



مقایسه دو روش تحریک تخمک گذاری در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک مقاوم به کلومیفن در سیکل IUI با استفاده از گنادوتروپین Low-dose step-up و Step-down

سپیده پیوندی*^۱، نرگس مسلمی زاده^۲، طاهره گلبنی مقدم^۳

۱-۲- استادیار گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳- متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۵/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۲/۱

چکیده

مقدمه: کلومیفن از داروهای اصلی در درمان سندرم تخمدان پلی کیستیک است. ۲۰٪ بیماران به کلومیفن مقاوم هستند. در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک به علت افزایش حساسیت فولیکولها به گنادوتروپین ها رشد و تکامل چند فولیکول رخ می دهد که سبب سندرم OHSS و چند قلوبی می شود. هدف ما از این مطالعه تصادفی و کلینیکی مقایسه دو روش Low-dose Step-up و Step-down در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک مقاوم به کلومیفن می باشد.

روش بررسی: این مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی در سال ۸۶-۱۳۸۵ انجام شد. تعداد افراد مطالعه ۶۰ نفر بیمار خانم مبتلا به تخمدان پلی کیستیک مقاوم به درمان بود که ۳۰ خانم در گروه Low-dose Step-up و ۳۰ خانم در گروه Step-down قرار گرفتند. در روز سوم سیکل قاعدگی درمان با آمپول HMG (merional) با دوز ۷۵ واحد در روز در گروه low-dose step-up و دوز ۲۲۵ واحد در روز در گروه Step-down شروع شد. مانیتورینگ سونوگرافی در روز ۸ سیکل انجام و در صورت حضور فولیکول بزرگتر از ۱۴mm دوز دارو در گروه Low-dose Step-up ادامه و در گروه Step-down کاهش می یافت. زمانی که سایز فولیکول به ۱۸mm رسید آمپول HCG 10000 u عضلانی تزریق شده و IUI ۳۶ ساعت بعد انجام می شد.

نتایج: تعداد آمپولهای مصرفی، تعداد فولیکول >۱۴mm در روز تزریق HCG و سطح استرادیول با اختلاف معنی دار در روش Low-dose Step-up بالاتر از روش Step-down بود ($p < 0/0001$). میزان تخمک گذاری و بارداری در گروه Low-dose Step-up با تفاوت معنی دار بیشتر از گروه Step-down بود ($P < 0/0001$).

نتیجه گیری: مطالعه ما نشان داد که رژیم درمانی Low-dose Step-up با استفاده از HMG رژیم درمانی مؤثر جهت تحریک تخمک گذاری و بارداری کلینیکی است ولی از نظر رشد منوفولیکولی روش Step-down مؤثرتر و امن تر است. رشد مولتی فولیکولر در روش Low-dose Step-up بالاتر است و می توان در افراد بسیار حساس pco امکان وقوع سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) را پیش بینی کرد.

واژه های کلیدی: تخمدان پلی کیستیک - پروتکل Low-dose step-up - پروتکل Step-down

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۲۲۵۰۶۷۰-۲۲۵۰۱۵۱؛ شماره: ۰۲۲۶۳۷۵۴-۱۵۱، پست الکترونیکی: dr_peyvandi@yahoo.com

مقدمه

تخمندان پلی کیستیک یکی از شایع ترین علل نازایی در خانم‌ها است (۱). خط اول درمان استفاده از کلومیفن سیترا می‌باشد. کلومیفن سیترا در ۸۰٪ بیماران سبب تخمک گذاری می‌شود. اما بعلت اثرات آنتی استروژنیک کلومیفن بر روی آندومتر و سرویکس میزان بارداری ۴۰-۵۰٪ است. تقریباً در ۲۰٪ موارد مقاومت نسبت به کلومیفن دیده می‌شود و بیماران با حداکثر دوز درمانی کلومید ۱۵۰ mg/d تخمک گذاری نمی‌کنند. در این موارد روشهای درمانی دیگر توصیه شده است. درمانهای طبی شامل اصلاح هیپرانسولینمی با استفاده از مت فورمین، استفاده از دوز پایین گلوکورتیکوئید، استفاده از لتروزول به عنوان مهار کننده اروماتاز و استفاده از گنادوتروپین های تزریقی می‌باشد. درمان جراحی شامل لاپاروسکوپی و کوتر تخمدانها می‌باشد که نسبت به درمانهای طبی، تهاجمی تر و پرهزینه تر می‌باشد (۲). گنادوتروپین ها به تنهایی یا هم زمان با کلومید یک روش درمانی مؤثر و مفید در تحریک تخمک گذاری می‌باشند (۲). از خطرات عمده استفاده از گنادوتروپین ها وقوع سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) و حاملگی چند قلوئی است (۱،۲). بنابراین در ۱۰ سال گذشته روشهای درمانی مختلف برای کاهش میزان خطر وقوع این دو عارضه معرفی شدند از جمله این روشها تحریک تخمک گذاری به روش Low-dose Step-up و روش Step-down می‌باشد. این دو روش تحریک تخمک گذاری قبلاً تحت مطالعات مختلفی قرار گرفته اند، ولی نتایج متناقض است (۳-۷). از نظر تنوری در یک سیکل قاعدگی نرمال رشد فولیکول غالب، علیرغم کاهش سطح FSH سرمی ادامه می‌یابد. کاهش غلظت FSH در انتهای فاز فولیکولر برای ایجاد رشد منوفولیکولار ضرورت دارد (۷،۸).

