

## Standardowe metody stymulacji owulacji.

Indukcja owulacji, to procedura szeroko stosowana w leczeniu niepłodności. Polega na kontrolowanej stymulacji jajczkowania w celu zwiększenia szansy na zapłodnienie lub pozyskania komórek jajowych do przeprowadzenia zabiegu IVF.

Niepłodność kobieca nawet w 40% może być spowodowana zaburzeniami owulacji[1]. Współczesne metody stymulacji jajników są bardzo skuteczne, więc jeśli brak owulacji jest jedyną przyczyną trudności z zapłodnieniem, to zastosowanie tego typu terapii rokuje bardzo dobrze. Co więcej jeżeli przyczyna tego zaburzenia poddaje się leczeniu, to za pomocą indukcji owulacji można uzyskać częstość ciąż porównywalną z obserwowaną w zdrowej populacji[2].

Przed podjęciem tego typu terapii u pacjentki należy wdrożyć odpowiednie postępowanie diagnostyczne w celu potwierdzenia braku lub zaburzeń jajczkowania. Istotnych informacji może dostarczyć wywiad. Należy zwrócić uwagę na regularność cyklu miesięcznego, charakter śluzu szyjkowego, objawy dodatkowe w postaci bólu podbrzusza około 16 – 14 dni przed miesiączką. Zgodnie ze stanowiskiem ESHRE spośród wszystkich badań hormonalnych tylko oznaczenie progesteronu w środkowej fazie lutealnej wnosi informacje, czy cykl jest owulacyjny. Inne badania takie jak: metody wykrywania piku LH, badania śluzu szyjkowego, pomiary podstawowej temperatury mają niską czułość i specyficzność. Jeżeli pacjentka miesiączkuje regularnie co 28 dni, określa się stężenie progesteronu we krwi w 21 dniu cyklu, jeśli długość cyklu pacjentki jest inna (25-35 dni), należy sprawdzić stężenie progesteronu na około tydzień przed spodziewanym początkiem miesiączki, czyli w okresie szczytowego lub oscylującego wokół szczytowego stężenia hormonu[3]. Stężenie wyższe od 30 nmol/l świadczy o dokonaniu owulacji w tym cyklu. Natomiast poziom progesteronu poniżej 3 ng/ml wskazuje zazwyczaj na brak owulacji. Wyjątkiem są sytuacje, gdy oznaczenie wykonano bezpośrednio po jajczkowaniu lub tuż przed miesiączką, kiedy stężenia tego hormonu są niskie fizjologicznie[4].

Brak owulacji może być wywołwany przez szereg schorzeń, których odpowiednia terapia jest bardziej właściwym postępowaniem niż farmakologiczna indukcja owulacji. Nieprawidłowa funkcja jajników może być wynikiem schorzeń tarczycy, otyłości, nadmiernej utraty masy ciała[5], intensywnego uprawiania sportu, zespołu policystycznych jajników, niewydolności układu podwzgórzowo – przysadkowego, hiperprolaktynemii. Wszystkie kobiety z brakiem owulacji powinny być poddane wstępnej diagnostyce przynajmniej pod kątem zaburzeń funkcji tarczycy i hiperprolaktynemii[6].

Przyczyny zaburzeń jajczkowania WHO dzieli na następujące grupy:

**Grupa I:** Niewydolność podwzgórzowo-przysadkowa. Do tej grupy zalicza się pacjentki z podwzgórzowym brakiem miesiączki z powodu stresu, utraty masy ciała, nasilonych ćwiczeń fizycznych, jadłowstrętu psychicznego i wariantów tej choroby, zespołu Kallmanna oraz izolowanego niedoboru gonadotropin. Nie należą tu pacjentki z guzem podwzgórza lub przysadki. U kobiet tych typowo stwierdza się hipogonadyzm hipogonadotropowy z niskimi stężeniami folitropiny (FSH) i estrogenów oraz prawidłowymi stężeniami prolaktyny.

