores dosis de gonadotropinas para producir significativamente menor número de folículos, alcanzar niveles más bajos de estradiol el día de HCG, producir menor número de ovocitos, tasas más bajas de fecundación y división más lenta de los embriones resultantes, y menores tasas de implantación y de embarazo globalmente (1). La introducción de los antagonistas de LHRH supone una nueva perspectiva en los tratamientos de FIV (2). Debido a la supresión inmediata de gonadotropinas, se puede evitar la fase estimuladora inicial que tienen los agonistas de la LHRH (LHRHa), y la duración del tratamiento puede ser más corta, obteniendo resultados similares utilizando protocolos más sencillos y con menos efectos secundarios(3).

Recientemente, Akman y cols, (2001) (4) publicaron su experiencia comparando el protocolo de dosis múltiple de cetrorelix con el protocolo microcorto, de flare-up, en pacientes con antecedente de baja respuesta. Las tasas de embarazo clínico por transfer y de implantación fueron mayores en el grupo tratado con protocolo microcorto, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

El Citrato de Clomifeno (CC) combinado con gonadotropinas fue el tratamiento típico de estimulación

en el pasado(5, 6). Debido a su acción sinérgica, la dosis total requerida era menor, y por tanto también los costes. Con la incorporación de los análogos, estos tratamientos fueron abandonados en FIV por la elevada tasa de aumentos prematuros de LH. La posibilidad reciente de administración de antagonistas hacia la mitad de la fase folicular, tanto en el protocolo monodosis (7) como en el protocolo multidosis (2), deja la hipófisis plenamente sensible a los pulsos de GnRH, permitiendo recuperar los protocolos de estimulación de la era pre-agonistas (8). El CC es barato y fácil de administrar y se ha utilizado como tratamiento de primera línea en mujeres anovuladoras normodonotropas durante décadas.

A la vista de estos estudios, se consideró interesante evaluar la utilidad de los antagonistas junto con CC y gonadotropinas en el tratamiento de estimulación para FIV de las mujeres con antecedente de baja respuesta, comparado con el protocolo corto, clásicamente utilizado en este grupo de pacientes (9). Además, resultaría interesante comprobar si la utilización de gonadotropina urinaria o recombinante presenta alguna diferencia en los resultados obtenidos tras la estimulación bajo control hipofisario con antagonista, dado que no se produce la supresión de los niveles de LH en la fase inicial de desarrollo folicular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio prospectivo, aleatorizado, comparando el protocolo corto (o de flare-up) con

FSHr+ HMG frente al protocolo con Cetorelix (desde el día 7º del ciclo y FSHr+ HMG o CC y FSHr o HMG, en mujeres con antecedente de baja respuesta. Todos los grupos habían recibido anticonceptivos orales (Microdiol®, Organón, España) en el ciclo previo, entre 2 y 4 semanas.

Se incluyeron sucesivamente las pacientes con antecedente de baja respuesta a la estimulación (9) que fueron tratadas entre Septiembre 2002 y Mayo 2003. En el momento de la programación del inicio del anticonceptivo, las pacientes fueron aleatoriamente asignadas a uno de los cuatro grupos de tratamiento, por uno de los investigadores (L Marqués), de acuerdo con la tabla de aleatorización generada por ordenador. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Institut Universitari Dexeus.

Los grupos de tratamiento comparados fueron:

Grupo A: Protocolo Corto o de Flare-up: Triptorelin, (Decapeptyl®) 0,05 mg/día desde el segundo día de regla, junto con 150 UI de HMG (HMG Lepori®, Madrid, España)+ 150 U de FSHr(Gonal F®, Serono, España) (n=23)

Grupos B, C y D: Protocolos con Antagonista: 0,25 mg de Cetorelix(Cetrotide®, Serono, España) desde el día 7º del ciclo hasta el día de hCG:

Grupo B: 150 UI de HMG + 150 UI de FSHr desde el 2º día del ciclo.

