

Estudio comparativo, prospectivo y randomizado sobre el uso de HMG-up vs HMG-u en un programa de donación de ovocitos

Comparative, prospective, randomized study about the use of hp-HMG vs u-HMG in an Egg Donation Program

Giles J, Requena A, Guillén A, García Velasco J A
Instituto Valenciano de Infertilidad. Madrid.

Resumen

Objetivo: Valorar la eficacia, seguridad y tolerabilidad en el empleo de HMG ultrapura (Menopur®) frente a su presentación de baja pureza (HMG-Lepori®) en donantes e ovocitos sometidas a estimulación ovárica. **Material y Métodos:** Estudio prospectivo y randomizado. Se incluyó un total de 52 mujeres de nuestro programa de donación de ovocitos. Se usó un protocolo largo con un agonista de la GnRH (Synarel®). La dosis inicial de gonadotropina fue de 225 UI, modificándose según los controles ecográficos a partir del día 5º de estimulación. Las receptoras siguieron un tratamiento de preparación endometrial según protocolo habitual. **Resultados:** Finalmente, 26 mujeres recibieron hp-HMG (grupo 1) y 21 u-HMG (grupo 2). Ambos grupos fueron comparables en términos de edad, IMC, E2 día 3, dosis total de HMG administrada y niveles de E2 el día de la HCG. Si se observó diferencia significativa en el número de días de estimulación necesarios a favor del Menopur (9,5 vs 10,4 $p=0,026$). Tampoco se observó diferencia significativa en el número de ovocitos obtenidos (11,3 vs 10,2), porcentaje de metafase II (79,6 vs 85,8). Respecto a las receptoras, no hubo diferencia significativa en edad, línea endometrial, niveles de E2 y número de embriones transferidos (2,7 vs 2,8). Con una tasa de gestación de un 52% en el grupo 1 vs 35,7% cuando se usó HMGu y una tasa de implantación del 22,7% vs 17,2%. La tolerabilidad fue favorable a la vía subcutánea (HMG-up) frente a la intramuscular (HMG-u) en todas las variables analizadas; siendo la tasa global de satisfacción (buena o muy buena) de 83% frente al 53%. **Conclusiones:** El uso de HMG de alta pureza es una buena alternativa en términos de eficacia y tolerabilidad frente a los preparados urinarios de baja pureza en los tratamientos de FIV.

Palabras clave: hp-HMG. u-HMG. donación de ovocitos. FIV.

Correspondencia: Dr Juan Giles
IVI Madrid.
C/ Santiago de Compostela 88
28035 Madrid
e-mail: ivimadrid@ivi.es

Summary

Introduction: To evaluate the clinical efficiency and patient tolerability of s.c hp-hMG (Menopur(®), Ferring Labs) vs i.m. u-hMG (hMG Lepori(®), Lepori Labs) in oocyte donors undergoing controlled ovarian hyperstimulation. **Material and Methods:** A total of 52 oocyte donors were recruited to participate in a prospective, randomised, controlled trial. After down regulation with GnRHa (nafarelin, Synarel(®), Seid Labs) in a long protocol, group 1 (26 donors) received 225 IU s.c.hp-hMG for 4 days, and then adjusted individually according to the ovarian response; group 2 (21 donors) received i.m u-hMG in a similar fashion. **Results:** Both groups were comparable in terms of age (25.96 vs 27.04), BMI (21.49 vs 23.35), day 3 E2 (119.6 vs 116.63 pg/ml), peak E2 (2336.82 vs 2157.88 pg/ml), and total dose of hMG administered (1717 vs 1845.23 UI). A significantly shorter stimulation length was observed in patients receiving hp-hMG when compared to u-hMG (9.5 vs 10.4 days p= 0.026). No significant differences were observed in the total number of oocytes retrieved (11.3 vs 10.2), MII oocytes (79.6% vs 85.8%) or mean number of embryos transferred (2.7 vs 2.81). There was a trend towards a better implantation and pregnancy rate with hp-hMG; however, differences did not reach statistical significance probably due to sample size. Patient tolerability was significantly better with the use of s.c. hp-hMG, although no adverse effects were observed in any group. Hp -HMG compared favourably to u -HMG in all of tolerability parameters, including global satisfaction rate (83.3% vs 53.8%). **Conclusions:** hp-hMG represents a good option to use in protocols of IVF in terms of clinical efficiency and patient tolerability compared to u -HMG.