در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک به علت افزایش حساسیت فولیکولها به گنادوتروپین، رشد و تکامل چند فولیکول رخ می‌دهد که عامل وقوع سندرم OHSS و چند قلوئی خواهد بود. در روش Step-up کلاسیک به علت افزایش FSH سرم در انتهای فاز فولیکولر، معمولاً بیشتر از یک فولیکول غالب وجود دارد (۲-۴).

مطالعات نشان می‌دهند افزایش استروژن سرم بیش از سطح فیزیولوژیک در حوالی تخمک گذاری بعلت اثرات تخریبی براندومترشانس لانه گزینی را کاهش می‌دهد. در روش Low-dose Step-up با افزایش تدریجی دوز گنادوتروپین ها و در روش Step-down با کاهش دوز گنادوتروپین ها از رشد مولتی فولیکولر ممانعت می‌شود (۹-۱۳). بنابراین هدف ما از این مطالعه تصادفی و کلینیکی مقایسه این دو روش تحریک تخمک گذاری در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک مقاوم به کلومیفن می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی می‌باشد که بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به تخمدان پلی کیستیک مقاوم به کلومیفن مراجعه کننده به کلینیک نازایی بیمارستان امام خمینی ساری در سال ۸۶-۱۳۸۵ صورت گرفت. حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی ۶۰ بیمار انتخاب شد (۴،۵). بیماران مورد مطالعه خانم‌های ۳۵-۱۸ ساله مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک و BMI < 30 بودند که به درمان با کلومید مقاوم بوده و به تحریک تخمک گذاری با حداکثر دوز کلومیفن ۱۵۰ mg/d پاسخ نداده بودند. تشخیص سندرم تخمدان پلی کیستیک بر اساس حضور دو علامت از سه علامت اختلال سیکل قاعدگی اولیگومنوره یا امنوره، هیرسوتیسم و معیار سونوگرافی واژینال حضور بیش از ۱۲ فولیکول ۸-۶mm در هر تخمدان و افزایش حجم استروما صورت گرفت. بیماران مبتلا به اختلالات زیر از مطالعه حذف شدند: اختلال تیروئید و پرولاکتین، مبتلایان به نازایی با علت مردانه بر اساس معیار WHO، انسداد لوله‌های فالوپ در HSG، افزایش سطح FSH روز سوم سیکل قاعدگی بیش از ۱۲ mIU/ml و وجود پاتولوژی در رحم و تخمدان.

بیماران واجد شرایط پس از کسب رضایت نامه، وارد مطالعه شدند و از نظر سن به دو گروه < ۳۰ و ۳۰-۳۵ سال، ۲۸-۳۰ BMI > و BMI < ۲۸، مدت ناباروری کمتر از ۵ سال و یا بیشتر از ۵ سال در ۸ گروه بلوک بندی شده و بطور تصادفی در دو گروه Low-dose Step-up و Step-down قرار گرفتند. در همه بیماران در روز سوم سیکل قاعدگی سونوگرافی واژینال انجام شده و در

مثبت بودن تست بارداری، ۴۸ ساعت بعد جهت ارزیابی افزایش تیتراژ، اندازه گیری تکرار می شد. در صورت افزایش تیتراژ HCG B، سونوگرافی واژینال ۵ هفته پس از تزریق آمپول HCG از نظر حضور ساک بارداری و بررسی بارداری کلینیکی انجام می شد. در بیمارانی که در روز تزریق آمپول HCG بیش از سه فولیکول بزرگتر از ۱۸mm داشتند آمپول تزریق نمی شد و سیکل متوقف می شد. برای تجزیه و تحلیل داده های متغیر کمی از (T-Test) و برای داده های کیفی در دو گروه از آزمون مربعات استفاده شده است.