**Grupa II:** Zaburzenia czynności osi podwzgórzowo-przysadkowej. Grupa ta obejmuje kobiety z brakiem miesiączki lub rzadkim miesiączkowaniem, z cechami hiperandrogenizmu lub bez niego oraz kobiety z zespołem policystycznych jajników. Stężenia FSH, estrogenów i prolaktyny są u tych chorych prawidłowe.

**Grupa III:** Niewydolność jajników. W tej grupie znajdują się pacjentki bez miesiączki i z wysokim stężeniem FSH w surowicy wskazującym na niewydolność jajników[6][7].

Grupy leków stosowane w stymulacji owulacji:

### 1. Cytrynian klomifenu – antagonistą estrogenów

Cząsteczki tego leku łączą się długotrwale z receptorami dla estrogenów. Zablokowane w ten sposób receptory nie są

pobudzane przez krążące we krwi estrogeny. Podwzgórze odczytuje to jako sygnał niskiego stężenia tych hormonów i na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego zaczyna być stymulowane do wydzielania większej ilości gonadoliberyn. Badania kliniczne u kobiet niejajeczkujących wykazały 80% skuteczność leku w zakresie indukcji owulacji oraz 50% skuteczność w zakresie uzyskania ciąży wśród pacjentek, u których owulacja została wyindukowana [8][9].

Klomifen jest lekiem z wyboru u niejajeczkujących nieplodnych kobiet z prawidłową funkcją tarczycy, prawidłowymi stężeniami prolaktyny w surowicy krwi i bez mlekotoku, u których istnieją dowody na endogenną sekrecję estrogenów w postaci objawów klinicznych. Nie wykazuje on natomiast skuteczności u kobiet z hipogonadyzmem hipogonadotropowym (grupa I wgWHO). Nie ma podstaw przypuszczać, że indukowany przez klomifen spadek stężenia estrogenów aktywuje mechanizm ujemnego sprzężenia zwrotnego, skoro występujące u tych chorych niskie stężenia estrogenów nie wywierają takiego efektu. U tych kobiet stosuje się zazwyczaj inny sposób leczenia polegający na bezpośredniej stymulacji przysadki (GnRH egzogennym podawanym pulsacyjnie) lub jajników (gonadotropiny egzogenne). Uzasadnione jest stosowanie cytrynianu klomifenu u pacjentek z niewydolnością fazy lutealnej. Krótka faza lutealna będąca najpoważniejszym z tej grupy zaburzeniem jest związana z nieprawidłowo niskimi stężeniami FSH w fazie folikularnej. Cytrynian klomifenu powoduje wzrost FSH. Dlatego jest lekiem z wyboru u tych pacjentek[10][11]. Dodatkowo po zastosowaniu klomifenu stężenia progesteronu są wyższe niż w cyklach spontanicznych, prawdopodobnie w wyniku optymalizacji rozwoju pęcherzyków, a także z powodu powstania więcej niż jednego ciała żółtego[12][13]. Kobiety młode, z krótkim okresem nieplodności o nieznaną przyczynę oraz te, które nie akceptują bardziej agresywnej terapii lub jest ona u nich niewskazana, również mogą mieć przeprowadzoną stymulację przy użyciu cytrynianu klomifenu. Jego skuteczność u kobiet z niewyjaśnioną przyczyną nieplodności może wynikać z korekcji nierozpoznanej niewydolności fazy lutealnej lub powodowania „superowulacji” w wyniku uwalniania więcej niż jednej komórki jajowej[13][14]. Empiryczna terapia klomifenem jest najskuteczniejsza w połączeniu z inseminacją wewnątrzmaciczną (IUI, intrauterine insemination) pozwalającą zwiększyć liczbę zarówno komórek jajowych, jak i plemników[15][16].

Cytrynian klomifenu stosuje się najczęściej od 2 lub 3 dnia cyklu przez 5 dni w dawce od 50 do 150 mg/dobę. Dawka klomifenu potrzebna do indukcji owulacji koreluje z masą ciała.