Key words: hp-hMG. u -HMG. Egg donation. IVF.

INTRODUCCION

Hace más de tres décadas que comenzaron a utilizarse las gonadotropinas en los protocolos de inducción de la ovulación y posteriormente en ciclos de Reproducción Asistida (RA). El primer fármaco usado fue la HMG, una mezcla de FSH y LH obtenida de orina de mujeres con menopausia. Años después, fruto de los avances farmacológicos, aparecieron productos monohormonales con mayor grado de pureza; lo que planteó dudas sobre las pautas a seguir en los protocolos de estimulación ovárica.

Estas dudas se basan, entre otros factores, en el desconocimiento de los requerimientos de LH necesarios por parte del folículo ovárico para completar su desarrollo. Así, en aquellos ciclos en los que se observó una profunda supresión en los niveles de LH tras bloqueo hipofisario con unos agonistas de la GnRH, se comprobó una mayor tasa de aborto; posiblemente en relación con una deficiente maduración nuclear o citoplasmática (1, 2). Cuando se han empleado los antagonistas de la GnRH a alta dosis, dada la profunda supresión hipofisaria que producen (especialmente de LH), se ha apreciado también una menor tasa de gestación y un incremento en la tasa de aborto (3).

En esta misma línea, las pacientes con hipogonadismo hipogonadotropo se van a ver favorecidas con

el empleo de LH exógena, en comparación con aquellos casos en los que sólo se administró FSH (4).

Por el contrario, en aquellas mujeres con ovario poliquístico (SOP), en las que existe un aumento de los niveles basales de LH, se pensaba que un incremento de los mismos basado en el tipo de gonadotropinas usadas durante la estimulación ovárica podría tener un efecto deletéreo. Sin embargo, son varios los estudios que no hallan diferencias en los resultados al comparar FSH vs HMG, ni incremento en los valores séricos de LH (5).

Esta misma falta de consenso puede apreciarse en los resultados obtenidos tras el empleo de las distintas gonadotropinas en pacientes normoovuladoras. Múltiples trabajos no ponen de manifiesto diferencias significativas entre FSH y HMG o incluso apuntan, en ocasiones, hacía diferencias a favor de esta última (6, 7).

También existe disparidad en cuanto a la calidad embrionaria y ovocitaria. Mientras que para unos los resultados son superiores con el empleo de FSH (8), para otros estas diferencias no existen (9) y aducen que el aporte de LH podría favorecer la producción de estradiol y andrógenos necesarios en la maduración ovocitaria y desarrollo embrionario.

Mayor evidencia parece existir en la superioridad de la HMG de alta pureza (HMG-up) frente a la HMG sin purificar (HMG-u) basándose en la expe-

riencia previa con otras gonadotropinas en las que se ha comprobado que el proceso de purificación disminuye la contaminación de proteínas urinarias que podrían tener un efecto negativo en el desarrollo folicular (10), reduce el riesgo de reacciones alérgicas y la variabilidad entre lotes (11), aportando la comodidad para la paciente de la vía subcutánea.

El objetivo de este trabajo ha sido el comprobar la seguridad y eficacia en el uso de HMG-up en un protocolo de estimulación ovárica de mujeres incluidas en nuestro programa de donación de óvulos como donantes, comparándolo con los preparados de HMG-u.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio prospectivo y randomizado para investigar la efectividad, seguridad y tolerabilidad de la HMG-up (Menopur® comparado con HMG-u (HMG-Lepori® en mujeres sometidas a estimulación ovárica.

Un total de 52 mujeres de nuestro programa de donación de ovocitos fueron incluidas en el estudio desde Agosto a Diciembre de 2002. Los criterios de inclusión propuestos fueron: i) edad comprendida entre 18 y 35 años, ii) no tener antecedentes de cirugía ovárica previa, iii) ciclos regulares, iv) no más de dos ciclos de estimulación ovárica previos.

