

Estudio comparativo del uso de agonistas de GnRH vs antagonistas en pacientes normorespondedoras sometidas a estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV/ICSI

Comparative study between use of GnRH agonists and GnRH antagonists in normogonadotrophic women under controlled ovarian hyperstimulation in IVF/ICSI cycles

Matallín MP, Eleno I, Fernández-Peinado A, Pardo C*, Bernabeu I, Cremades N, Martínez-Escoriza JC.

Unidad de Reproducción. Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital General Universitario de Alicante. *Hospital Universitario de San Juan. 03010 Alicante. España.

Resumen

Los agonistas y antagonistas de la GnRH se consideran igualmente idóneos para prevenir el pico endógeno de LH durante la estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV/ICSI. Numerosos estudios randomizados comparan la eficacia de los antagonistas con el protocolo largo de agonistas con resultados contradictorios. Objetivo: comparar la eficacia de ambos protocolos. Material y Métodos: Analizamos retrospectivamente 488 ciclos de FIV/ICSI en pacientes sometidas a estimulación ovárica con gonadotropinas recombinantes. Todas las pacientes presentaban un perfil hormonal de 3º día de ciclo normal, ausencia de endometriomas visibles, SOP y factor seminal severo. En 339 pacientes se utilizaron antagonistas de la GnRH en dosis múltiple comenzando el día 6 de estimulación y en 149 pacientes se utilizaron agonistas de la GnRH con protocolo largo comenzando el día 22 del ciclo previo. Se realizó estimulación ovárica con rFSH a dosis fija. Resultados: Encontramos en ciclos tratados con antagonistas una reducción en la duración de la estimulación ($p < 0,05$) y en la dosis total de FSH utilizada (ns); sin embargo, se recuperaron menos ovocitos, coincidiendo con una cohorte menor de folículos en crecimiento, hubo menos ovocitos maduros y menor número de embriones disponibles para transferir. En lo que a tasa de embarazo/ciclo, tasa de embarazo clínico y tasa de embarazo en curso/nacido vivo se refiere, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre pacientes tratadas con antagonistas o agonistas de GnRH. Tampoco en la tasa de aborto o aparición de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO). Conclusiones: El protocolo de antagonistas de GnRH es corto y sencillo, con un resultado clínico comparable al protocolo largo con agonistas de GnRH.

Palabras clave: Hiperestimulación ovárica. Antagonistas GnRH. Agonistas GnRH. Fecundación in Vitro.

Correspondencia: Dra. Pilar Matallín Evangelio
Paseo de Soto, 15 4º D
03003 Alicante
e-mail: ire_eleno@yahoo.com

Summary

Both GnRH agonists and antagonists are efficient in preventing the endogenous LH peak in the course of a controlled ovarian stimulation in a IVF/ICSI cycle. Although several randomized trials have compared their efficacy, results so far are contradictory. Aim: to determine whether the use of controlled ovarian stimulation protocols with agonists or antagonists improves the efficacy of IVF/ICSI cycles. Patients and Methods: 488 IVF/ICSI cycles in patients under a controlled ovarian stimulation with recombinant gonadotrophin were retrospectively analyzed. All patients showed a third-day normal cycle profile, absence of visible endometrioma, PCOS, and severe seminal factor. GnRH antagonists were used in 339 patients in a multiple-dose regimen, starting on day 6 of stimulation. GnRH agonists were used in 149 patients, starting on day 22 of the previous cycle, with a long protocol using a fixed dose of rFSH. Results: A significant reduction in the stimulation time-period ($p < 0,05$) and in the total dose of FSH (ns) was observed in cycles treated with antagonists. However, a shorter series of oocytes was recovered and a lesser number of mature oocytes and of available embryos to transfer were also observed. No statistically significant differences were found either in pregnancy/cycle rate, clinical pregnancy rate or ongoing pregnancy/live birth rate between patients treated with agonists or antagonists of GnRH, respectively. Miscarriage rate and ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) were also similar between groups. Conclusions: the use of GnRH antagonists is a short and simple protocol with similar results to those obtained with agonists of GnRH along a greater time-period.