Grupo C: CC(Omifin®, Merrell, España), 100 mg/día, desde el 4º al 8º día del ciclo, más 150 UI de FSHr desde el 5º día del ciclo hasta el día de hCG (n=20)

Grupo D: CC 100 mg/día, desde el 4º al 8º día del ciclo, más 150 U de HMG desde el 5º día del ciclo hasta el día de hCG (n=26)

A partir del día 7º del ciclo se inició la monitorización de la respuesta mediante determinaciones de estradiol plasmático y ecografía transvaginal, y se ajustó la dosis de gonadotropinas en consecuencia. La administración del antagonista (Cetorelix), 0,25 mg subcutáneo al día, se inició el día 7º del ciclo, que es a partir del cual existe más riesgo de aumento prematuro de LH (2), y se mantuvo hasta el día de la administración de 10.000 u de hCG (HCG Lepori®, Lepori, España) inclusive. Tras la recuperación de ovocitos, fecundación y transferencia de embriones, se realizó apoyo de la fase lútea mediante 600 mg de progesterona micronizada (Utrogestan®, Seid, España) vía vaginal, hasta el día de la determinación de beta-hCG, 14 días después de la punción. Los procedimientos de laboratorio de Fecundación In Vitro y transferencia embrionaria han sido descritos anteriormente(10).

RESULTADOS

Se reclutaron en total 90 pacientes, que iniciaron la estimulación con uno de los cuatro protocolos de tratamiento. Presentaron una media de edad de 38,7+3,9 años (rango de 30 a 47 años), niveles de FSH basal de 11,7+5,6 mUI/ml (rango 4,2 a 30) y una media de ciclos de FIV previos de 2,6+1,3(rango 1 a 7).(Tabla 1).

Tabla 1

Características de las pacientes por grupos de tratamiento.

Grupo	A	B	C	D
Análogo / Antagonista	Triptorelin	Cetorelix	Cetorelix	Cetorelix
Estimulación	FSHr+HMG	FSHr-HMG	CC+FSHr	CC+HMG
Nº pacientes	23	21	20	26
Edad	39,5±5,2	38,9±3,2	38,1±4,0	38,2±3,5
FSH basal mU/ml	11,5±6,3	11,7±5,9	12,8±5,2	11,7±5,6
Estradiol basal pg/ml	56,4±40,7	63,8±101,1	43,8±33,8	56,2±36,0
Ciclos previos	1,8±0,9*	3,0±1,5*	2,6±1,0*	2,9±1,4*

Los grupos fueron homogéneos para edad, FSH y estradiol basal, aunque el número de ciclos de FIV previo fue significativamente menor entre las pacientes del grupo de protocolo corto.

La dosis total de gonadotropinas fue significativamente mayor en el grupo A (4552+1422 U), comparado con los grupos tratados con Cetorelix (B=3607±1117U,C=3018±1068 y D=2829±913U), y del grupo B comparado con los grupos C y D (Tabla 2). Este resultado era de esperar por el propio diseño del estudio, pues estos grupos llevaban más dosis desde el inicio del tratamiento. Los niveles de estradiol el día de hCG fueron significativamente más bajos en el grupo B (938±497 pg/ml), que en el resto (A=1579±900 pg/ml, C=1044±461 pg/ml, D=1492±901 pg/ml). Cuando se compararon los dos grupos tratados con antagonista y CC, fueron significativamente más elevados los niveles de estradiol el día de HCG en el grupo estimulado con HMG (D) que en el grupo estimulado con FSHr (C). No hubo diferencias en el número de ovocitos recuperados ni en la tasa de fecundación. Se transfirieron significativamente menos embriones y de peor calidad en el grupo B (Tabla 2).