La randomización se realizó el día de inicio de las gonadotropinas de acuerdo a una tabla de números aleatorios. El grupo 1 recibió HMG-hp (Menopur® vía subcutánea, mientras que al grupo 2 se administró HMG-u (HMG-Lepori® vía intramuscular.

En todos los casos, la desensibilización hipofisaria se realizó mediante la aplicación de acetato de nafarelin (Synarel® 600 µg diarios por vía intranasal, comenzando en la fase lútea media del ciclo previo al que realizamos el tratamiento.

Tras comprobar la desensibilización hipofisaria mediante ecografía y determinación de estradiol sérico (niveles menores de 60 pg/ml), se redujo la dosis del análogo de la GnRH a 400 µg diarios y se comenzó la administración de gonadotropinas a una dosis inicial de 225 U/I diarias. La dosis de gonadotropina se ajustó en función de los valores de estradiol sérico el tercer día de estimulación y con posterioridad de acuerdo al estudio ecográfico y de estradiol sérico. La monitorización con ecografía transvaginal se llevó a cabo el 5º día de estimulación y a partir de ahí cada 1-3 días en función del crecimiento folicular.

Para la inducción de la ovulación empleamos

10.000 UI de HCG-u (HCG Lepori (®) cuando visualizábamos al menos 4 folículos con un diámetro medio mayor de 16 mm y el E2 < 4000 pg/ml. En caso de que estos niveles fuesen mayores, se aplicó nuestro protocolo de coasting (12). La captación ovocitaria se realizó 36 horas después. El número máximo de embriones transferidos fue de 3.

Receptora de los ovocitos

Las receptoras eran pacientes de nuestro programa de donación de óvulos. Las causas de inclusión en dicho programa fueron baja respuesta a la estimulación ovárica (n = 13), edad avanzada (n = 9), fallo ovárico precoz (n = 4), alteraciones cromosómicas o genéticas no susceptibles de diagnóstico genético preimplantatorio (n = 4), fallo ovárico oculto (n = 4), y mala calidad embrionaria u ovocitaria en al menos 2 ciclos de FIV previos (n = 4).

Un total de 18 receptoras recibieron óvulos de donantes que habían sido estimuladas con Menopur(®) y 19 que recibieron óvulos de mujeres en las que se usó HMG-lepori® para la estimulación ovárica. En todas las pacientes fue un motivo de exclusión del estudio la existencia de un factor masculino severo.

Todas las receptoras fueron tratadas con terapia hormonal sustitutiva para preparación del endometrio tal como ha sido descrito con anterioridad (13). Brevemente, a las pacientes con función ovárica se les administro un preparado de GnRH depot (Ginecrin(®) depot) para inducir la desensibilización hipofisaria en mitad de fase lútea del ciclo previo. Tras la menstruación se comenzó con valerianato de estradiol (Progynova(®) de forma progresiva hasta llegar a la dosis de 6 mg al día. El día siguiente a la fecundación de los ovocitos donados la receptora comenzó con un aporte adicional de progesterona natural micronizada (Progeffik(®) a una dosis de 800 mg al día. La duración del periodo de THS hasta que la receptora recibió la donación de ovocitos fue variable aunque, como ya ha sido descrito con anterioridad, este parámetro no afecta a los resultados del programa (14). Se realizó una determinación de beta-HCG el día 12 después de la transferencia embrionaria. Sólo se han considerado embarazos clínicos para este estudio.

El estudio fue aprobado por el comité ético del centro y todas las mujeres incluidas en el habían cumplimentado el correspondiente consentimiento informado.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa SPSS (Statistical Package for the Social

Sciences). Las variables cuantitativas, que siguen una distribución normal, se describen como media y desviación típica y las cualitativas mediante frecuencias absolutas y relativas.

La comparación de medias se realiza mediante el test de la t de student, el contraste de hipótesis para las variables cualitativas se realizó mediante los test chi-cuadrado o el test exacto de Fisher.