Klomifen jest zazwyczaj stosowany przez 4-5 cykli. Jeśli w tym czasie pacjentka nie zajdzie w ciążę, należy rozważyć zastosowanie gonadotropin.

Jeżeli cykl jest stymulowany przed planowaną inseminacją domaciczną (IUI), to po osiągnięciu cech dojrzałości przez wzrastające pęcherzyki powinien być sprowokowany farmakologiczny pik owulacyjny – jednorazowa iniekcja domięśniowa od 5000 do 10000 IU hCG ok. 36 godzin przed zabiegiem.

Indukcja cytrynianem klomifenu wymaga monitorowania. Seryjnie wykonywana ultrasonografia przezpochwowa umożliwia uwidocznienie wielkości i liczby rozwijających się pęcherzyków oraz dostarcza dowodu na przypuszczalną owulację[17]. Kontrolne badanie ultrasonograficzne oraz ocena śluzu szyjkowego powinno być wykonane w 10 - 12 dniu cyklu.

W prawidłowo dobranej grupie klomifen skutecznie indukuje owulację u około 80% pacjentek[9]. Prawdopodobieństwo powodzenia terapii obniża się wraz z wiekiem, wskaźnikiem masy ciała (BMI) i nasileniem towarzyszącego hiperandrogenizmu. Wśród kobiet z brakiem jajczkowania, u których dochodzi do owulacji w odpowiedzi na leczenie klomifenem, wskaźnik ciąż wynosi około 15% na cykl. U kobiet bez innych czynników nieplodności wskaźnik ten sięga 22%, co jest porównywalne z częstością obserwowaną u płodnych par[9].

Działanie uboczne cytrynianu klomifenu – to: uderzenia gorąca, poty nocne, tkliwość piersi, bóle głowy, zmiany nastroju, uczucie ucisku lub ból w podbrzuszu oraz nudności, wymioty. Zaburzenia widzenia (nieostre lub podwójne widzenie, mroczki przed oczami, nadwrażliwość na światło) są rzadkie (u mniej niż 2% pacjentek).

Powikłaniami przy stosowaniu tego preparatu mogą być ciążę mnogie (ryzyko wzrasta do około 5-8%[18][19]) i zespół hyperstymulacji jajników. Hyperstymulacja jajników jest obserwowana rzadziej niż przy użyciu gonadotropin, a jeżeli

występuje, to w postaci łagodnej. Nie ma istotnych dowodów wskazujących na to, że leczenie klomifenem zwiększa ryzyko ogólne wad wrodzonych lub też ryzyko powstania jakiegś szczególnej wady[20]. Liczba poronień nie różni się od tych obserwowanych w ciążyach samoistnych[21]. Metaanaliza wyników ośmiu badań kliniczno-kontrolych wykazała, że terapia nieródek lekami stosowanymi w niepłodności wiąże się z niewielkim wzrostem częstości występowania surowicznych guzów o granicznej złośliwości, ale nie raków inwazyjnych[22]. Nie znaleziono dowodów na zwiększenie całkowitego ryzyka raka sutka u kobiet, które przyjmowały cytrynian klomifenu [23][24][25].

## 2. Egzogenne gonadotropiny

Indukcję owulacji za pomocą egzogennych gonadotropin należy rozważyć u pacjentek z hipogonadyzmem hipogonadotropowym (podwzgórzowy brak miesiączki, grupa I wg klasyfikacji WHO). W tym przypadku klomifen i leki pokrewne są nieskuteczne, gdyż dla ich działania konieczna jest zachowana i prawidłowo funkcjonująca oś podwzgórze-przysadka-jajnik. Kobiety z wtórnym hipogonadyzmem hipogonadotropowym związanym z hiperprolaktynemią, które nie tolerują antagonistów dopaminy, również stają się kandydatkami do terapii za pomocą gonadotropin. Podobnie u pacjentek, u których nie udało się wywołać owulacji za pomocą cytrynianu klomifenu, również istnieje wskazanie do indukcji gonadotropinami. Mogą one być również stosowane w celu pobudzenia rozwoju i owulacji więcej niż jednej dojrzałej komórki jajowej, aby zwiększyć szanse zajścia w ciążę starszych kobiet z ograniczoną płodnością i pacjentek z niepłodnością niewyjaśnioną innymi przyczynami. Superowulacja jest najskuteczniejsza w połączeniu z dobrze zaplanowaną czasowo inseminacją wewnątrzmaciczną[26]

