

## El uso de antagonistas de GnRH desde el inicio de la estimulación en pacientes con SOP, reduce el riesgo de hiperestimulación ovárica

### The use of GnRH antagonists since the start of stimulation in PCOS patients, reduces the risk of ovarian hyperstimulation

Fernando Gil Raga<sup>a</sup>, Ana María Monzó Miralles<sup>b</sup>, Alberto Romeu Sarrió<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Hospital Manises, <sup>b</sup>Hospital Universitario la Fe. Valencia.

#### RESUMEN

**Objetivo:** Comparar un protocolo de estímulo ovárico para FIV/ICSI en pacientes SOP, comenzando la administración de antagonista en día 3 frente a un agonista en protocolo largo. Diseño del estudio: Estudio prospectivo no randomizado.

**Ámbito:** Unidad de FIV de un hospital público. Pacientes: 278 diagnosticadas de SOP según criterios ESHRE en tratamiento para FIV/ICSI Intervenciones: Hiperestimulación ovárica controlada con gonadotropinas exógenas Folitropina, (Puregon® MSD. Barcelona) supresión hipofisaria con antagonista Ganirelix (Orgalutran®. Laboratorios Organón. Barcelona) 0,25 mg/d desde el día 3 de estímulo en 123 pacientes frente a supresión hipofisaria en protocolo largo Nafarelina (Synarel®. Laboratorios Seid. Barcelona) 400µg/d desde el día 22 del ciclo previo en 155 pacientes, cultivo de embriones, transferencia de preembriones y evaluación de los resultados perinatales. Variables principales de valoración: Días de estímulo, dosis de FSH consumida, Cancelación de ciclo por riesgo de hiperestimulación, Número de ovocitos obtenidos, calidad de los embriones, tasa de gestación, tasa de implantación, tasa de aborto, tasa de recién nacido sano a término, Síndrome de hiperestimulación ovárica.

**Resultados:** No se observan diferencias estadísticamente significativas en los días de estímulo, dosis de FSH consumida, número de ovocitos obtenidos, tasas de gestación o de aborto entre los dos grupos. El porcentaje de ciclos cancelados por riesgo de hiperestimulación en el grupo antagonista es 1,6% y en el grupo agonista de 13,3%  $p < 0,05$  RR 9,47. El porcentaje de síndrome de hiperestimulación ovárica desarrollado en el grupo antagonista es 0,9% frente al 2,4% aunque no resulta estadísticamente significativo  $p = 0,367$  RR 2,73 (0,280-26,723).

**Conclusiones:** La estimulación de mujeres SOP con FSHr bajo bloqueo hipofisario con un antagonista de GnRH administrado en día 3 representa un protocolo eficaz que proporciona tasas de gestación e implantación similares al bloqueo hipofisario con agonistas en protocolo largo y disminuye significativamente el número de cancelaciones por riesgo de hiperestimulación.

(Rev Iberoam Fert Rep Hum, 2012; N° 4 - 29: ©2012 Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana).

Aceptado 17-Julio 2012

Correspondencia: Fernando Gil Raga. C/ Samuel Ros nº 49 2-2-A 46023 Valencia. fgil@hospitalmanises.es

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Secretaría general: Luis A. Quintero. Apdo. Correos 87. 46110 Godella (Valencia) España. Email: contacto@editorialmedica.com

---

**Palabras clave:** *FIV, Síndrome de ovarios poliquísticos, antagonistas de GnRH*

## SUMMARY

**Objective:** To compare ovarian stimulation protocol for IVF / ICSI in PCOS patients, administration of antagonist starting on day 3 compared with agonist long protocol. Study

**Design:** Prospective study. Scope: IVF unit of a public hospital. Patients: 278 diagnosed with PCOS according to ESHRE criteria treated for IVF / ICSI Interventions: Controlled ovarian hyperstimulation with exogenous gonadotropin Follitropin  $\beta$  (Puregon  $\text{\textcircled{R}}$  MSD. Barcelona) antagonist pituitary suppression with Ganirelix (Orgalutran  $\text{\textcircled{R}}$ . Organon Laboratories. Barcelona) 0, 25 mg / d from day 3 of stimulation in 123 patients versus long protocol-pituitary suppression with nafarelin (Synarel  $\text{\textcircled{R}}$ . Laboratorios Seid. Barcelona) 400 $\mu$ g / d from day 22 of the previous cycle in 155 patients, embryo culture, pre-embryos transfer and assessment of perinatal outcomes. Primary endpoints: Days of stimulation, FSH dose consumed per cycle, cancellation risk of hyperstimulation, number of oocytes obtained, embryo quality, pregnancy rate, implantation rate, miscarriage rate, healthy newborn term rate and ovarian hyperstimulation syndrome.

**Results:** No statistically significant difference in the days of stimulation, FSH dose consumed, number of oocytes obtained, rates of pregnancy or miscarriage between the two groups. The percentage of cycles canceled due to the risk of hyperstimulation in the antagonist group is 1.6% and in the agonist group is 13.3%  $p < 0.05$  RR 9.47. The percentage of ovarian hyperstimulation syndrome developed in the antagonist group is 0.9% versus 2.4%, although not statistically significant difference is observed,  $p = 0.367$  RR 2.73, 95% (from 0.280 to 26.723).

**Conclusions:** PCOS women stimulation with rFSH under pituitary suppression with a GnRH antagonist administered on day 3 is an effective protocol that provides pregnancy and implantation rates similar to long protocol agonist suppression and significantly decreases the number of cancellations due to risk hyperstimulation.

(Rev Iberoam Fert Rep Hum, 2012; N $^{\circ}$  4 - 29: ©2012 Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana).