RESULTADOS

Del total de 52 mujeres incluidas inicialmente en el estudio, finalmente 26 recibieron hp-HMG (grupo 1) y 21 u-HMG (grupo 2).

Ambos grupos fueron comparables en términos de edad (25.96 vs 27.04) e IMC (21.49 vs 23.35 kg/m²). En cuanto a la respuesta ovárica, tampoco se aprecian diferencias en el E2 día 3 (119,6 pg/ml vs 116,6 pg/ml), en la dosis total de HMG administrada (1717 UI vs 1845 UI) y niveles de E2 el día de la HCG (2336.8 pg/ml vs 2157.8 pg/ml). Si se observó diferencia significativa en el número de días de estimulación necesarios a favor del Menopur (9.5 vs 10.4 p=0.026). Tabla 1.

Tampoco se observó diferencia significativa en el número de ovocitos obtenidos (11.3 vs 10.2), porcentaje de metafase II (79.6 vs 85.8)

Respecto a las receptoras, no hubo diferencia significativa en edad (37.8 vs 37), línea endometrial (9.1 mm vs 10 mm), niveles de E2 (303 pg/ml vs 369 pg/ml) y número de embriones transferidos (2.7 vs 2.8) (tabla 2).

Estudiando las tasas de gestación e implantación en ambos grupos, cabe destacar que, aunque no de forma estadísticamente significativa, se observaron mejores tasas de implantación y gestación en el grupo

Tabla 1

Resultados de la estimulación ovárica en mujeres tratadas con HMG-up vs HMG u

VARIABLES	Hp-HMG	u-HMG	P
Edad	25.9 ± 6.3	27 ± 4.6	ns
IMC (kg/m ²)	21.4 ± 2.6	23.3 ± 3.1	ns
E2 día 3 (pg/ml)	119.6 ± 77.4	116.6 ± 80.9	ns
Dosis de HMG (UI)	1717 ± 446.2	1845.2 ± 358.6	ns
Días de estimulación	9.5 ± 1.2	10.4 ± 1.2	p=0.026
E2 día HCG (pg/ml)	2336.8 ± 939.8	2157.8 ± 1036	ns
Nº ovocitos	11.3 ± 5.7	10.2 ± 4.2	ns
Metafase II	79.6 ± 19.7	85.8 ± 14.2	ns

Tabla 2

Características de las receptoras de ovocitos y resultados del ciclo

VARIABLES	HMG-up	HMG-u	p
Edad	37.8 ± 4.4	37 ± 4.4	ns
E2 (pg/ml)	303±137.7	369±288	ns
Grosor LE mm	9.1±1.3	10±1.8	ns
Tasa fecundación	67.7 ± 16.7	69.1 ± 21.1	ns
Nº embriones transferidos	2.7 ± 0.4	2.8 ± 0.4	ns
Tasa implantación (%)	22.7	17.2	ns
Tasa gestación (%)	52	35.7	ns

tratado con HMG-up (Menopur®). Ninguna de las pacientes presentó Síndrome de Hiperestimulación Ovárica severo.

La tolerabilidad valorada a las 24 horas por nuestro personal de enfermería y mediante encuesta telefónica fue favorable a la vía subcutánea (HMG-up) frente a la intramuscular (HMG-u) en todas las variables analizadas: dolor, picor, enrojecimiento y hematoma; siendo la tasa global de satisfacción (buena o muy buena) de 83% frente al 53%. Tabla 3. En ningún caso fue necesario suspender el tratamiento por reacciones adversas al fármaco.

DISCUSIÓN

Aunque basándonos en la fisiología del ciclo menstrual de la mujer no hay duda de la necesidad de la LH si existe un mayor debate en cuanto a su uso en los tratamientos de reproducción asistida (15, 16). A medida que se fueron purificando los fármacos que contenían gonadotropinas se comprobó que era posible el conseguir una correcta estimulación sólo con FSH (17, 18). Frente a esto, pronto han surgido estudios que justifican el empleo de la LH, si bien no en todas las pacientes, si en grupos determinados de población (19).