نتایج

در این تحقیق که تعداد کل موارد مورد مطالعه ۶۰ نفر بوده، ۳۰ خانم در گروه Low-dose Step-up و ۳۰ خانم در گروه Step-down قرار گرفتند.

از نظر سن، BMI و طول مدت نازایی، بین دو گروه یکسان سازی انجام شده و تفاوت معنی داری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت (جدول ۱).

تعداد آمپولهای مصرفی در گروه Low-dose Step-up بیشتر بود ($6/49 \pm 20/77$ عدد) در مقابل ($17/13 \pm 4/46$ عدد) در گروه Step-down که این تفاوت معنی دار بود ($p=0/014$).

تعداد فولیکول بزرگتر از ۱۴mm در روز تزریق آمپول HCG در گروه Low-dose Step-up بیشتر بود. $4/93 \pm 2$ در گروه Low-dose Step-up در مقابل $2/7 \pm 2/53$ در گروه Step-down که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ($p=0/001$).

سطح استرادیول سرم در روش Low-dose Step-up با اختلاف معنی دار بالاتر از روش درمانی Step-down بود (763 ± 28 pg/ml) در گروه Low-dose Step-up در مقابل 33 ± 553 pg/ml در گروه Step-down ($p=0/001$).

ضخامت آندومتر در روز تزریق HCG در گروه Low-dose Step-up $11/43 \pm 1/85$ mm و در گروه Step-down $10/13 \pm 2/22$ میلی متر بوده که تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود نداشت ($p=0/19$).

در مورد طول مدت درمان با توجه به میانگین محاسبه شده $13/53$ روز در گروه Low-dose Step-up و $10/23$ روز در

صورت عدم حضور فولیکول بزرگتر از ۱۴mm سیکل درمان شروع می شد. در گروه Low-dose Step-up تحریک تخمک گذاری با گنادوتروپین (HMG-merional) با دوز ۷۵ واحد در روز شروع شد. این درمان بمدت ۵ روز ادامه داشت. در روز ۸ سیکل، سونوگرافی واژینال جهت کنترل سایز فولیکول و بررسی پاسخ تخمدان انجام شد. در صورت وجود فولیکول بزرگتر از ۱۴ mm درمان با همان دوز ۷۵ واحد HMG در روز ادامه داشت. در غیر اینصورت دوز HMG به اندازه ۷۵ واحد دیگر اضافه شده و سونوگرافی کنترل جهت تنظیم دوز پس از ۳ روز انجام می شد، در صورت حضور فولیکول بزرگتر از ۱۴ mm تزریق HMG با دوز قبلی ادامه می یافت و در صورت عدم مشاهده رشد فولیکولی دوز HMG به اندازه ۷۵ واحد در روز افزایش می یافت و سونوگرافی کنترل پس از ۳ روز مجدداً تکرار می شد. تزریق تا زمانی ادامه می یافت که فولیکول به سایز ۱۸mm برسد. در این زمان آمپول HMG قطع و آمپول HCG، $10/000$ واحد عضلانی تزریق می گردید. برای هماهنگی بین بیماران و برای از بین بردن تأثیر رفتار جنسی بر میزان بارداری در همه بیماران ۳۶ ساعت پس از دریافت آمپول HCG، IUI انجام شد. در هیچکدام از بیماران سابقه قبلی IUI وجود نداشت. در بیماران گروه Step-down در روز سوم سیکل قاعدگی پس از انجام سونوگرافی واژینال، HMG-merional با دوز ۲۲۵ واحد در روز شروع شد پس از ۵ روز سونوگرافی کنترل انجام گردید در صورت حضور فولیکول بزرگتر از ۱۴ mm دوز آمپول HMG هر ۳ روز، ۷۵ واحد کم شده و تزریق تا زمانی ادامه می یافت که فولیکول به سایز ۱۸mm برسد. در این زمان آمپول HMG قطع و آمپول HCG 10000 واحد عضلانی تزریق می شد. زمان انجام IUI در دو گروه مشابه بود. در هر دو گروه سطح سرمی استرادیول و تعداد فولیکول بزرگتر از ۱۴mm و ضخامت آندومتر در روز تزریق HCG اندازه گیری می شد. تایید تخمک گذاری با اندازه گیری سطح پروژسترون سرم در روز ۲۱ سیکل قاعدگی انجام شد. پروژسترون سرمی بیشتر از 3 ng/ml نشانه تخمک گذاری بود. ۱۶ روز پس از تزریق آمپول HCG، سطح HCG B از نظر وجود بارداری اندازه گیری شده و در صورت

میزان بارداری در گروه Low-dose Step-up با تفاوت معنی داری بیشتر از گروه Step-down بود ۱۰ مورد معادل ۳۳/۳٪ در مقابل ۵ مورد (۱۶/۶٪) در گروه Step-down (p=۰/۰۲).