Key words: Ovarian hyperstimulation. GnRH Antagonist. GnRH Agonist. IVF.

INTRODUCCIÓN

Los antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) se introducen en los protocolos de estimulación ovárica para ciclos de FIV/ICSI como una alternativa al tratamiento con agonistas de la GnRH (GnRHa), para prevenir la cancelación de ciclos secundaria al aumento prematuro de la LH. Ambos análogos se consideran igualmente idóneos para conseguir este objetivo, si bien sus mecanismos de acción y resultados clínicos son diferentes.

La aplicación del antagonista de GnRH en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA), comparada con el protocolo más ampliamente utilizado de agonistas (protocolo largo) presenta una serie de ventajas: reducción de la duración del tratamiento con el análogo de GnRH y reducción de la cantidad de gonadotropinas necesarias para la estimulación (1). Otros beneficios potenciales incluyen un riesgo menor de desarrollar síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) grave (2,3) y evitar los síntomas de privación estrogénica. Sin embargo, existen opiniones contrarias en cuanto a la probabilidad de embarazo clínico, al igual que la tasa de embarazo en curso/nacido vivo, así, mientras que algunos autores encontraron unas tasas significativamente menores comparando ambos tratamientos a favor de los agonistas de GnRH (4,5), otros autores no encuentran diferencias significativas en la probabilidad de recién nacido vivo entre los dos análogos de GnRH (6).

Establecer si los beneficios anteriormente mencionados justifican un cambio en el tratamiento sistemático del protocolo estándar largo de GnRHa al régimen recientemente diseñado de antagonistas de GnRH dependerá de si los resultados clínicos del uso de estos protocolos son equiparables.

Todos estos datos nos animaron a analizar los resultados de los ciclos de FIV/ICSI realizados en nuestra Unidad. El objetivo del presente estudio fue comparar la eficacia de los antagonistas de la GnRH con el protocolo estándar largo de GnRHa para la estimulación ovárica controlada (EOC) para ciclos de FIV/ICSI, en pacientes normorespondedoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio retrospectivo de 488 ciclos de FIV/ICSI realizados en la Unidad de Reproducción del Hospital General Universitario de Alicante entre los años 2003-2007. Se definieron dos grupos de estudio: el primero compuesto por 149 pacientes que fueron tratadas con agonistas de la GnRH en protocolo largo y el segundo consta de 339 pacientes tratadas con antagonistas de la GnRH a dosis fijas. Todas las pacientes tenían una edad inferior a 39 años, presentaban un perfil hormonal normal ($FSH < 10$ mUI/ml, $LH < 10$ mUI/ml y $E2 < 80$ pg/ml, el tercer día del ciclo menstrual), no presentaban endometriomas visibles ecográficamente, ovarios poliquísticos ni factor seminal severo.

PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA

El grupo que recibió tratamiento con agonistas de la GnRH (protocolo largo) comenzó con acetato de leuprolide (Procrin®; Abbot S.A. Madrid, Spain) desde el día 22 del ciclo previo (0,5mg/día, s.c.). Tras la menstruación y comprobación de ausencia de actividad folicular comenzó la estimulación ovárica mediante FSHr. Las pacientes tratadas con antagonistas (Ganirelix, Orgalutran®; Laboratorios Organon Española S.A. ó Cetrotrelax, Cetrotide®; Serono Internacional S.A, Geneva, Switzerland) lo incorporaron un día 6 del ciclo de estimulación (0,25mg/día) y se mantuvo hasta el día de la administración de hCGr (protocolo corto con antagonistas). En ambos grupos la hiperestimulación ovárica controlada se comenzó el día 3 del ciclo con FSH recombinante (Puregon®, Laboratorios Organon Española S.A., o Gonal-F®; Laboratorios Serono S.A. Madrid, Spain). La dosis se ajustó en función de la respuesta esperada en cada paciente. A partir del 4º o 5º día de estimulación ovárica las pacientes fueron seguidas mediante control ecográfico y analítico (E₂) cada 48 h. La maduración final ovocitaria se realizó mediante la administración de 250mcg de hCG recombinante (Ovitrelle®; Laboratorios Serono S.A. Madrid, Spain.) cuando se encontraron al menos 3 folículos ≥18mm. La punción folicular y aspiración ovocitaria se realizó 36 horas después de la administración de la hCGr con anestesia general, usando una sonda vaginal de 5 MHz (Toshiba Just Vision 400, Toshiba Corp., Japan) y agujas de Labotect de 17 G (Labotect GmbH Labor-Technik, Göttingen, Germany). En todos los ovocitos recuperados se realizó microinyección espermática (ICSI) según el procedimiento habitual en nuestro centro. La transferencia de embriones se realizó en día 2 mediante un catéter de transferencia Cook (K-JETS-6019-SIVF; Cook Ob/Gyn, Ireland) ecoguiado. La fase lútea se suplementó con 200mg de progesterona natural micronizada cada 8 h. por vía vaginal.

La prueba de embarazo se realizó 11 días después de la transferencia embrionaria mediante la determinación en sangre de la hCG, y 4-5 semanas después de la punción se confirmó el embarazo mediante control ecográfico. Se consideró embarazo clínico cuando se visualizó saco gestacional con latido cardiaco positivo.

Las muestras de sangre fueron tomadas en el día 2-4 del ciclo para controlar los valores hormonales basales previos al ciclo de FIV/ICSI. Durante el ciclo

de estimulación se recogieron muestras sanguíneas cada 48h para controlar la concentración de E₂. Todas las determinaciones hormonales fueron realizadas mediante un autoanalyzer de electroquimioluminiscencia MODULAR E-170 (Roche Diagnostics).

El análisis estadístico se realizó mediante el programa informático SPSS 11.0 (Chicago, IL). Los datos están expresados como media ± desviación estándar. Se utilizó el test *t*-Student para las variables cuantitativas, y el test χ^2 -cuadrado para las cualitativas. Consideramos significación estadística un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En todas las pacientes que participaron en este estudio se consiguió transferencia embrionaria. En la tabla 1 se presentan las características basales de las pacientes en ambos grupos de tratamiento las cuales no presentaron diferencias e incluyen edad, IMC (índice de masa corporal) y parámetros hormonales basales (FSH, LH y E₂). Estos datos apoyan la validez de los resultados posteriores.

Tabla 1

Comparación de parámetros hormonales basales de las pacientes según el tratamiento utilizado.

Los valores están expresados en $m \pm ds$. Se consideró estadísticamente significativo $p < 0,05$

	ANTAGONISTAS n=339	AGONISTAS n=149	P
Edad	33,4 ± 3,1	33,1 ± 2,9	NS
IMC	22,7 ± 3,1	22,8 ± 3,3	NS
FSH basal (UI/L)	6,9 ± 1,5	6,7 ± 1,5	NS
LH basal (UI/L)	5,7 ± 2,1	5,9 ± 2,3	NS
E2 basal (pg/ml)	49,0 ± 20,9	44,6 ± 20,8	NS

En cuanto a los parámetros tras el tratamiento con gonadotropinas y la respuesta ovárica a la estimulación en los grupos de estudio los datos se presentan en la tabla 2. Encontramos una menor duración de la estimulación cuando el tratamiento fue con antagonistas de la GnRH (10,4 ± 1,9 vs 10,8 ± 1,6; $p < 0,05$; antagonistas vs agonistas respectivamente), en cuanto a la dosis total administrada de FSHr también fue menor en el grupo de antagonistas, aunque no de forma significativa (2774 ± 1061 con antagonistas vs 2933 ± 1014 con agonistas; $p = NS$). También encontramos