**Key words:** *FIV, ovary polycystic syndrome, GnRH antagonists*

## INTRODUCCIÓN

El uso de la gonadotropinas en mujeres afectas de SOP se ha asociado a diferentes problemas, debido a que estas pacientes son muy sensibles a la estimulación con aquéllas, lo que hace de ellas pacientes de riesgo elevado para desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica. Complicaciones tardías del uso de gonadotrofinas atribuibles a las altas concentraciones de LH incluyen hiperestimulación, gestación múltiple y cancelación de ciclo(1) (2). Otros problemas incluyen luteinización prematura, bajas porcentajes de gestación (10-20%) y altos porcentajes de aborto (35%). Uno de los parámetros actuales de estudio respecto a la utilización de los antagonistas de la GnRH, se refiere al momento de inicio de los antagonistas. La investigación de protocolos alternativos de antagonistas de GnRH, se ha

encaminado hacia un inicio anterior al día 6 de estímulo (3-5). Estos estudios se apoyan en las observaciones que la expresión de los receptores de LH en las células granulosas es más precoz en las mujeres con fenotipo SOP (6) habiéndose evidenciado que la exposición del ovocito a niveles altos de estradiol y LH en la fase folicular temprana, se asocian negativamente a la probabilidad de gestación(7). El inicio de los antagonistas en la fase folicular precoz en pacientes con SOP ha sido desarrollado en un estudio no comparativo de inseminación intrauterina (3), en el que se comenzó a utilizar concomitantemente a la estimulación con gonadotropinas. Fue comunicado que ovularon todas las pacientes incluidas en el estudio, obteniéndose unos buenos porcentajes de gestación (44%) y embarazo evolutivo (28%). También se ha utilizado el uso precoz de los

antagonistas en otro estudio de FIV, donde los antagonistas comenzaron un día después de la administración de gonadotropinas usando como control un agonista en protocolo largo, obteniéndose porcentajes de gestación similares en ambos grupos (4).

El objetivo del presente estudio es comparar un protocolo de estimulación ovárica para FIV/ICSI en pacientes SOP, comenzando la administración de antagonista en día 3 frente a un agonista en protocolo largo, siendo las variables analizadas: días de estímulo, dosis total de FSH, cancelaciones por riesgo de hiperestimulación, SHO moderado/grave, calidad de los embriones obtenidos, tasa de gestación, tasa de implantación, tasa de aborto y tasa de recién nacido vivo sano a término.

## Material y métodos

**Diseño:** Estudio de cohortes prospectivo, no randomizado, de 3 años de duración (enero de 2004 a enero de 2007). El análisis pretende una comparación de no inferioridad entre grupos de tratamiento, en el ámbito Unidad de referencia de reproducción humana asistida de hospital universitario: Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario La Fe. Muestra 278 parejas estériles que cumplían los criterios habituales del centro para tratamiento mediante fecundación in vitro (clásica o ICSI).

Todas las mujeres que constituían estas parejas habían sido diagnosticadas de SOP. El diagnóstico del síndrome de ovarios poliquísticos se estableció, de acuerdo con los criterios de Rotterdam, consensuados en la reunión conjunta de la ESHRE (European Society for Human Reproduction) y la ASRM (American Society for Reproductive Medicine) Todos los tratamientos fueron primeros ciclos de FIV/ICSI, no se repitieron pacientes en ningún grupo

### Criterios de inclusión

Independientemente del diagnóstico de SOP, las parejas incluidas en el presente estudio debían cumplir determinados criterios de inclusión:

- Edad de las mujeres comprendida entre 18 y 39 años
- Niveles de FSH inferiores a 15 UI/L en el tercer día del ciclo menstrual de la mujer
- Útero y cavidad uterina considerados adecuados para la práctica de la FIV y albergar una gestación, una vez valorados mediante ecografía, histerosalpingografía, histeroscopia o laparoscopia, en dependencia del caso.
- Firma por ambos miembros del consentimiento informado

### Criterios de exclusión

Así mismo, fueron aplicados determinados criterios de exclusión:

- Índice de masa corporal de la mujer igual o superior a 35 Kg/m<sup>2</sup>
- Enfermedad general o sistémica que represente una contraindicación para la práctica de una FIV o para la gestación
- Uso de medicación incompatible con la práctica de una FIV o el embarazo
- Presencia en la mujer de seropositividad a HIV o carga viral VHC positiva
- Presencia de alteraciones cromosómicas o genéticas transmisibles en alguno de los dos miembros de la pareja
- Hijos con la pareja actual

En la tabla 1 y se presentan las características demográficas de los dos grupos y las características seminales de las parejas según criterios de la OMS

Estas parejas fueron divididas en dos grupos en función del fármaco que aleatoriamente se utilizó para la supresión hipofisaria de gonadotropinas:

- Grupo Antagonista: 123 pacientes en las que se utilizó Ganirelix (Orgalutrán®. Laboratorios Organón. Barcelona) a dosis de 0,25 mg/día a partir del primer día en que comienza la hiperestimulación ovárica controlada, día 2º o 3º del ciclo.
- Grupo Agonista 155 pacientes en las que se utilizó como fármaco supresor Nafarelina (Synarel®. Laboratorios Seid. Barcelona) en pulverizaciones intranasales de 200 microgramos por pulverización dos veces al día, desde el día 22 del ciclo previo.

En ambos grupos, la administración tanto de Ganirelix como de Nafarelina se mantuvo a dosis constantes hasta el día de la administración de la hCG. El estudio incluyó todas las pacientes susceptibles de ser incluidas.

### Intervenciones:

El manejo clínico de todas las pacientes, tanto en los aspectos médicos como biológicos, se llevó a cabo de acuerdo con los criterios y protocolos de conducta habituales del centro.

**Hiperestimulación ovárica controlada:** El objetivo de la estimulación fue la obtención de al menos tres folículos preovulatorios (17 o más milímetros de diámetro medio), evitando el riesgo de hiperestimulación (desarrollo de 25 o más folículos superiores a 10 mm o niveles circulantes de estradiol superiores a 3.500 pg/mL).