عوارضی مثل OHSS و توقف سیکل در هیچ یک از گروهها دیده نشد.

گروه Step-down طول مدت درمان در گروه Step-up بیشتر از گروه Step-down بود ولی با توجه به $p=۰/۳۱۱$ تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود نداشت (جدول ۲).

تخمک گذاری در ۲۳ مورد معادل ۷۶/۶٪ سیکل های Step-up در مقایسه با ۱۵ مورد معادل ۵۰٪ سیکل های Step-down مشاهده شد که این اختلاف معنی دار بود ($p<۰/۰۰۰۱$).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار نمونه‌ها بر حسب فاکتورهای مداخله‌گر (مشابه سازی شده)

| pvalue | Step-down (n=30) | Low-dose step-up (n=30) | |
|--------|---------------------|----------------------------|----------------------|
| ۰/۴۶ | ۲۷/۳۷±۴/۰۳ | ۲۷/۴۳±۴/۰۶ | سن (سال) |
| ۰/۴۳ | ۲۵/۸۳±۱/۰۲ | ۲۶/۲۳±۱/۰۱ | BMI(kg/m2) |
| ۰/۱ | ۳/۹۷±۲/۲۳ | ۳/۹۸±۲/۲۳ | طول مدت نازایی (سال) |

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار نمونه‌ها بر حسب متغیرهای مستقل

| pvalue | Step-down | Low-dose step-up | |
|--------|------------|------------------|-----------------------|
| ۰/۰۱۴ | ۱۷/۱۳±۴/۴۶ | ۲۰/۷۷±۶/۴۹ | تعداد آمپول مصرفی |
| ۰/۰۰۰۱ | ۲/۵۳±۲/۷ | ۴/۹۳±۲ | تعداد فولیکول >14mm |
| ۰/۰۰۰۱ | ۵۵۳±۲۳ | ۷۶۳±۲۸ | سطح استرادیول (pg/ml) |
| ۰/۱۹ | ۱۰/۱۳±۲/۲۲ | ۱۱/۴۳±۱/۸۵ | ضخامت اندومتر (mm) |
| ۰۰/۳۱۱ | ۱۰/۲±۱/۲ | ۱۳/۵۳±۱ | طول مدت درمان (روز) |

بحث

تحریک تخمک گذاری در مبتلایان به تخمدانهای پلی کیستیک همراه با شیوع بالای OHSS و حاملگی چند قلبی است.

مطالعه ما نشان داد که رژیم درمانی Low-dose step-up با استفاده از HMG رژیم درمانی مؤثر جهت تحریک تخمک گذاری و بارداری کلینیکی است ولی از نظر رشد منوفولیکولر روش Step-down مؤثرتر و امن تر است. هر چند که در مطالعه ما چند قلبی و یا سندرم OHSS مشاهده نشد ولی رشد مولتی فولیکولر در روش Step-up بالاتر از روش Step-down بوده است. این نتایج با مطالعات منطبق بر مطالعات Balash و همکاران (۴)، Van Santbrink و همکاران (۵) و Hedon و همکاران منطبق بود.

مطالعه Balash و همکاران در سال ۲۰۰۱ در اسپانیا یک مطالعه پروسپکتیو و راندوم جهت مقایسه دو روش Low-dose Step-up و Step-down می باشد که بر روی ۲۶ خانم مبتلا به تخمدان پلی کیستیک و مقاوم به کلومیفن انجام شد. طبق گزارش ارائه شده، تعداد فولیکولهای بزرگتر از ۱۴mm در روز تزریق HCG و میزان کنسل شدن سیکل بعلت خطر OHSS در گروه Step-up بیشتر بوده است (۴).