Leki te są silnie działające i wysoce skuteczne. Leczenie nimi jest jednak bardzo drogie. Stosowanie ich wiąże się ze znacznym ryzykiem ciąży mnogiej i zespołu hiperstymulacji jajników. Dlatego aby wywołać owulację, ale jednocześnie zminimalizować to ryzyko, leczenie gonadotropinami musi być dokładnie monitorowane za pomocą seryjnych oznaczeń stężenia estradiolu w surowicy i ultrasonograficznej oceny jajników.

Zalecane są dwa główne sposoby podawania gonadotropin.

### Schemat terapii wzrastającymi dawkami.

Wskazany jest u kobiet z hipogonadyzmem hipogonadotropowym (grupa I wg WHO), jak i u kobiet z brakiem jajczkowania opornym na klomifen (grupa II wg WHO). Zgodnie z tym schematem indukcję owulacji powinno się rozpoczynać od niskich dawek dobowych (75 IU). Metoda ta pozwala określić skuteczny próg odpowiedzi. W czasie jej stosowania monitoruje się stężenie estradiolu we krwi oraz ultrasonograficznie ocenia się liczbę i wielkość wzrastających pęcherzyków jajnikowych. Następnie, zależnie od potrzeb, dawkę gonadotropin można utrzymać lub zwiększyć.

Kobiety z zespołem policystycznych jajników są często szczególnie wrażliwe na stymulację niskimi dawkami gonadotropin. Dlatego rozsądne jest wczesne i częste monitorowanie terapii. Z kolei kobiety wykazujące oporność na insulinę mogą być mniej wrażliwe na stymulację niż kobiety bez insulinooporności[27]. Leczenie metforminą przed stymulacją gonadotropinami i podczas jej trwania pomaga poprawić odpowiedź, zmniejszyć liczbę rozwijających się mniejszych pęcherzyków jajnikowych[28] i obniżyć prawdopodobieństwo przerwania cyklu terapeutycznego z powodu nadmiernej stymulacji.

### Schemat terapii malejącymi dawkami.

Leczenie rozpoczyna się od wyższych dawek (150-225 IU na dobę), które są stopniowo zmniejszane, aby promować rozwój jedynie najbardziej wrażliwego pęcherzyka dominującego i pozbawić stymulacji mniej wrażliwe mniejsze pęcherzyki w kohorcie. Tę metodę terapii najlepiej zastosować dopiero po ustaleniu progu odpowiedzi w jednym lub więcej z poprzednich stymulowanych cykli.

Te dwa schematy leczenia mogą być skutecznie połączone, początkowo poprzez stopniowe zwiększanie dawek gonadotropin aż do momentu zaobserwowania odpowiedzi, a następnie poprzez zmniejszanie dawek do pojawienia się pęcherzyka dominującego[29].

U kobiet z hipogonadyzmem hipogonadotropowym wskaźnik ciąży na cykl wynosi w przybliżeniu 25%, czyli jest równy lub większy niż u kobiet z prawidłową płodnością. Łączny wskaźnik ciąży po przeprowadzeniu do sześciu cykli stymulacji gonadotropinami osiąga 90%[30].

Całkowita częstość samoistnych poronień w ciążach po cyklach indukowanych gonadotropinami wynosi około 20-25%[30], czyli jest umiarkowanie większa niż zazwyczaj obserwowana klinicznie(15%).

Podobnie jak w przypadku klomifenu, nie ma dowodów na częstsze występowanie wad wrodzonych w związku z terapią gonadotropinami[31].