En todos los casos de ambos grupos se inició con la administración de 100-150 UI diarias de FSH recombinante (FSHr) (Folitropina β, Puregon®, MSD, Barcelona) el segundo día del ciclo menstrual, realizándose el primer control de la respuesta ovárica al quinto día de tratamiento, mediante determinación del nivel circulante de estradiol y la realización de una ecografía vaginal. A partir de este

TABLA 1

## Resultados gestacionales según multiplicidad en el parto

	Antagonista <sup>a</sup>	Agonista <sup>a</sup>	Total <sup>a</sup>	Valor de p <sup>b</sup>
Edad paciente	32(30-35)	32(29-34)	32(30-34)	0,081
Edad pareja	35(32-39)	35(31-38)	35(32-35)	0,512
Años esterilidad	5(4-7)	5(4-7)	5(4-7)	0,801
IMC	23,9(21,8-28,4)	23,8(21,1-26,7)	23(21-27)	0,176
Semen Normal	14,2	8,1	11,5	0,69
Atenozoospermia	41,9	46	43,5	0,78
Oligoastenozoospermia	40	42	41	0,823

<sup>a</sup> Mediana y rango intercuartil <sup>b</sup> %Pacientes con diagnóstico seminal según OMS

momento, la dosis diaria de gonadotrofinas pudo incrementarse o disminuirse, en función de la respuesta ovárica, controlándose la misma cada 24 ó 48 horas (nivel circulante de estradiol y ecografía vaginal) hasta la administración de hCG.

Las determinaciones del nivel de estradiol se realizaron en suero por enzimoimmunoanálisis, mediante tomas de sangre practicadas de 08:00 a 09:00 horas. El resultado obtenido se utilizó, junto con los hallazgos ecográficos, para decidir el tratamiento a seguir.

En la ecografía vaginal se hizo el recuento total de folículos, clasificándolos en: entre 10 y 16 mm y > de 16mm. Por otra parte, fueron valorados el espesor y la textura del endometrio. Además del tratamiento estimulador con gonadotrofinas, las pacientes de ambos grupos recibieron tratamiento destinado a inhibir la secreción de gonadotrofinas endógenas.

Uno de los grupos (grupo agonista) recibió un agonista de GnRH (Nafarelina; Synarel®, Laboratorios SEID, Barcelona) por vía intranasal en protocolo largo; el Synarel® se administró a dosis de 200 mg cada 12 horas desde el día 22 del ciclo precedente hasta el inicio de la estimulación y a dosis de 100 mg cada 12 horas desde el inicio de la estimulación hasta la administración de hCG.

El otro de los grupos (grupo antagonista) recibió un antagonista de GnRH (Ganirelix; Orgalutrán®, Laboratorios Organón, Barcelona) a dosis de 0,25 mg/día desde el día 2 del ciclo, día en que se inició el estímulo con gonadotrofinas, hasta el día en que se administró hCG.

Alcanzada la situación en que se consideró que el desarrollo folicular era adecuado, se administró una dosis única de 250 µg de hCG recombinante (Ovitrelle®, Laboratorios Serono, Madrid) para inducir la maduración final del ovocito.

### Criterios para la administración de hCG

Se indicó la administración de hCG cuando, sin existir ries-

go de hiperestimulación ni otro tipo de contraindicaciones, se observó la presencia de tres o más folículos de 17 o más mm de diámetro medio.

### Criterios de cancelación

La estimulación ovárica fue cancelada cuando se observó la existencia de riesgo de que se produjera un síndrome de hiperestimulación ovárica y ello cuando se observó la presencia de 25 o más folículos mayores de 10 mm en desarrollo o niveles de estradiol superiores a 3.500 pg/mL. Este hecho se produjo, en ocasiones, en un momento del tratamiento que permitió administrar la hCG tras 48 horas sin gonadotrofinas ("coasting"), este hecho se produjo en 6 pacientes en el grupo antagonista y 1 en el grupo agonista. La cancelación de la estimulación pudo también realizarse por falta de respuesta al estímulo o, accidentalmente, por razones ajenas al desarrollo del tratamiento.

### Punción aspiración folicular (recuperación de ovocitos)

La recuperación de los ovocitos se produjo 36 horas después de la administración de la hCG, en quirófano, mediante punción-aspiración transvaginal guiada por ecografía con agujas de calibre 17G y bajo anestesia general de la paciente.

### Cultivo y fecundación de los ovocitos

Los ovocitos obtenidos fueron trasladados al laboratorio donde se procedió a la catalogación de cada uno de ellos, en función de su estadio nuclear, en metafase II (M II), metafase I (M I), profase (P I), atrésico (A) o zona rota (ZR). En ocasiones, no pudo ser determinado el estadio nuclear y se procedió a catalogarlos en función del aspecto de su complejo ovocito-corona-cúmulo en tipo I (suele corresponder a M II o M Im), tipo II (suele corresponder a M Ii) y tipo III (suele corresponder a P I).

Los ovocitos atrésicos o con la zona fracturada fueron desechados y los ovocitos inmaduros (M I y P I) fueron mantenidos en cultivo hasta su maduración o eliminación, para

ser inseminados (FIV clásica) o microinyectados (ICSI) en caso favorable.

Todos los ovocitos en estadio M II fueron inseminados o microinyectados, en función de las características de la muestra seminal proporcionada ese mismo día. Se practicó una ICSI cuando el REM fue menor de 10 millones o la motilidad en fresco menor de 15%, cuando había antecedentes de fallo de fecundación y cuando sólo se dispuso de uno o dos ovocitos fecundables (M II). En el resto de los casos se practicó una FIV clásica.

En la FIV clásica, los espermatozoides previamente capacitados y en número aproximado de 100.000 se pusieron en contacto con los ovocitos colocados en la placa de Petri unas 2 horas después de la recuperación.

Para la práctica de la ICSI, se denudó los ovocitos M II de las células del cúmulo, introduciéndolos en una solución de hialuronidasa y se les microinyectó un espermatozoide previamente capacitado.

Aproximadamente a las 17 horas de la inseminación o microinyección, fue valorada la fecundación, en función de la presencia o no de dos pronúcleos. Los preembriones existentes fueron mantenidos en cultivo hasta su transferencia o criopreservación.

#### **Transferencia de preembriones**

Los preembriones existentes fueron clasificados según el número de sus blastómeras y su grado de fragmentación, de acuerdo con los criterios de Veeck, a las 36 o, en su caso, a las 60 horas de su FIV o ICSI (2º o 3er día). La clasificación utilizada ha sido, posteriormente, reconsiderada en función de los criterios de calidad embrionaria de ASEBIR Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) en los cuatro grupos A,B,C y D, definidos en el año 2007 en Zaragoza.