Tabla 2

Comparación de parámetros del ciclo de estimulación entre antagonistas y agonistas de la GnRH. Los valores están expresados en $m \pm ds$. Se consideró estadísticamente significativo $p < 0,05$

	ANTAGONISTAS n= 339	AGONISTAS n=149	P
Dosis FSH (UI/L) total	2774 \pm 1060	2933 \pm 1014	NS
Días estimulación	10,4 \pm 1,9	10,8 \pm 1,6	<0,05
Nº Folículos estimulados	15,3 \pm 6,9	17,3 \pm 7,3	<0,05
Nº ovocitos recuperados	13,6 \pm 6,5	16,2 \pm 7,7	<0,05
Nº MII recuperados	9,98 \pm 5,2	11,8 \pm 5,7	<0,05
Nº embriones total	5,0 \pm 3	5,9 \pm 3,4	< 0,05

diferencias significativas en el resto de parámetros de respuesta ovárica como son: nº folículos estimulados, nº ovocitos totales recuperados, nº ovocitos maduros (MII) recuperados tras punción y nº de embriones totales obtenidos en día 2, siendo mayores todos ellos en el grupo de agonistas de la GnRH ($p < 0,05$).

En la tabla 3 se presentan los resultados de los ciclos en los dos grupos de tratamiento. A pesar de las diferencias encontradas en la estimulación ovárica a favor de los agonistas, no encontramos diferencias entre los dos grupos de estudio en cuanto a tasa de embarazo total, tasa de embarazo clínico y tasa de embarazo en curso/nacido vivo. Tampoco aparecen diferencias entre las dos pautas de tratamiento en la tasa de aborto, ni en la tasa de aparición de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) severo.

Tabla 3

Comparación de resultados entre las pacientes tratadas con agonistas frente a antagonistas de la GnRH
* SHEO: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica
Los valores están expresados en $m \pm ds$. Se consideró estadísticamente significativo $p < 0,05$.

	ANTAGONISTAS n= 339	AGONISTAS n=149	P
Tasa Embarazo/ciclo	46,0%	53,7%	NS
Tasa Embarazo clínico/ciclo	37,6%	44,3%	NS
Tasa Embarazo en curso/nacido vivo	30,4%	35,6%	NS
Tasa de Aborto/ciclo	5,3%	5,4%	NS
Tasa SHEO*severo	2,5%	3,2%	NS

DISCUSIÓN

Los análogos de la GnRH fueron sintetizados al poco tiempo de la identificación del decapeptido original, y son el resultado de la modificación de algunos de los aminoácidos del mismo (los agonistas por modificación de los aminoácidos de las posiciones 6 y 10; y los antagonistas, de las posiciones 1, 2, 3, 6 y 10). Aunque agonistas y antagonistas fueron sintetizados por primera vez en la misma época, el desarrollo clínico de éstos últimos se vio dificultado por la aparición de alergias y reacciones anafilácticas atribuibles a su administración. Hoy día esos inconvenientes se han superado en gran medida y los antagonistas de tercera generación, están ya disponibles para su uso clínico.

Agonistas y antagonistas se consideran igualmente idóneos para prevenir los aumentos prematuros de LH, si bien sus mecanismos de acción y resultados clínicos son diferentes. Así los agonistas de GnRH provocan, inicialmente, un aumento de los receptores de GnRH (*upregulation*) y la secreción de grandes cantidades de gonadotropinas (*flare-up*). Su administración continua provoca, posteriormente, una disminución del número de receptores de membrana de GnRH (*downregulation*), que conlleva una inhibición de la liberación de gonadotropinas. Por otra parte los antagonistas de GnRH se unen de manera competitiva a los receptores de la GnRH provocando una inhibición inmediata de la liberación de gonadotropinas sin inducir una estimulación inicial (7).