Tabla 2
Características de la respuesta por grupos de tratamiento

Grupo	A	B	C	D
Unidades de gonadotropinas	4552±1422*	3607±1117*	3018±1068*	2829±913*
Días de estimulación	10,4±2,6	9,3±2,1	8,7±1,9	8,7±2,7
Días de análogo	10,4±2,5*	4,0±2,3	5,4±1,7	4,7±1,9
Nº Folículos>14	4,2±2,5	3,8±2,2	2,9±2,2	3,5±3,1
Estradiol Día de hCG	1579±900	938±497*	1044±461*	1492±901*
Grosor endometrial el día de hCG en mm	12,2±1,9	12,2±2,0	10,7±2,2	11,4±2,1
Nº ovocitos	5,6±4,3	3,7±1,9	4,6±2,0	4,6±3,8
Tasa fecundación	74,4%	73,5%	75,5%	87,8%
Nº embrion/Transferencia	2,3±0,8	1,9±0,8*	2,3±0,9	2,5±1,1*
Calidad embrionaria	16,8±6,8	12,7±6,0	17,6±9,2	16,2±8,6

Se descartaron 17 por mala respuesta (menos de 3 folículos en desarrollo después de 10 días de tratamiento, o desaparición de los folículos dominantes antes de la punción) (18,9%). De las 73 punciones realizadas, en 8 pacientes (11%) no hubo transferencia de embriones, debido a no recuperación de ovocitos maduros o no fecundación. Se realizó transferencia de embriones en 65 pacientes, y se obtuvieron 18 embarazos, lo que supuso una tasa global de embarazo de 20% por paciente, y de 27,7% por transfer. Se produjeron 7 abortos(38,9%) y 11 embarazos en curso.

El grupo C presentó globalmente los mejores resultados. No hubo diferencias estadísticamente significativas en las tasas de embarazo por paciente ni por transferencia, ni en las tasas de implantación ni de aborto entre los cuatro grupos. Tabla 3.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha incluido una población de pobre pronóstico, por su edad (38,7±3,9), sus niveles de FSH basal (11,7±5,6) y sus antecedentes. Antes de iniciar el tratamiento, tanto las pacientes como el equipo son conscientes de las pobres expectativas de éxito. Por ello es importante elegir el tratamiento que mejor rendimiento ofrezca: con baja tasa de cancelación, máximo número posible de ovocitos maduros, con un coste y duración razonable del tratamiento, proporcionando un endometrio adecuado para la implantación y que tenga las máximas tasas de embarazo y parto. De los diferentes protocolos propuestos para tratar a este grupo de mujeres, el protocolo corto con microdosis de agonista y altas dosis de gonadotropinas ha demostrado adecuada eficacia (11,

12). Para evitar el efecto supresor del agonista sobre el ovario ya deprimido de la mujer con baja reserva, se ha propuesto el tratamiento con gonadotropinas y antagonista de la GnRH (4). Puesto que el antagonista permite recuperar el CC como agente estimulador (8), se podría utilizar como potenciador de la estimulación con gonadotropinas, para disminuir la dosis total, sin afectar a la respuesta.

En el presente estudio, los protocolos de estimulación fueron diseñados para optimizar la respuesta de mujeres con antecedente de baja respuesta. Los grupos fueron homogéneos para edad y FSH basal. Se precisó una dosis de gonadotropinas significativamente mayor en el protocolo corto (4552±1422 UI) que en los tratamientos con antagonista(2829±913 a 3607±1117), como era de esperar, puesto que por diseño del protocolo, este grupo recibía mayor dosis desde el inicio. Además, entre las pacientes que recibieron antagonista, los niveles de estradiol fueron significativamente inferiores en el grupo tratado sólo con gonadotropinas que en los dos grupos que recibieron CC. Por tanto, la menor dosis total de gonadotropinas requerida para alcanzar mayores niveles de estradiol indicaría que el CC supuso un efecto potenciador de la respuesta folicular. Este aspecto no es nada despreciable a la hora de tener que financiar el coste de los medicamentos empleados en el ciclo de FIV. No se observaron diferencias en el grosor endometrial entre los grupos de tratamiento. No hubo diferencias en cuanto a los ovocitos recuperados ni la tasa de fecundación. Estos resultados están en concordancia con Engel y cols (2002) (8).