Cuando se dispuso de varios preembriones, los dos considerados de mayor calidad morfológica y más adecuada cronobiología fueron seleccionados para ser transferidos; el resto fue cultivado hasta el estadio de blastocisto para ser criopreservado, en caso de evolución favorable.

La transferencia de preembriones se produjo a las 48 ó 72 horas de la punción folicular. La transferencia fue intrauterina en todos los casos y se realizó mediante un catéter de Cook bajo control ecográfico.

#### **Fase lútea**

Se apoyó la fase lútea mediante la administración de comprimidos de progesterona natural micronizada (Progeffik®, Laboratorios Effik; Utrogestán®, Laboratorios SEID) por vía vaginal a dosis de 400 mg/día. Se determinó los niveles en sangre de estradiol y progesterona los días 0 y +2.

#### **Diagnóstico de gestación**

Se determinó los niveles séricos  $\beta$ -hCG dos semanas después de la transferencia. Niveles de  $\beta$ -hCG mayores de 20

mU/ml se consideraron indicativos de embarazo bioquímico (que no se contabilizó) y la paciente fue citada quince días después para una exploración por ultrasonidos.

El diagnóstico de gestación y el tipo de la misma (única, doble,...) se estableció cuando se observó al menos un saco embrionario con latido cardiaco por ultrasonografía en semana 6º de embarazo.

#### **Resultados perinatales**

Se obtuvo los datos de los embarazos desarrollados, mediante revisión de la historia clínica o mediante entrevista telefónica en la que se recogieron las siguientes variables:

- Edad gestacional en el momento del parto, aborto o interrupción voluntaria del embarazo.
- Número, sexo, peso y estado de los fetos nacidos o abortados
- Malformaciones fetales.

#### **Análisis estadístico**

La estructura del análisis estadístico fue

Descripción de las variables explicativas, de resultado y modificadoras de efecto: en variables cuantitativas con distribución normal se realiza por medio de la media y de la desviación estándar, y en las de distribución no normal a través de la mediana y del intervalo intercuartil. Las variables cualitativas se describen mediante su distribución de frecuencias, aportando los correspondientes intervalos de confianza.

Evaluación de la normalidad de las distribuciones de las variables cuantitativas, mediante comparación de media y mediana, valoración de la dispersión y aplicación de pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov).

La asociación entre una variable cualitativa y otra cuantitativa de distribución normal se contrasta mediante la prueba t de Student si se trata de comparar dos medias o mediante ANOVA para más de dos medias. La asociación entre una variable cualitativa y otra cuantitativa de distribución no normal se contrasta mediante la prueba U de Mann-Whitney para la comparación de dos medias o mediante la prueba de Kruskal-Wallis cuando se precisa comparar más de dos medias. La asociación entre dos variables cualitativas se contrasta mediante la prueba Chi<sup>2</sup>. La asociación entre dos variables cuantitativas de distribución normal se contrasta por medio del coeficiente de correlación de Pearson, mientras que si una o las dos variables no se comporta con normalidad, se aplica el coeficiente de correlación de Spearman.

Determinación de la magnitud de efectos, que en el caso de los estudios de cohortes y de los ensayos clínicos se realiza por medio del Riesgo Relativo (RR) y sus correspondientes intervalos de confianza. Para el análisis estadístico se



TABLA 2

## Resultados gestacionales según multiplicidad en el parto

	Antagonistas	Agonistas	Total
Pacientes estimuladas	123	155	278
Estimulación cancelada	7	26	33
Punciones	116	129	245
Transferencia cancelada	11	11	22
Transferencia realizada	105	118	223
Gestaciones	34	42	76
Nacimientos	28	38	66

TABLA 3

## Variables de la estimulación ovárica

	Antagonista	Agonista	Valor p	Magnitud asociación
Días de estímulo	8(7-9) <sup>a</sup>	8(7-9) <sup>a</sup>	0,891 <sup>c</sup>	0,210 <sup>e</sup>
Total FSH (UI)	1400(1200-1625) <sup>a</sup>	1400(1150-1681) <sup>a</sup>	0,273 <sup>c</sup>	-0,069 <sup>e</sup>
Cancelación total ciclo	1,6 <sup>b</sup>	15,4 <sup>b</sup>	0,002 <sup>d</sup>	
Riesgo hiperestimulación	1,6 <sup>b</sup>	13,3 <sup>b</sup>	<0,001 <sup>d</sup>	9,41 <sup>f</sup>
Falta respuesta	0 <sup>b</sup>	3,2 <sup>b</sup>	0,709 <sup>d</sup>	1,27 <sup>f</sup>
Estradiol día hCG (pg/ml)	1879(1400-2500) <sup>a</sup>	2399(1537-3028) <sup>a</sup>	0,002 <sup>c</sup>	0,201 <sup>e</sup>
Espesor Línea endometrial	11 (10-13)	12 (11-13)	0,282	0,67
Ovocitos obtenidos	11(8-16) <sup>a</sup>	13(8-15) <sup>a</sup>	0,372 <sup>c</sup>	0,073 <sup>e</sup>
Ovocitos Metafase II	8(4-12) <sup>a</sup>	8(5-12) <sup>a</sup>	0,422 <sup>c</sup>	-0,034 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> mediana(rango intercuartil) <sup>b</sup> % <sup>c</sup> U-Mann Withney <sup>d</sup> Chi2 <sup>e</sup> Correlación de Spearman <sup>f</sup> RR

utilizó el programa informático SPSS® versión 11.0 para Windows®.