La aplicación de antagonistas de GnRH para la inducción de la ovulación en reproducción asistida, por su diferente mecanismo de acción, presenta una serie de ventajas sobre los agonistas: una notable reducción de la duración del tratamiento y de la cantidad de gonadotropinas necesarias para la estimulación, mayor comodidad para la paciente (al inyectarse medicación durante menos días), menor incidencia del SHEO (1-3) y evita los síntomas de deprivación estrogénica (frecuentemente observados en la fase de preestimulación de un protocolo largo).

Se han realizado numerosos estudios randomizados que comparan la eficacia de los antagonistas, ya sea en protocolo de dosis única o múltiple, con el protocolo largo de agonistas, ofreciéndonos resultados enfrentados en lo que a tasa de éxito (tasa de embarazo y tasa de embarazo clínico) se refiere (8,9). Una revisión sistemática y metaanálisis publicado por Kolibianakis y col. (6) intenta responder a la siguiente cuestión: En pacientes tratadas con gonadotropinas y análogos de GnRH para ciclos de FIV/ICSI: ¿la

probabilidad de recién nacido vivo depende del tipo de análogo utilizado? Para ello analizan 22 estudios controlados aleatorizados de la literatura comparando diferentes protocolos de tratamiento de agonistas y antagonistas de la GnRH (3176 pacientes en total), no encontrando diferencias significativas en la probabilidad de recién nacido vivo entre los dos análogos de GnRH (OR 0,86; 95% IC, 0,72 a 1,02; p = 0,085). Estos resultados son independientes del tipo de población estudiada, tipo de gonadotropina utilizada en la estimulación, tipo de protocolo de agonista empleado, tipo de agonista usado, tipo de protocolo de antagonista empleado, tipo de antagonista usado y de la vía de obtención de información del nacido vivo. Sin embargo sí encuentran diferencias significativas en cuanto a la duración del tratamiento con el análogo, la duración de la estimulación, n° ovocitos recuperados y SHEO grave a favor de los antagonistas. Por otro lado y más recientemente se ha publicado una revisión publicada en la Cochrane library (5) en el que analizan 27 estudios controlados aleatorizados comparando el tratamiento con antagonistas de la GnRH con el protocolo largo de GnRH. El resultado de esta revisión fue que la tasa de embarazo clínico fue significativamente menor en el grupo de antagonista (OR 0,84; IC 95% : 0.72 a 0.97), al igual que la tasa de embarazo en curso / nacido vivo mostró ser significativamente menor (p = 0,03; OR 0,82; IC 95%: 0,69 a 0,98) en favor de los agonistas. Esta reducción ocurrió a pesar de la transferencia de un número equivalente de embriones de buena calidad en ambos grupos. Sin embargo, hubo una reducción estadísticamente significativa de la incidencia de SHEO grave. El n° de ovocitos recuperados fue consistentemente menor en mujeres tratadas con el antagonista de GnRH, lo que coincidió con la menor cantidad de gonadotropinas utilizada y la menor duración de la estimulación. Algunos autores intentan justificar esta diferencia a favor de los agonistas por la curva de aprendizaje, mucho más larga en el caso de los agonistas ya que los antagonistas son de reciente incorporación en las TRA.

Nuestros datos confirman la mayoría de los hallazgos de los trabajos anteriormente referidos. Encontramos, en ciclos tratados con antagonistas, una reducción significativa de la duración de la estimulación y de la dosis total de FSH utilizada para ello; sin embargo, se recuperaron menos ovocitos, lo que coincidió con una cohorte más pequeña de folículos en crecimiento junto con una menor cantidad de ovocitos maduros (metafase II) y un número significativamente menor de embriones disponibles para la transferencia. En cuanto a tasas de embarazo clínico por ciclo, así como de embarazo en curso / nacido vivo, si

bien no se registraron diferencias estadísticamente significativas, fue inferior en el grupo de antagonista de GnRH (diferencia de 7 puntos porcentuales a favor de los agonistas).