Basándonos en la teoría de las dos gonadotropinas-dos células parece claro que en la fisiología ovárica se hace imprescindible el uso de la LH. Esto queda reforzado con los malos resultados obtenidos en mujeres con hipogonadismo hipogonadotropo que se intentaban estimular sólo con FSH, datos que mejoraban de forma significativa cuando se añadía LH a estas pacientes (20, 21). Se concluía, por tanto, que en paciente con ausencia de secreción de gonadotropinas se observaba que aunque la FSH era suficiente para el crecimiento folicular se necesitaba la presencia de LH para mejorar las tasas de fecundación, desarrollo embrionario y fecundación.

Tabla 3
Tolerabilidad

	Menopur n = 12	HMG n = 13	p
Dolor	No 10 (83.3%) L2 (16.67%)	No 6 (46.15%) L6 (46.15%) MD 1 (7.7%)	0.13
Prurito	No 9 (75%) L 3 (25%)	No 9 (69.23%) L 4 (30.76%)	0.25
Enrojecimiento	No 9 (75%) L 3 (25%)	No 7 (53.84%) L 6 (46.16%)	0.72
Hematoma	No 10 (83.3%) L 2 (16.67%)	No 9 (69.23%) L 4 (30.77%)	0.49
Preparación del fármaco	MF 5 (41.66%) F 7 (58.34%)	MF 5 (38.46%) F 7(61.54%)	0.72
Satisfacción	MB 3 (25%) B 7(58.33%) R 1 (8.33%) M 1 (8.33%)	MB 1 (7.69%) B 6 (46.15%) R 6 (46.15%) M 0	0.72

L (leve). MD (moderado)
MF (muy fácil). F (fácil). MB (muy buena). B (buena). (R) Regular. M (mala)

El debate surge en aquellas pacientes con una secreción endógena normal de gonadotropinas y que deben ser sometidas a un tratamiento de estimulación ovárica. Filicori ha demostrado en una serie de artículos publicados que el uso de HMG vs FSH en los tratamientos de inducción de la ovulación, disminuía el número de días de estimulación y la dosis de gonadotropina empleada. Además, observaba una disminución del número de folículos menores de 10 mm de diámetro previo a la estimulación, por lo que concluía que era posible que se disminuyese la incidencia del Síndrome de Estimulación Ovárica en estas pacientes (22-24). Como replica a estos trabajos se puede decir que no parece observarse una mejora en la tasa de gestación y que se administraba previamente un análogo depot de la GnRH a estas mujeres con lo que se dejaban en un estado de hipogonadismo-hipogonadotropo farmacológico.

En cuanto a los protocolos de estimulación para ciclos de FIV existe un gran número de estudios comparando el uso de FSH frente a HMG o el combo FSH-HMG. Aunque con gran diversidad en los resultados, si parece observarse un común acuerdo en que la tasa de gestación es similar cuando se comparan ambos protocolos. En un reciente estudio multicéntrico en el que se comparaba el empleo de Menopur vs FSH recombinante no se encontró diferencias significativas entre ambos fármacos aunque la tasa de gestación fue ligeramente superior a favor de la HMG (25).

Mayor debate surge en grupos concretos de pacientes. De forma que parece que en aquellas pacientes con una profunda supresión hipofisaria tras el empleo de un análogo de la GnRH en un protocolo largo podría ser necesario el aporte adicional de LH, observándose una mayor porcentaje de aborto en aquellas pacientes con niveles basales de LH menores de 0.5 UI/L tras supresión hipofisaria (26). Existen datos también a favor del uso de LH en mujeres con baja respuesta a la estimulación ovárica y en aquellas con edad por encima de los 37 años (27-29)

Hasta la aparición de la LH recombinante, la única fuente de LH disponible en el mercado era la HMG, mezcla de FSH y LH. Aunque no es cuestionable la pureza de la LH recombinante, la HMG se caracteriza por su precio más competitivo y la posibilidad de estar administrando FSH de forma adicional en la misma ampolla. Con la incorporación de la HMG urinaria de alta pureza además de ampliarse el número de productos disponibles para realizar un tratamiento de estimulación ovárica, se ha dado un paso en la mejora de la calidad de los productos de origen urinario. Y aunque existen un número importante de trabajos que avalan la mejoría de los resultados cuando se utilizaba FSH ultrapura frente a la urinaria de baja pureza, son pocos los estudios basados en la comparación con HMG.