## Resultados

Comenzaron la estimulación 278 pacientes, 123 en el grupo de los antagonistas y 155 en el grupo de los agonistas. Se cancelaron durante la estimulación, 33 ciclos, 7 en el grupo de los antagonistas y 26 en el de los agonistas. Se puncionó para obtener ovocitos a 245 pacientes, 116 en el grupo de los antagonistas y 129 en el de los agonistas. Del total de pacientes puncionadas, no se produjo transferencia embrionaria en 21 pacientes, 11 pacientes en el grupo de los antagonistas y 10 pacientes en el grupo de los agonistas. Por lo que finalmente se consiguió la transferencia de al menos un embrión en 223 pacientes, 105 en el grupo de los antagonistas y 118 en el de los agonistas. Se diagnosticó la gestación, mediante la observación ecográfica de un saco intrauterino y latido cardiaco positivo en 76 pacientes, 34 en el grupo de los antagonistas y 42 en el grupo de los agonistas. Se produjo 4 casos de hiperestimulación ovárica, 1

en el grupo antagonista (Leve) y 5 en el grupo agonista (4 leves y 1 grave) Finalmente nacieron 61 niños vivos, 23 en el grupo de los antagonistas y 38 en el grupo de los agonistas. En la tabla 2 se resumen estos datos

Entre las pacientes que finalizaron la estimulación ovárica, la mediana de días de estímulo fue 8(7-9), Grupo antagonista n=105 Mediana y rango intercuartil 8(7-9) Grupo agonista n=118 8(7-9) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la duración del estímulo entre los dos grupos p=0,891. La mediana y el rango intercuartil de FSH consumida para el estímulo entre las pacientes que finalizaron la estimulación ovárica fue de 1400(1200-1625) UI para el grupo antagonista y de 1400(1150-1681)UI para el grupo agonista por paciente, con un La diferencia no fue estadísticamente significativa p=0,273. Se cancelaron por riesgo de hiperestimulación 2 ciclos en el grupo antagonista, el 1,6% de los ciclos y 21 en el grupo agonista, el 13,3%. La diferencia resultó estadísticamente significativa p<0,05 y el RR de cancelar un ciclo en el grupo agonista fue 9,41 veces superior al grupo antagonista. La

<b>Variables de la punción y transferencia de embriones</b>					
	<b>Antagonista</b>	<b>Agonista</b>	<b>P valor</b>	<b>RR</b>	<b>IC 95%</b>
Fecundación ICSI	72,2 <sup>a</sup>	75,2 <sup>a</sup>	0,937 <sup>b</sup>	0,897	0,675-1,734
Fecundación FIV	82,8 <sup>a</sup>	82,3 <sup>a</sup>	0,207 <sup>b</sup>	1,012	0,875-2,56
Número de embriones transferidos	2(1-3)	2(1-3)	0,946 <sup>b</sup>		
Número de preembriones A transferidos/ciclo	43,8 <sup>a</sup>	31,6 <sup>a</sup>	0,044 <sup>b</sup>	1,685	1,020-2,963
Gestación entre pacientes con embrión A	35,7 <sup>a</sup>	38,9 <sup>a</sup>	0,772 <sup>b</sup>	0,873	0,348-2,192
Gestación entre pacientes con embrión no A	25,9 <sup>a</sup>	34,6 <sup>a</sup>	0,289 <sup>b</sup>	0,661	0,307-1,423

<sup>a</sup> %    <sup>b</sup> Chi2

<b>Variables de la gestación</b>					
	<b>Antagonistas % (n)</b>	<b>Agonistas % (n)</b>	<b>valor<sup>a</sup>p</b>	<b>RR</b>	<b>IC95%</b>
Tasa de gestación	27,6 (34)	27,1 (42)	0,919a	1,028	0,605-1,747
Tasa de implantación	19,3 (40)	22,8 (53)	0,651a	0,878	0,499-1,543
Tasa de aborto	25,0 (10)	18,9 (10)	0,584a	1,385	0,501-3,834
Tasa de gestación múltiple	17,8 (5)	27,5 (11)	0,356a	0,573	0,174-1,885
Tasa de recién nacido	22,8 (28)	24,5 (38)	0,686a	0,884	0,487-1,606
Tasa de recién nacido sano a término	18,7 (23)	16,8 (26)	0,273a	1,021	0,544-1,920
Tasa de prematuridad	4,1 (5)	7,8 (12)	0,597a	0,67	0,151-2,974
Tasa de SHO	0,9 (1)	2,5 (5)	0,367a	2,73	0,280-26,723

<sup>a</sup> U Mann-Withney

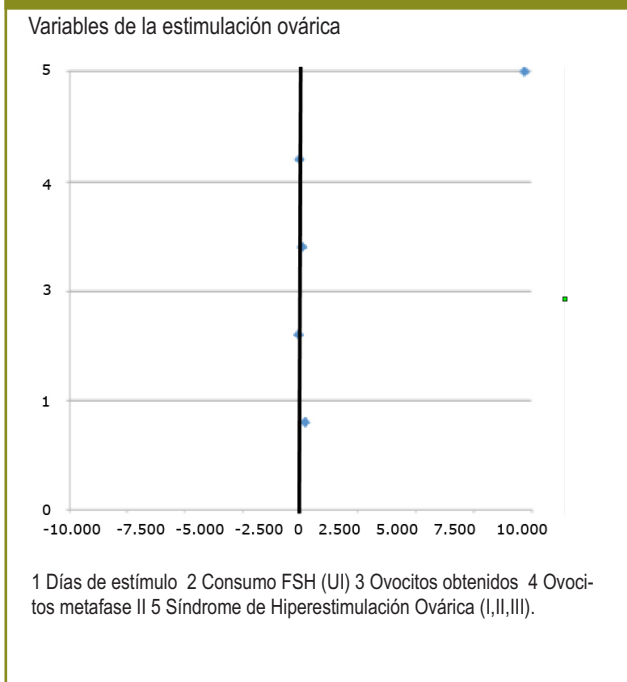
mediana y rango intercuartil de ovocitos totales obtenidos, en el grupo antagonista 11(8-16) y agonista 13(8-15) y de ovocitos metafase II grupo antagonista 8(4-12) y agonista 8(5-12)), no resultó estadísticamente significativa  $p=0,372$  y  $p=0,422$  respectivamente. El porcentaje de fecundación en FIV y el porcentaje de fecundación en ICSI no resultaron ser estadísticamente significativos entre los grupos  $p=0,270$  y  $p=0,937$  respectivamente. Resultó ser significativa la diferencia en el número de preembriones grado A de ASEBIR obtenidos en cada uno de los grupos 43,8% en el grupo antagonista y 31,6% en el grupo agonista,  $p<0,05$ , RR 1,685 IC95% (1,020-2,963). Las tasas de gestación evolutiva fueron 27,6% en el grupo antagonista y 27,1% en el grupo agonista,  $p=0,919$  RR 1,028 IC95% (0,605-1,747) la diferencia no fue significativa. La Tasa de implantación fue 19,3% en el grupo antagonista y 22,8% en el grupo agonista  $p=0,651$  RR 0,878 IC95% (0,499-1,543), la diferencia no resultó significativa. La tasa de aborto fue 25% en el grupo antagonista y 18,9% en el grupo agonista  $p=0,584$  RR 1,385 IC95%(0,501 – 3,834), la diferencia no fue signifi-