## **Zespół hiperstymulacji jajników.**

Łagodna hiperstymulacja jajników (przejściowy dyskomfort w jamie brzusznej, niewielkie nudności, wymioty, biegunka i powiększenie obwodu brzucha) nie jest rzadka, ale wymaga jedynie postępowania wyczekującego. Jeżeli indukcja owulacji prowadzona jest zgodnie z zaleceniem, wzrastającymi dawkami - pozwala to ustalić najmniejszą skuteczną dawkę - ryzyko ciężkiego zespołu hiperstymulacji (masywne powiększenie jajników, narastająca masa ciała, silny ból w jamie brzusznej, niepohamowane nudności i wymioty, duże wodobrzusze, oliguria) jest niewielkie. Jeśli jednak wystąpi - należy poważnie rozważyć hospitalizację umożliwiającą dokładniejsze monitorowanie i bardziej agresywne leczenie.

Czynniki ryzyka zespołu hiperstymulacji jajników stanowią: młody wiek, niska masa ciała, zespół policystycznych jajników, wyższe dawki gonadotropin i wcześniejsze epizody hiperstymulacji[32][33][34]. Ryzyko zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia estradiolu i liczbą rozwijających się pęcherzyków jajnikowych oraz po zastosowaniu dodatkowo dawek hCG po owulacji w celu wspomagania fazy lutealnej[35][36].

Nie ustalono związku przyczynowego pomiędzy leczeniem egzogennymi gonadotropinami a rakiem sutka lub rakiem jajnika, jednak, gdy szansa powodzenia jest mała, lepiej unikać długiego stosowania gonadotropin[36].

## **3. Gonadoliberyny**

Niewydolność układu podwzgórzowego przy zachowaniu wrażliwości przysadki na gonadoliberyny (GnRH) jest głównym wskazaniem do stymulacji owulacji przy użyciu GnRH. Podłączona na stałe pompa uwalnia pulsacyjnie GnRH, naśladując tym cykl wydzielania występujący u zdrowych kobiet. W konsekwencji osiągane poziomy gonadotropin przysadkowych odpowiadają poziomom występującym fizjologicznie. Dzięki temu możliwa jest też prawidłowa regulacja mechanizmu sprzężeń zwrotnych poprzez działanie steroidów jajnikowych i peptydów. W konsekwencji rekrutacja, selekcja, wzrastanie i dojrzewanie pęcherzyków przebiega tak jak w prawidłowym cyklu miesięczkowym [37][38].

Ze względu na małe ryzyko wystąpienia zespołu hiperstymulacyjnego nie jest konieczne monitorowanie stymulacji. Kontrola ewentualnego efektu powinna być prowadzona przy użyciu badania ultrasonograficznego i stężenia estradiolu w surowicy krwi.

Najlepszymi kandydatkami do indukcji owulacji za pomocą egzogennego GnRH są nieplodne kobiety z brakiem jajczkowania i hipogonadyzmem hipogonadotropowym, gdyż w ich przypadku takie leczenie jest swoiste, fizjologiczne i bardzo skuteczne. Podawanie GnRH w pompie infuzyjnej jest również skuteczne u kobiet z hiperprolaktynemią i stanowi alternatywę dla egzogennych gonadotropin w przypadku niepowodzenia lub nietolerancji leczenia agonistami dopaminy.

Odpowiedź hormonalna u kobiet z zespołem policystycznych jajników na pulsacyjne podawanie GnRH jest wyraźnie nieprawidłowa. Możliwe jest uzyskanie normalizacji poprzez codzienne podskórne iniekcje długodziałających agonistów GnRH. Leczenie należy zastosować w czasie 6-8 tygodni poprzedzających planowaną terapię gonadoliberynami[38][39][40].

Bardzo dużą zaletą tej metody jest rzadkie powodowanie rozwoju i owulacji wielu pęcherzyków. Dlatego też ryzyko ciąży mnogiej jest znacznie niższe, a ryzyko hiperstymulacji jajników niemal całkowicie wyeliminowane.