Posiblemente la ventaja de los agonistas sobre los antagonistas sea que con los primeros se obtiene un mayor número de ovocitos y embriones. En los dos meta-análisis reseñados, el uso de antagonistas supuso una reducción estadísticamente significativa de la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica severa (SHEO), diferencia que no hemos comprobado en nuestro estudio. Nuestros datos se ven apoyados por dos factores que creemos interesante mencionar: por un lado intentamos analizar un grupo lo más homogéneo posible estudiando un grupo de pacientes con una respuesta normal a la estimulación. Excluyendo, por tanto, a las “bajas respondedoras”, tanto por criterios analíticos (FSH >10 mUI/ml; LH >10mUI/ ml; E2 >80 pg/ml), de edad (>38 años), y de respuesta a la estimulación (< 5 ovocitos obtenidos tras la punción); también fueron excluidas las que tenían endometriomas visibles ecográficamente y a las pacientes con ovarios poliquísticos. Creemos que estos grupos de pacientes excluidas tienen particularidades específicas que podrían incorporar variables de confusión que alterarían los resultados del estudio, y que por ello merecerían ser analizadas por separado. De hecho algunos autores ya han descrito la influencia de la edad en el tratamiento con antagonistas (10), y refieren peores resultados globales con antagonistas en pacientes de mayor edad. Por otro lado nuestra experiencia es similar en el manejo de ciclos con agonistas o antagonistas, puesto que nuestra Unidad de Reproducción Asistida de nuestro hospital es de reciente creación y comenzamos empleando mayoritariamente el protocolo con antagonistas por su sencillez, y en menor proporción los agonistas. Por ello, la curva de aprendizaje en nuestro caso es similar y no podríamos utilizarla para justificar nuestras diferencias a favor de ninguno de los dos protocolos.

La tasa de embarazos persistentemente menor con los antagonistas de GnRH (con o sin significación estadística según el estudio analizado) puede plantear interrogantes sobre los posibles efectos directos de los antagonistas sobre la función ovárica y el endometrio. Sobre la repercusión de los antagonistas en el endometrio y posterior implantación, investigaciones controladas adicionales que incluyan el estudio de una biopsia endometrial, pueden proporcionar más información sobre los posibles efectos de los antagonistas sobre el desarrollo endometrial a través de su receptor. Estudios realizados *in vivo* e *in vitro* han demostrado la producción de GnRH por el endometrio

humano en todas las fases del ciclo menstrual, con un pico máximo de producción durante la fase lútea media, momento en que se produce la implantación embrionaria, así como la presencia de receptores de GnRH en endometrio, tanto en el epitelio como en el estroma, en todas las fases del ciclo menstrual (11). Por otra parte, se han publicado estudios que refieren que el grosor endometrial (10) y el volumen endometrial (ml) medido con ecografía 3D (12) el día de la transferencia embrionaria, es significativamente menor en las pacientes tratadas con antagonistas de GnRH. Otros estudios (13) no encuentran diferencias entre ambos análogos en términos de calidad endometrial.

Se ha comprobado que los antagonistas de GnRH podrían tener efecto adverso dosis-dependiente sobre las tasas de implantación y gestación, oscilando las primeras entre 21,9% con dosis 0,25mg, y 1,5% con dosis de 2mg (14). Es muy probable que las dosis bajas utilizadas en protocolos de FIV/ICSI no perjudiquen la implantación, sin embargo otros estudios son necesarios para intentar entender el posible efecto del antagonista a nivel endometrial.

Tampoco parece existir un efecto adverso de los antagonistas sobre ovocitos y embriones, puesto que se ha demostrado que los embriones congelados obtenidos de ciclos tratados con antagonistas son normales y permiten un nº de embarazos no diferente del de pacientes tratadas con agonistas de GnRH (15).