ficativa. La tasa de gestación múltiple, tasa de recién nacido sano a término y la tasa de prematuridad no fueron estadísticamente significativas  $p=0,356$ , RR 0,573 IC95%(0,174-1,885);  $p=273$  RR 1,021 IC95%(0,544-1,920) y  $p=0,597$  RR 0,670 IC95%(0,151-2,974) respectivamente. La tasa de Síndrome de hiperestimulación ovárica tampoco resultó ser estadísticamente significativa, aunque se aprecia una tendencia positiva hacia el grupo agonista  $p=0,367$  RR 2,73 (0,280-26,723). Todos los resultados del estudio están recogidos en las tablas 1,2 y 3 y en las figuras 1 y 2.

## Discusión

En el estudio ha sido cancelado un 11,9% de los ciclos, lo que supone una tasa de cancelación elevada, si se compara con el 3,8% que observaron Felberbaum y cols. (8) y el 1,6% que observaron Ludwig y cols. (9) en un grupo de 188 mujeres, aunque éstos se refirieron sólo a cancelaciones por riesgo de hiperestimulación y no se trataba de mujeres diagnosticadas de SOP. Como en el presente estudio, estos mismos autores observaron que el porcentaje de can-

FIGURA 1



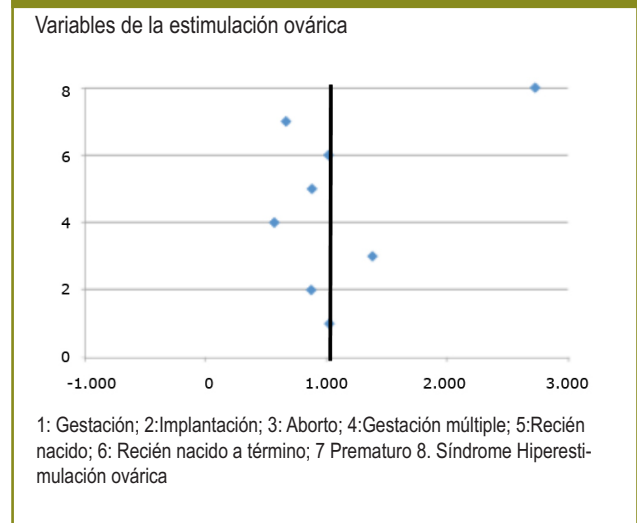
celaciones por riesgo de hiperestimulación era menor en el grupo tratado con antagonistas que en el grupo tratado con agonistas (1,6% y 5,9%, respectivamente).

Doldi y cols desarrollaron un estudio destinado a valorar el papel de la Metformina como tratamiento asociado a la FIV, incluyendo en el mismo 40 pacientes diagnosticadas de SOP; todas ellas fueron tratadas con antagonistas. De las 40 pacientes que iniciaron el tratamiento, 4 fueron canceladas, lo que supone un 10%. Este porcentaje de cancelaciones es superior al observado en el presente trabajo (5,7% en el grupo de antagonistas) (10).

En general, se citan menores porcentajes de cancelación de la estimulación con el empleo de antagonistas en relación con el empleo de agonistas. Esto, al menos en el caso de las mujeres con baja respuesta podría estar en relación, como sugieren Mahutte y col (1) porque el empleo de antagonistas permite decidir iniciar o no la estimulación valorando en el mismo ciclo la “reserva ovárica” mediante el recuento de folículos antrales o cualquier otro método válido.

En contraposición con lo aquí observado, Moraroglu y cols no encontraron diferencias significativas al comparar los resultados de un grupo de pacientes tratadas con antagonistas (n= 45) con los de un grupo de pacientes tratadas con agonistas (n= 48). No obstante, se trataba de mujeres normorespondedoras, siendo criterios de exclusión el SOP, la edad superior a 38 años(11).

FIGURA 2



En el presente estudio fueron observadas tasas de fecundación en FIV muy similares en ambos grupos: 83% en el grupo tratado con antagonistas y 82% en el grupo de pacientes tratadas con agonistas. Del mismo modo, también fueron muy similares las tasas de fecundación observadas tras la práctica de ICSI (72% en el grupo de antagonista y 75% en el de agonista). Obviamente, no se observaron diferencias significativas.

Por otra parte, las tasas de fecundación observadas fueron similares, cuando no superiores a las referidas por distintos autores.

Diedrich y cols, en 1994, analizaron los resultados de la estimulación con hMG realizada a 20 pacientes a las que se administró Cetrorelix a partir del 7º día y señalaron que la tasa de fecundación era similar a la habitualmente observada en los ciclos en que se bloquea la hipófisis con agonistas (12). Resultados concordantes obtuvieron Albano y cols (13) al comparar los resultados obtenidos en el tratamiento de 188 pacientes normorespondedoras en las que se utilizó antagonista a dosis diaria desde el 6º día con los observados en 85 pacientes en las que se utilizó Buserelina en protocolo largo.

Born y col comunicaron tasas de fecundación similares en un estudio prospectivo que incluyó 730 mujeres en las que el bloqueo hipofisario se realizó randomizadamente con antagonista o con agonista: 62% en ambos grupos (14). Resultados similares fueron obtenidos por Vlavisavljevic y cols (15) y por Moraroglu y cols (11).

Felberbaum y cols estimularon 346 mujeres de función ovárica normal utilizando hMG y Cetrorelix en dosis diaria a partir del 6º día (8). Las tasas de fecundación obtenidas



por estos autores fueron de 60% en FIV y 59% en ICSI. En este estudio ha sido considerada la tasa de gestación por ciclo iniciado, no siendo utilizadas las tasas por punción o por transferencia, considerando que aquélla refleja mejor la realidad de los resultados de la FIV.