#### 4. Indukcja owulacji za pomocą agonistów dopaminy

Hiperprolaktynemia jest czwartą swoistą jednostką chorobową związaną z brakiem owulacji. Prolaktyna wywiera hamujący wpływ na pulsacyjne wydzielanie GnRH. Agoniści dopaminy hamują wydzielanie prolaktyny przez przysadkę, a co za tym idzie przywracają prawidłową pracę osi podwzgórze-przysadka-jajnik. Leki te wykazują skuteczność niezależnie od źródła prolaktyny, gdyż nawet wydzielające ją gruczolaki przysadki są wrażliwe na ich działanie[41].

Leczenie agonistami dopaminy normalizuje i utrzymuje prawidłowe stężenie prolaktyny u około 60- 85% kobiet z hiperprolaktynemią. Prawidłowe cykle miesięczne powracają u 70-90% pacjentek zazwyczaj po 6-8 tygodniach od rozpoczęcia leczenia, a cykle owulacyjne powracają u 50-75% leczonych kobiet, niezależnie od obecności gruczolaka przysadki[42][43]. Jednak nawet do 12% kobiet poddawanych tej terapii rezygnuje z niej z powodu występujących działań niepożądanych.[43]

#### 5. Metformina

Insulinooporność i hiperinsulinemię uważane są obecnie za podstawowe zaburzenia występujące u pacjentek z zespołem policystycznych jajników. Przyczyniają się one istotnie do hiperandrogenizmu i przewlekłego braku owulacji, charakteryzujących ten zespół. Niepłodne kobiety bez jajczkowania, u których występuje zespół policystycznych jajników i hiperinsulinemia, są zazwyczaj bardziej odporne na leczenie klomifenem. Zmniejszenie oporności na insulinę poprzez zmniejszenie masy ciała czy stosowanie metforminy znacznie zmniejsza oporność pacjentek na działanie klomifenu.

U otyłych niepłodnych kobiet z brakiem jajczkowania w zespole policystycznych jajników samo zmniejszenie masy ciała (o 5% lub więcej) obniża hiperinsulinemię i hiperandrogenizm, przywracając często cykle owulacyjne.[44][45][46][47]

Skojarzone leczenie metforminą i klomifenem pozwala uzyskać owulację 4-9 razy częściej niż stosowanie samego klomifenu i często prowadzi do indukcji owulacji w przypadkach niepowodzenia monoterapii klomifenem.[48] Ogólnie u 70-90% kobiet niejajczkujących w zespole policystycznych jajników, leczonych metforminą, dochodzi do owulacji samoistnie lub po dodatkowym zastosowaniu klomifenu.[47][48]

**6. Laparoskopowa kauteryzacja jajników** jest racjonalną opcją terapeutyczną dla niepłodnych kobiet niejajczkujących opornych na klomifen, ale przemijające efekty leczenia, ryzyko powstania zrostów pooperacyjnych oraz teoretyczne ryzyko niekorzystnego wpływu na rezerwę jajnikową stwarzają konieczność przeprowadzenia szczegółowej analizy. Najlepiej jest zarezerwować tę procedurę dla kobiet, które nie mogą lub nie chcą zaakceptować kosztów i ryzyka związanych z terapią gonadotropinami. W każdym przypadku należy przeprowadzać zabieg z maksymalnym oszczędzaniem komórek jajowych.

**Autor:** lek. med. Magdalena Kaszuba-Modrzejewska, prof. dr hab. n. med. Krzysztof Łukaszuk, Kierownik Klinik Leczenia Niepłodności INVICTA

#### Bibliografia:

1. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM, Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. Br Med J (Clin Res Ed) 291:1693, 1985
2. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Seventh edition, 1371
3. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Seventh edition 1372
4. Huang K-E, The primary treatment of luteal phase inadequacy: progesterone versus clomiphene citrate, Am J Obstet Gynecol 155:824, 1986.
5. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW, Body mass index and ovulatory infertility, Epidemiologia 5:247, 1994.
6. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Seventh edition 1373
7. World Health Organization Scientific Group, Agents stimulating gonadal function in the human, Report No. 514, 1976.
8. Greenblatt RB, Barfield WE, Jugck EC, Ray AW, Induction of ovulation with MRI741, preliminary report, JAMA 178:255, 1961.