El objetivo de este trabajo fue comparar el empleo de la HMG de alta pureza frente a la HMG urinaria con la que se contaba hasta ahora. Al emplearse en

mujeres que van a ser estimuladas en un protocolo de donación de ovocitos nos centramos exclusivamente en la acción que sobre el crecimiento y maduración del ovocito tienen estos fármacos excluyendo, por tanto, los posibles efectos que puedan ejercer sobre el endometrio al haber sido este preparado de forma exógena en la pacientes que serán receptora de los embriones.

En base a nuestros resultados, parece evidente que el empleo de un preparado de alta pureza mejora los resultados cuando se compara con la HMG urinaria sin purificar. Se ha observado una disminución estadísticamente significativa en los días de estimulación cuando se empleó Menopur®. Además, también se observó, aunque no de forma significativa, una disminución en la dosis de gonadotropina empleada. Cuando se valoró la tasa de implantación y de gestación, los resultados fueron más favorables para el uso de HMG de alta pureza aunque no se encontró diferencia estadísticamente significativa, probablemente debido a lo reducido del tamaño muestral.

Por último, se valoró la tolerabilidad en la administración de la medicación, teniendo en cuenta la diferente vía de administración de la medicación (subcutánea en el preparado de alta pureza frente a la intramuscular en la urinaria sin purificar). En los tres parámetros analizados: dolor, enrojecimiento y satisfacción global, se encontró diferencia a favor de Menopur®.

En base a estos resultados, podemos concluir que el empleo de HMG de alta pureza mejora los resultados de forma significativa en días de estimulación, además de observarse una tendencia hacia una mejor tasa de implantación y de gestación con menos dosis de medicación. Además, la tolerabilidad al tratamiento fue significativamente mejor cuando se usó un preparado subcutáneo.

Por tanto, el uso de HMG de alta pureza es una alternativa de mejor resultado frente al preparado sin purificar en los tratamientos de estimulación ovárica y en base a este estudio como al resto de las publicaciones, parece una buena opción terapéutica tanto en los tratamientos de inducción de la ovulación como en los tratamientos de estimulación ovárica para una TRA.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Westergaard LG, Laursen SB, Andersen CY.:** Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation in normogonadotrophic women undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod* 2000; 1:1003-8.
2. **Fleming R, Lloyd F, Herbert M, Fenwick J, Griffiths T, Murdoch A.:** Effects of profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation on follicular activity, oocyte and embryo function in cycles stimulated with purified follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13: 1788-92.
3. **The Ganirelix Dose - Finding Study Group.:** A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group. *Hum Reprod* 1998; 13:3023-31.
4. **The European Recombinant Human LH Study Group.:** Recombinant human luteinizing hormone (LH) to support recombinant human follicle-stimulating hormone (FSH)-induced follicular development in LH- and FSH-deficient anovulatory women: a dose-finding study. The European Recombinant Human LH Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(5):1507-14.
5. **Nugent D, Vandekerckhove P, Hughes E, Arnot M, Lilford R.:** Gonadotrophin therapy for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 4:CD000410.
6. **Strehler E, Abt M, El-Danasouri I, De Santo M, Sterzik K.:** Impact of recombinant follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropins on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2001; 75: 332-6.
7. **Agrawal R, Holmes J, Jacobs HS.:** Follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2000; 73:338-43.
8. **Mercan R, Mayer JF, Walker D, Jones S, Oehninger S, Toner JP, Muasher SJ.:** Improved oocyte quality is obtained with follicle stimulating hormone alone than with follicle stimulating hormone/human menopausal gonadotrophin combination. *Hum Reprod.* 1997; 12:1886-9.
9. **Hung Yu E, Lan Lau EY, Biu Yeung WS, Chung Ho P.:** HMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001; 16: 319-25
10. **Giudice E, Crisci C, Eshkol A, Papoian R.:** Composition of commercial gonadotrophin preparations extracted from human post-menopausal urine: characterization of non-gonadotrophin proteins. *Hum Reprod.* 1994 ;9:2291-9.
11. **Rogers M, McLoughlin JD, Lambert A, et al.:** Variability in the immunoreactive and bioactive follicle stimulating hormone content of human urinary men-