En el total de los ciclos se produjeron 76 gestaciones clínicas, lo que supone una tasa de 27,3%: 34 de ellas, lo que supone una tasa de gestación de 27,6%, en el grupo de mujeres tratadas con antagonistas y las 42 restantes, lo que supone una tasa de gestación de 27,1% en el grupo de pacientes tratadas con agonistas.

Olivennes y cols publicaron un estudio que incluyó 17 mujeres tratadas con hMG y Cetorelix en el que la tasa de gestación por transferencia fue de 25% (16).

Las tasas de gestación observadas por Albano y cols (13), al comparar 188 casos tratados con antagonista y 85 casos tratados con agonista no mostraron diferencias entre ambos grupos.

Borm y cols randomizaron 730 pacientes en un estudio prospectivo, utilizando, para el bloqueo hipofisario, Buserelina y Ganirelix. Estas pacientes fueron estimuladas con FSHr. Las tasas de gestación clínica observadas fueron, respectivamente, 25,7% y 20,3%, sin observarse diferencias significativas (14). Tasas de gestación clínica similares (24%) fueron comunicadas por Felberbaum y cols (8). Olivennes y cols tampoco observaron diferencias significativas al comparar, en un estudio prospectivo randomizado, los resultados de un grupo de mujeres tratadas con Cetrotide® con los de un grupo tratado con Decapeptyl® (17). Similares resultados fueron comunicados por Akman y cols (18).

Ludwig y cols (19) llevaron a cabo un metanálisis en el que fueron analizados los resultados de los tratamientos realizados con antagonistas comparándolos con los realizados con agonistas en protocolo largo. Obtuvieron resultados discordantes para Ganirelix y Cetorelix, siendo este último más efectivo en disminuir la prevalencia del SHEO y produciendo tasas de gestación similares a las de los agonistas. Algo distintos fueron los resultados de la revisión sistemática realizada por Al-Inani y cols (20), en la que se observó significativamente menos embarazos en los ciclos tratados con GnRHant (OR 0,79; 95% IC 0,63 – 0,99).

Respecto a las tasas de gestación obtenidas, resulta interesante el estudio de Bosch y cols, en el que se evidenció que son bajas cuando se observa luteinización prematura (25,8%) mientras que son significativamente más altas (54%) cuando la luteinización no se produce (21).

Sin embargo, Check y cols, comparando los resultados, en términos de tasa de gestación, entre ciclos en los que se utilizó Ganirelix y ciclos en los que se utilizó acetato de Leu-

prolide en protocolo largo, no observaron diferencias (22). Kolibianakis y cols compararon, en un estudio prospectivo, los resultados entre dos grupos en uno de los cuales la administración de antagonista se inició el día 1 del ciclo mientras que en el otro se inició en día 6. La tasa de gestación fue similar en ambos grupos (23).

De particular interés es el estudio prospectivo desarrollado por Lainas y cols (24) en el que 78 pacientes de 18 a 39 años, diagnosticadas de SOP fueron randomizadas en dos grupos: un grupo de 26 mujeres fue tratado con antagonistas desde el día 1 del ciclo y el otro, de 52 mujeres, fue tratado con agonista en protocolo largo. En ambos grupos la dosis inicial de FSHr, en el día 2 del ciclo, fue de 150 UI. Las tasas de gestación clínica fueron 57,7% en el grupo de antagonistas y 61,5% en el grupo de agonistas; las tasas de síndrome de hiperestimulación ovárica moderado/severo fueron, respectivamente, 11,4% y 38,46%. Aunque superiores, estos resultados son concordantes con los observados en el presente estudio.

Como ha sido señalado en la introducción, el síndrome de hiperestimulación ovárica es la complicación más temible de la estimulación ovárica con gonadotrofinas para FIV. Potencialmente mortal, evitarlo ha sido una preocupación constante, desde que se inició la práctica de la FIV.

No es éste el marco adecuado para tratar de este síndrome. Basta señalar que está en relación con la intensidad y persistencia de la acción de hCG y la masa de células granulosas luteinizadas, que las mujeres diagnosticadas de SOP y aquéllas cuyo nivel de estradiol circulante supera los 4.000pg/mL antes de hCG son población que muestra un incremento del riesgo de desarrollar este síndrome tras FIV, como señalaron Navot y cols tras realizar una revisión de la literatura internacional (25) y Delvigne y cols tras analizar los resultados de un estudio multicéntrico en Bélgica (26). En este mismo trabajo, estos autores afirmaron que la mejor forma de prevenir el desarrollo de este síndrome es suspender el tratamiento, no administrando hCG.

Al margen de otras consideraciones, las consecuencias más directas del síndrome de hiperestimulación ovárica y de la prevención del mismo son la incidencia del síndrome y la cancelación de tratamientos como forma de prevenirlo.

En el presente estudio fueron cancelados por riesgo de hiperestimulación 2 ciclos en el grupo de antagonistas (1,6%) y 21 en el grupo de agonistas (13,3%), siendo la diferencia observada estadísticamente significativa.

Por otra parte, en el grupo de antagonistas se produjo una hiperestimulación leve (0,95%) que requirió 4 días de ingreso hospitalario, mientras que en el grupo de agonistas se produjeron 5 ingresos hospitalarios por síndrome de hiperestimulación (2,4%) que requirieron estancias marcadas

mente más prolongadas.

Salat-Baroux y cols afirmaron que el empleo de agonistas de GnRH no disminuye la frecuencia de desarrollo del síndrome de hiperestimulación ovárica (27); muy al contrario, probablemente porque la utilización de agonistas induce un aumento del reclutamiento folicular (28), se comprobó, en estudios prospectivos y randomizados que, si bien disminuye la tasa de cancelación, incrementa la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica (29). Otros estudios como los del grupo de Mancini promueven una combinación de antagonistas y agonistas para evitar el SHO severo (30)

Por el contrario, se comprobó que la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica se ve disminuido cuando la estimulación con gonadotropinas para FIV se realiza bajo supresión hipofisaria con antagonistas (17, 31).