Por todo lo anteriormente expuesto, no nos sorprende no encontrar diferencias significativas en cuanto a tasa de embarazo clínico por ciclo, así como de embarazo en curso / nacido vivo entre agonistas y antagonistas de GnRH, ya que no se han demostrado diferencias entre ambos análogos en términos de calidad embrionaria o endometrial. Nuestros resultados permiten concluir que el protocolo de antagonistas es un protocolo corto y sencillo, con un resultado clínico comparable al protocolo largo con agonistas de GnRH. En la práctica clínica, los antagonistas permiten usar esquemas de estimulación ovárica más breves, lo que repercute en un mayor grado de satisfacción de las pacientes y, tal vez disminuir los costes directos de las TRA.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Tarlatzis B, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K, Devroey P.**: GnRH antagonist in ovarian stimulation for IVF. *Hum. Reprod. Update* 2006; 12: 333-40.
2. **Olivennes F, Belaisch-Allart J, Empereire JC, Dechaud H, Álvarez S, Moreau L, Nicollet B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R.**: Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) antagonist (cetorelix) or a depot formula of an LH_RH agonist (triptorelin). *Fertil. Steril.* 2000; 73(2): 314-20.
3. **Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P.**: Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) antagonist cetorelix and the LHRH-agonist buserelin. *European Cetorelix Study Group. Hum. Reprod.* 2000; 15(3): 526-31.
4. **Al-Inany H, Aboulghar M.**: GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum. Reprod.* 2002; 17: 874-85.
5. **Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M.**: GnRH antagonist for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 640-9.
6. **Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger.**: Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Human. Reprod. Update.* 2006; 12 (6): 651-71.
7. **Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hassani S, Reissmann T, Krebs D, Klingmüller D.**: Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist cetorelix during ovarian stimulation. *Hum. Reprod.* 1994; 9(5): 788-91.
8. **Check ML, Check JH, Choel JK, Davies E, Kiefer D.**: Effect of antagonist vs agonist on in vitro fertilization outcome. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2004; 31: 257-259.
9. **Lee TH, Wu MY, Chen HF, Chen MJ, Ho HN, Yang YS.**: Ovarian response and follicular development for single-dose and multiple-dose protocols for gonadotropin-releasing hormone antagonist administration. *Fertil Steril* 2005; 83: 1700-1707.
10. **Dolz M, Abad de Velasco L, Moreno X, Castillo JC, Bonilla Musoles F.**: Influencia de la edad en el tratamiento con antagonistas de la GnRH. *Rev. Iberoamericana Fertilidad.* 2007; 24(2): 79-86.
11. **Casañ EM, Raga F, Krüssel JS et al.**: Immunoreactive gonadotropin-releasing hormone (GnRH) expression in cycling human endometrium of fertile patients. *Fertil. Steril.* 1998; 70: 102-106.
12. **Tur-Kaspa I, Zohav E, Segal O, Meltzer S, Segal S.**: Three dimensional endometrial and uterine volumen changes during induction of ovulation for IVF GnRH antagonist vs agonist. *Fertil Steril.* 2001; 76(3) Suppl.1: 0-61.

13. **Simon C, Obery J, Bellver J, Vidal C, Bosch E, Horcajadas JA, Murphy C, Adans S, Riesewijk A, Mannaerts B, et al.:** Similar endometrial development in oocyte donors treated with either high-or standard-dose GnRH antagonist compared to treatment with a GnRH agonist or in natural cycles. *Hum. Reprod.* 2005; 20: 3318-27.
14. **Ganirelix Dose-Finding Study Group.** A double-blind, randomized, dose finding study to assess the efficacy of GnRH antagonist Ganirelix (Org. 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Human Reprod.* 1998; 13: 3023-31.
15. **Kol S, Lightman A, Hillensjo T, Devroey P, Fauser B, Tarlatzis B, Mannaerts B, Itskovitz-Eldor J.:** High doses of gonadotrophin releasing hormone antagonist in in-vitro fertilization cycles do not adversely affect the outcome of subsequent freeze-thaw cycles. *Hum. Reprod.* 1999; 14: 2242-44.