- pausal gonadotrophin preparation. *Hum Reprod* 1995; 10:1982-86
12. **Isaza V, García-Velasco JA, Aragonés M, Remohí J, Simón C, Pellicer A.:** Oocyte and embryo quality after coasting: the experience from oocyte donation. *Hum Reprod* 2002; 17:1777-1782.
 13. **Remohi J, Gartner B, Gallardo E, Yalil S, Simón C, Pellicer A.:** Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertil Steril* 1997; 67:717-23.
 14. **Remohi J, Pellicer A.:** Oocyte donation and oestradiol administration. *Hum Reprod* 1996; 11: 2564-5.
 15. **Shoham Z, Jacobs HS, Inslar V.:** Luteinizing hormone: its role, mechanism of action and detrimental effects when hypersecreted during the follicular phase. *Fertil Steril* 1993; 59:1153-61.
 16. **Hillier SG.:** Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 179:39-46.
 17. **Balasz J, Fabregues F.:** Is luteinizing hormone needed for optimal ovulation induction? *Current Opin Obstet Gynecol* 2002; 14:265-274.
 18. **Daya S.:** Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles (Cochrane review). *The Cochrane Library*, issue 4. Oxford: Update Software; 2001.
 19. **Levy DP, Navarro JM, Schattman GL, Davis OK, Rosenwals Z.:** Exogenous LH: Let's design the future. *Hum Reprod.* 2000; 15:2258-65.
 20. **Balasz J, Miro F, Burzaco I, Casamitjana R, Civico S, Balleca JL et al.:** The role of luteinizing hormone in human follicle development and oocyte fertility: evidence from in vitro fertilization in a woman with long-standing hypogonadotropic hypogonadism and using recombinant human follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1995;10:1678-83.
 21. **Burgués S, the Spanish Collaborative Group on Female Hypogonadotropic Hypogonadism.:** The effectiveness and safety of recombinant human LH to support follicular development induced by recombinant FSH in WHO group I anovulation: evidence from a multicentre study in Spain. *Hum Reprod* 2001; 16:1525-32.
 22. **Filicori M.:** The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. *Fertil Steril* 1999; 71:405-14.
 23. **Filicori M, Cognigni GE.:** Roles and novel regimens of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:1437-41.
 24. **Filicori M, Cognigni GE, Pocognoli P, Tabarelli C, Ferlini F, Perri T, Parmegiani L.:** Comparison of controlled ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin or recombinant follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 2003; 80 :390-97.
 25. **The European and Israeli Study Group on Highly Purified Menotropin versus Recombinant Follicle-Stimulating Hormone.:** Efficacy and safety of highly purified menotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles : a randomized, comparative trial. *Fertil Steril* 2002 ;78 :520-8.
 26. **Westergaard LG, Laursen SB, Andersen CY.:** Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarina stimulation in normogonadotrophic women undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod* 2000; 15 :1003-8.
 27. **Meo F, Ranieri DM, Khadum I, Serhal P.:** Ovarian response and in vitro fertilization outcome in patients with reduced ovarian reserve who were stimulated with recombinant follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril* 2002; 77:630-2.
 28. **De Placido G, Mollo A, Alviggi C, Strina I, Varricchio MT, Renieri A, Colorcuci N, tolino A, Wilding M.:** Rescue of IVF cycles by HMG in pituitary down-regulation normogonadotrophic young women characterised by a poor initial response to recombinant FSH. *Hum Reprod* 2001; 16: 1875-9.
 29. **Humaidan P, Bungum M, Bungum L, Andersen CY.:** Effects of recombinant LH supplementation in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and stimulation with recombinant FSH: an opening study.. *Reproductive BioMedicine Online* 2004; 8:635-43.