9. Imani B, Eijkemans MJC, te Velde ER, Habbema JDF, Fauser BCJM, Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhic infertility, *J Clin Endocrinol Metab* 83:2361, 1998.
10. Ouagliarello J, Weiss G, Clomiphene citrate in the management of infertility associated with shortened luteal phases, *Fertil Steril* 31:373, 1979.
11. Murray DL, Reich L, Adashi EY, Oral clomiphene citrate and vaginal progesterone suppositories in the treatment of luteal phase dysfunction; a comparative study, *Fertil Steril* 51:35, 1989.
12. Guzick DS, Zeleznik A, Efficacy of clomiphene citrate in the treatment of luteal phase deficiency: quantity versus quality of preovulatory follicles, *Fertil Steril* 54:206, 1990.
13. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Seventh edition 1376
14. Meyer WR, Fritz MA, Empiric clomiphene treatment: when and why, *Contemp OB/GYN* 40:13, 1995.
15. Deaton JL, Gibson M, Blackmer KM, Nakajima ST, Badger GJ, Brumsted JR, A randomized, controlled trial of clomiphene citrate and intrauterine insemination in couples with unexplained infertility or surgically corrected endometriosis, *Fertil Steril* 54:1083, 1990.
16. Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Steinkampf MP, Efficacy of treatment for unexplained infertility, *Fertil Steril* 70:207, 1998.
17. Ecochard R, Marret H, Rabilloud M, Bradai R, Boehringer H, Giroto S, Barbato M, Sensitivity and specificity of ultrasound indices of ovulation in spontaneous cycles, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 91:59, 2000.
18. Correy JF, Marsden DE, Schokman FC, The outcome of pregnancy resulting from clomiphene-induced ovulation, *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 22:18, 1982.
19. Schenker JG, Yarkoni S, Granat M, Multiple pregnancies following induction of ovulation, *Fertil Steril* 35:105, 1981.
20. Whiteman D, Murphy M, Hey K, O'Donnell M, Goldacre M, Reproductive factors, subfertility, and risk of neural tube defects: a case-control study based on the Oxford Record Linkage Study Register, *Am J Epidemiol* 152:823, 2000.
21. Dickey RP, Taylor SN, Cuore DN, Rye PH, Pyrzak R, Incidence of spontaneous abortion in clomiphene pregnancies. *Hum Reprod* 11:2623, 1996.
22. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT, Kjaer SK, Mallin K, Mosgaard BJ, Purdie DM, Risch HA, Vergona R, Wu AH, Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies, *Am J Epidemiol* 155:217, 2002.
23. Venn A, Watson L, Lumley J, Giles G, King C, Healy D, Breast and ovarian cancer incidence after infertility and in vitro fertilisation, *Lancet* 346:995, 1995.
24. Venn A, Watson L, Bruinsma F, Giles G, Healy D, Risk of cancer after use of fertility drugs with in-vitro fertilisation, *Lancet* 354:1586, 1999.
25. Ricci E, Parazzini F, Negri E, Marsico S, La Vecchia C, Fertility drugs and the risk of breast cancer, *Hum Reprod* 14:1653, 1999.
26. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Seventh edition 1392
27. Dale PO, Tanbo T, Haug E, Abyholm T, The impact of insulin resistance on the outcome of ovulation induction with low-dose follicle stimulating hormone in women with polycystic ovary syndrome, *Hum Reprod* 13:567, 1998.
28. De Leo V, la Marca A, Ditto A, Morgante G, Cianci A, Effects of metformin on gonadotropin-induced ovulation in women with polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril* 72:282, 1999.
29. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Seventh edition 1394
30. Fluker MR, Urman B, MacKinnon M, Barrow SR, Pride SM, Ho Yuen B, Exogenous gonadotropin therapy in World Health Organization Groups I and II ovulatory disorders, *Obstet Gynecol* 83:189, 1994.
31. Shoham Z, Zosmer A, Insler V, Early miscarriage and fetal malformations after induction of ovulation (by clomiphene citrate and/or human menopausal gonadotropins), in vitro fertilization, and gamete intrafallopian transfer, *Fertil Steril* 55:1, 1991.
32. Navot D, Relou A, Birkenfeld A, Rabinowitz R, Brzeziński A, Margalioth EJ, Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome, *Am J Obstet Gynecol* 159:210, 1988.
33. Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E, Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review, *Obstet Gynecol Surv* 44:430, 1989.
34. Buyalos RP, Lee CT, Polycystic ovary syndrome: pathophysiology and outcome with in vitro fertilization, *Fertil Steril* 65:1, 1996.

35. Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brannstrom M, Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 71:808, 1999.
36. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Seventh edition 1402
37. Crowley WF, Jr., Filicori M, Spratt DI, Santora NF, The physiology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women, *Recent Prog Horm Res* 41:473, 1985.
38. Filicori M, Flamigni C, Merigiola MC, Cognigni G, Valdiserri A, Ferrari P, Campaniello E, Ovulation induction with pulsatile gonadotropin-releasing hormone: technical modalities and clinical perspectives, *Fertil Steril* 56:1, 1991.
39. Filicori M, Flamigni C, Dellai P, Cognigni G, Michelacci L, Arnone R, Sambataro M, Falbo A, Treatment of anovulation with pulsatile gonadotropin-releasing hormone: prognostic factors and clinical results in 600 cycles, *J Clin Endocrinol Metab* 79:1215, 1994.
40. Filicori M, Campaniello E, Michelacci L, Pareschi A, Ferrari P, Boelli G, Flamigni C, Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analog suppression renders polycystic ovarian disease patients more susceptible to ovulation induction with pulsatile GnRH, *J Clin Endocrinol Metab* 66:327, 1988.
41. Friedman E, Adams EF, Hóóg A, Gejman PV, Carson E, Larsson C, De Marco L, Werner S, Fahlbusch R, Nordenskjöld M, Normal structural dopamine type 2 receptor gene in prolactin-secreting and other pituitary tumors, *J Clin Endocrinol Metab* 78:568, 1994.
42. Cuellar FG, Bromocriptine mesylate (Parlodel) in the management of amenorrhea/galactorrhea associated with hyperprolactinemia, *Obstet Gynecol* 55:278, 1980.
43. Webster J, Piscitelli G, Poili A, Ferrari CI, Ismail I, Scanlon MF, for the Cabergoline Comparative Study Group, A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea, *New Engl J Med* 331:904, 1994.
44. 111. Pasquali R, Antenucci D, Casimirri F, Venturoli S, Paradisi R, Fabbri R, Balestra V, Melchiondra N, Barbara L, Clinical and hormonal characteristics of obese amenorrheic hyperandrogenic women before and after weight loss, *J Clin Endocrinol Metab* 68:173, 1989.
45. 117. Clark AM, Ledger W, Galletly C, Tomlinson L, Blaney F, Wang X, Norman RJ, Weight loss results in significant improvement in pregnancy and ovulation rates in anovulatory obese women, *Hum Reprod* 10:2705, 1995.
46. 112. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Seppala M, Koistinen R, James VHT, Reed MJ, Franks S, Diet-induced changes in sex hormone binding globulin and free testosterone in women with normal or polycystic ovaries: correlation with serum insulin and insulin-like growth factor-I, *Clin Endocrinol* 31:757, 1989
47. Leon Speroff, M.D., Marc A. Fritz, MD. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Seventh edition 1385
48. 132. Lord JM, Flight IH, Norman RJ, Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis, *Br Med J* 327:951, 2003.