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los observados previamente en la literatura (17), con la particularidad de que todas las pacientes incluidas en el mismo habían sido previamente diagnosticadas de SOP (9). En concreto, la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica en el grupo de antagonistas fue del 0,9%, muy similar a la observada por Felberbaum y cols (8), que fue del 0,6%, con la particularidad de que, en su estudio, se trataba de mujeres de función ovárica normal.

En definitiva, del estudio presentado se concluye que la estimulación de mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos con FSHr bajo bloqueo hipofisario con un antagonista de GnRH administrado simultáneamente a la FSHr representa un protocolo eficaz que proporciona tasas de gestación e implantación similares al bloqueo hipofisario con agonistas en protocolo largo. Este protocolo disminuye las cancelaciones por riesgo de hiperestimulación ovárica como consecuencia del tratamiento respecto a los protocolos en que se utiliza agonista en protocolo largo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Mahutte N, A A. Role of gonadotropin-releasing hormone antagonists in poor respon y las características seminales de las parejas según criterios de la OMSders. *Fertil Steril*. 2007;87:241 - 9.
2. Martin K, Hall J, Adams J, Cronley WJr. Comparison of exogenous gonadotropins and pulsatile GnRH for induction of ovulation in hypogonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril*. 1993;63:729-33.
3. Elkind-Hirsch K, Webster B, Brown C, Vernon M. Concurrent ganirelix and follitropin beta therapy is an effective and safe regimen for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2003;Mar;79(3):603-7.
4. Hwang J, Seow K, Lin Y, Huang L, Hsieh B, Tsai Y, et al. Ovarian stimulation by concomitant administration of cetrorelix acetate and HMG following Diane-35 pre-treatment for patients with polycystic ovary syndrome: a prospective randomized study. *Hum Reprod*. 2004;19:1993 - 2000.
5. Kolibianakis E, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist on day 1 as compared to day 6 of stimulation: effect on hormonal levels and follicular development in in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;Dec;88(12):5632-7.
6. Willis D, Watson H, Mason H, Galea R, Brincat M, Franks S. Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:3984-91.
7. Kolibianakis E, Albano C, Kahn J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A. Exposure to high levels of luteinizing hormone and estradiol in the early follicular phase of gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles is associated with a reduced chance of pregnancy. *Fertil Steril*. 2003;79:873-80.
8. Felberbaum R, Albano C, Ludwig M, Riethmüller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, et al. Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study. *Hum Reprod*. 2000;15:1015 - 20.
9. Ludwig M, Felberbaum R, Devroey P, Albano C, Riethmüller-Winzen H, Schüller A, et al. Significant reduction of the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by using the LHRH antagonist Cetrorelix (Cetrotide) in controlled ovarian stimulation for assisted reproduction. *Arch Gynecol Obstet*. 2000;Jul;264(1):29-32.
10. Doldi N, Persico P, Di Sebastiano F, Marsiglio E, Ferrari A. Gonadotropin-releasing hormone antagonist and metformin for treatment of polycystic ovary syndrome patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol*. 2006;22:235 - 8.
11. Moraloglu O, Kilic S, Karayalçin R, Yuksel B, Tasdemir N, Işik A, et al. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normoresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. *Adv Ther*. 2008;25(3):266-73.
12. Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hasani S, Reissmann T, et al. Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-relea-

- sing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 1994; May;9(5):788-91.
13. Albano C, Felberbaum R, Smitz J, Riethmüller-Winzen, Engel J, Diedrich K, et al. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. *Hum reprod.* 2000;15:526 - 31.
  14. Borm G, Mannaerts B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum Reprod.* 2000;15:1490 - 8.
  15. Vlasisavljevic V, Reljic M, Lovrec V, Kovacic B. Comparable effectiveness using flexible single-dose GnRH antagonist (cetrorelix) and single-dose long GnRH agonist (goserelin) protocol for IVF cycles--a prospective, randomized study. *Reprod Biomed Online.* 2003;7:301 - 8.
  16. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, de Ziegler D, Taieb J, Selva J, et al. The single or dual administration of the gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril.* 1994;62:468 - 76.
  17. Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire J, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, et al. Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril.* 2000;73:314 - 20.
  18. Akman M, Erden H, Tosun S, 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 - 70.
  19. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. *Meta-analysis. Arch Gynecol Obstet.* 2001; Nov;265(4):175-82.
  20. Al-Inany H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G. Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol. *Reprod BioMed Online.* 2005;10: 567-70.
  21. Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2003;80:1444 - 9.
  22. Check M, Check J, Choel J, Davies E, Kiefer D. Effect of antagonists vs agonists on in vitro fertilization outcome. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2003;31:257 - 9.
  23. Kolibianakis E, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist on day 1 as compared to day 6 of stimulation: effect on hormonal levels and follicular development in in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:5632 - 7.
  24. Lainas T, Petsas G, Zorzovilis I, Iliadis G, Lainas G, Cazarlis H, et al. Initiation of GnRH antagonist on Day 1 of stimulation as compared to the long agonist protocol in PCOS patients. A randomized controlled trial: effect of hormonal levels and follicular development. *Hum Reprod.* 2007;22(6):1540-46.
  25. Navot D, Bergh P, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril.* 1992;58:249 - 61.
  26. Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update.* 2002;8:559-77.
  27. Salat-Baroux J, Alvarez S, Antoine J, Cornet D, Tibi C, Plachot M, et al. Results of IVF in the treatment of polycystic ovary disease. *Hum Reprod.* 1988;3:331 - 3.
  28. Sathanandan M, Warnes G, Kirby C, et al. Adjuvant leuprolide in normal, abnormal and poor responders to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization/gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril.* 1989;51:998 - 1006.
  29. Smitz J, Ron-El R, Tarlatzis B. The use of gonadotrophin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization and other assisted procreation techniques: experience from three centres. *Hum Reprod.* 1992;7(suppl 1):49-66.
  30. Martínez, F; Rodrigues, DB; Buxaderas R, Mancini F, Coroleu B. GnRH antagonist rescue of a long-protocol IVF cycle and GnRH agonist trigger to avoid ovarian hyperstimulation syndrome: three case reports. *Fertil Steril.* 2011;95:2432.
  31. Al Inany HG, Youseff MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterremburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Sys Rev.* 2011. May 11;(5):CD001750.