En el presente estudio, se descartaron 4 pacientes por ovulación previa y 13 por mala respuesta en los grupos tratados con Antagonista, frente a ninguna

Tabla 3
Resultados globales, tasas de embarazo, implantación y abortos, por grupo de tratamiento. No hay diferencias significativas

GRUPO	A	B	C	D
Pacientes	23	21	20	26
Descartadas	0	2	5	6
Ovulación previa	0	1	2	1
Punciones	23	18	13	19
No recuperación / no fecundación	4	2	0	2
Transferencias	19	16	13	17
Embarazos	3	5	5	5
Por paciente	13,0%	23,8%	25%	19,2%
Por transferencias	15,8%	31,3%	38,5%	29,4%
Tasa Implantación	6,82%	20%	16,7%	11,63%
Abortos/ectópicos	2	2	1	2+1
Tasa de abortos	66,7%	40%	20%	60%

cancelación en el grupo tratado con agonista. Estas diferencias no fueron significativas. Se podría especular que con agonista se cancelan menos pacientes, pero las que llegan a transfer, comparado con el antagonista, tienen menos probabilidades de embarazo a término, aunque no de forma significativa. Engel y cols (2002) (8) observaron una tasa de aumento prematuro de LH del 21,5% (mayor en el grupo de FSHr, 26,4% comparado con el de HMG, 13,8%), que resulta inaceptable actualmente. En nuestro grupo no se realizó determinación de los niveles de LH. No obstante, Vlasisavljevic y cols (13) reportan que en los dos casos de aumento de LH detectados previos a la administración de hCG en el grupo de pacientes tratadas con cetorelix, procedieron a la punción y recuperación de ovocitos, con posterior transferencia de embriones y la consecución de embarazo en ambos casos. Esta experiencia cuestionaría el significado clínico del aumento de LH en los ciclos de estimulación con gonadotropinas bajo supresión con cetorelix para FIV. Lo importante parecería ser poder recuperar los ovocitos maduros, pues una vez recuperados, son capaces de ser fecundados y de producir un embarazo.

Se transfirieron significativamente menos embriones y de menor calidad en el grupo B, y se obtuvieron tasas de embarazo similares. Aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, las tasas de implantación y de embarazo por paciente y por transfer fueron menores en el protocolo corto que en los grupos tratados con antagonista, y la tasa de aborto fue mayor. Sin olvidar que las diferencias no alcanzaron

significación estadística, se observó una mayor tasa de embarazo en el grupo tratado con FSHr, que podría apuntar hacia un efecto más favorable de este tratamiento en este tipo de protocolos, en los que no existe un elevado grado de supresión de LH endógena, en concordancia con lo ya señalado por otros autores (14). Probablemente debido al tamaño de la muestra, tampoco se aprecia diferencia estadísticamente significativa en la tasa de abortos entre el grupo que recibió solo FSHr (C) y los que recibieron HMG (A, B y D).

Nuestros resultados son similares a los de otros protocolos de tratamiento en mujeres con baja respuesta (4, 15, 16). Sin embargo son inferiores a los de Hwang y cols. (2003) (17) en mujeres normorespondedoras (tasa de embarazo evolutivo del 35%).

No se observó menor tasa de embarazo con antagonista que con el protocolo corto con agonista, contrariamente a la experiencia en FIV en mujeres con respuesta normal (18). Podría explicarse por la experiencia en el manejo de los antagonistas (14), y la utilización de criterios más flexibles que en el de los estudios multicéntricos analizados en esta revisión sistemática.

Nuestros resultados tienen varias limitaciones, siendo la principal que se trata de una muestra relativamente pequeña. Se ha calculado que para poder demostrar una diferencia en las tasas de embarazo con agonistas frente a antagonistas de un 5% en la zona del 20% se precisaría incluir unas 1200 pacientes en cada grupo de tratamiento, lo que queda totalmente por encima de las posibilidades de nuestro equipo.

Para concluir, en un grupo de mujeres con antecedentes de baja respuesta, los antagonistas parecen permitir una reducción de la dosis necesaria de gonadotropinas exógenas y el número de días de tratamiento, con unas tasas de embarazo similares a las de los protocolos con agonistas. La incorporación del CC a estos protocolos permite una reducción significativa de la dosis total de gonadotropinas, con el consiguiente ahorro económico, sin que se aprecie una disminución de las posibilidades de embarazo, aunque debe prestarse especial atención a la posibilidad de ovulación espontánea. Estos resultados son prometedores, y merecen ser corroborados por estudios más amplios.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado bajo los auspicios de la Cátedra de Investigación de Obstetricia y Ginecología de la del Instituto Universitario Dexeus, Universidad Autónoma de Barcelona.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Surrey ES, Schoolcraft WB.:** Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril*, 2000; 73:667-76
2. **Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, Al-Hasani S, Reissmann T, Krebs D, Klingmüller D.:** Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1994; 9:788-791
3. **Olivennes F.:** GnRH antagonists: do they open new pathways to safer treatment in assisted reproductive techniques?. *RBM on line*. www.rbmonline.com/Article/706; 2002; Vol 5, Supl.1, 20-25
4. **Akman MA, Erden HF, Tosun SB, Bayazit N, Aksoy E, Bahceci M.:** Comparison of agonistic flare-up-protocol and antagonistic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001; 16:868-870
5. **Diamond MP, Hill GA, Webster BW, Herbert CM, Rogers BJ, Osteen KG, et al.:** Comparison of human menopausal gonadotropin, clomiphene citrate, and combined human menopausal gonadotropin-clomiphene citrate stimulation protocols for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1986; 46:1108-12
6. **Martinez, F.:** Utilización clínica de análogos de LH-RH en un programa de Fecundación In Vitro. Tesis Doctoral. Director: Dr. P. Viscasillas. Tutor: Dr. J.M. Adelantado. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, 1 de Abril, 1992
7. **Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, y cols.:** The use of a new GnRH antagonist (Cetrorelix) in IVF-ET with a single dose protocol : a dose finding study of 3 versus 2 mg. *Hum Reprod* 1998; 13:2411-2414
8. **Engel JB, Ludwig M, Felberbaum R, Albano C, Devroey P, Diedrich K.:** Use of cetrorelix in combination with clomiphene citrate and gonadotrophins: a suitable approach to "friendly IVF". *Hum Reprod* 2002; 17:2022-2026
9. **Barri PN, Coroleu B, Martinez F, Veiga A.:** Stimulation protocols for poor responders and aged women. *Mol Cell Endocrinol* 2000 Aug 15; 166(1):15-20
10. **Coroleu B, Carreras O, Veiga A y cols.:** Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 2000; 15:616-620
11. **Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, et al.:** Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. *Fertil Steril*, 1997; 67:93-97
12. **Surrey ES, Bower J, Hill DM et al.:** Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*; 1998; 69:419-424
13. **Vlaisavljevic V, Reljic M, Lovrec VG, Kovacic B.:** Comparable effectiveness using flexible single-dose GnRH antagonist(cetrorelix) and single-dose long GnRH(goserelin) protocol for IVF cycles —a prospective, randomized study. *RBM Online*, 2003; 17(3):301-308.www.com/Article/903
14. **Balasz J, Vidal E, Peñarrubia J, Casamitjana R, Carmona F, Creus M, Fábregues F, Vanrell JA.:** Suppression of LH during ovarian stimulation: analyzing threshold values and effects on ovarian response and the outcome of assisted reproduction in down-regulated women stimulated with recombinant FSH. *Hum Reprod* 2001; 16:1636-1643
15. **Fiedler K, Krüsmann G, von Hertwig I, Schleyer M, Würfel W.:** Comparison of Clomid/FSH/HMG stimulation for IVF with and without GnRH-antagonists. *Hum Reprod*, 2001(abstract book), 16:72-77
16. **Weissman A, Farhi J, Royburt M, Nahum H, Glezerman M, Levran D.:** Prospective evaluation of two stimulation protocols for low responders who were undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*, 2003; 79:886-892
17. **Hwang JL, Huang LW, Hsieh B, Loong Y, y cols.:** Ovarian stimulation by clomiphene citrate and hMG in combination with cetrorelix acetate for ICSI cycles. *Hum Reprod*, 2003; 18:45-49
18. **Al-Inany H, Mohamen A.:** GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod*, 2002; 874-885