مطالعه Evert و همکاران در سال ۱۹۹۷ در هلند نیز در مورد مقایسه دو روش Low-dose Step-up و Step-down بر روی ۳۷ خانم مبتلا به تخمدان پلی کیستیک و مقاوم به درمان کلومیفن بود (۵). هدف مورد بررسی، طول مدت درمان میزان پاسخدهی

مطالعه ما میزان تخمک گذاری در روش Low-dose Step-up، (۷۶/۶٪) در مقایسه با روش Step-down ۵۰٪ با اختلاف معنی دار ($p < 0/0001$) بیشتر بوده است. همچنین میزان بارداری در گروه Low-dose Step-up با تفاوت معنی دار بیشتر از گروه Step-down بود (۳۳/۳٪ در مقابل ۱۶/۶٪) ($P < 0/02$).

بنابراین طبق مطالعه ما می توان نتیجه گرفت که پروتکل Low-dose Step-up با استفاده از گنادوتروپینها در ایجاد رشد و نمو فولیکولر و تحریک تخمک گذاری مفیدتر از روش Step-down است که این نتیجه مطابق با مطالعه Christin-Maitre می باشد که میزان تخمک گذاری در ۷۰/۳٪ سیکل های Step-up در مقایسه با ۵۱/۳٪ سیکل های Step-down با $p < 0/01$ گزارش شده است. با توجه به این نکته که در روش Low-dose Step-up طول درمان کوتاه تر است و نتایج درمانی یکسان است. در ضمن در مطالعه Christin-Maitre میزان تجمعی بارداری در بین دو گروه اهمیت آماری قابل توجه نداشت (۳۸/۶٪ در گروه Step-up در برابر ۳۰/۸٪ در گروه Step-down).

مطالعه ما نشان داد که در خانم های pco مقاوم به کلومیفن میزان تخمک گذاری و باروری کلینیکی در روش Low-dose Step-up بیشتر از روش Step-down می باشد.

با توجه به افزایش رشد مولتی فولیکولر در روش Low-dose Step-up نسبت به Step-down می توان در افراد بسیار حساس pco امکان وقوع سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) را پیش بینی کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران جهت تأمین بودجه این طرح تحقیقاتی تقدیر و تشکر بعمل می آید.

تخمدان از طریق سطح سرمی استرادیول و تعداد فولیکول غالب و میزان تخمک گذاری بود.

رشد منوفولیکولر با اختلاف معنی دار در گروه Step-down بیشتر از گروه Step-up بود. آنها نتیجه گرفتند که در پروتکل Step-down ریسک عوارضی مثل بارداری چند قلبوی و سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) کمتر خواهد بود.

در مطالعه پروسپکتیو و کلینیکیال تریال که توسط Hedon همکاران در سال ۱۹۹۸ در فرانسه روی ۷۳ خانم مبتلا به تخمدان پلی کیستیک و مقاوم به کلومیفن انجام شد در پروتکل Step-down نسبت به Step-up سطح استرادیول با اختلاف معنی داری پایین تر بود (۷). همچنین تعداد فولیکولهای بزرگتر از ۱۴mm در گروه Step-down پایین تر از گروه Step-up بود. بنابراین آنها پروتکل Step-down را یک پروتکل ایمن و جایگزین جهت جلوگیری از عوارض ناشی از رشد مولتی فولیکولر معرفی کردند (۷).

نتایج مطالعه ما با نتیجه کار Christin-Maitre تفاوت دارد (۳). در مطالعه پروسپکتیو و راندوم که Christin-Maitre و همکاران در سال ۲۰۰۳ در فرانسه بر روی ۸۳ خانم مبتلا به تخمدان پلی کیستیک و مقاوم به کلومیفن انجام دادند مقایسه ای از نظر رشد فولیکول و میزان تخمک گذاری بین دو روش انجام شد. رشد منوفولیکولی در گروه Step-up بیشتر از Step-down بود که این نتیجه با مطالعه ما مغایرت دارد که علت آن تفاوت در طراحی مطالعه و نوع گنادوتروپین مصرفی، دوز اولیه و زمان تنظیم دوزهای بعدی گنادوتروپین می باشد. در مطالعه Christin-Maitre از FSH جهت تحریک تخمک گذاری استفاده شد و روش Step-up به صورت Chronic Low dose بود و پس از ۱۴ روز افزایش دوز گنادوتروپین صورت گرفت. در

منابع:

- 1- Burney RO, Schust DJ, Yao MWM. *Infertility chapter*. Jonathan S. Berek. Berek & Novaks Gynecology. Lippincott Williams & Wilkins 14th ed 2007:1185-275.
- 2- Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and infertility*. Lippincott Williams & Wilkins 7 th ed, 2005:1175-213.

- 3- Christin-Maitre S, Hugues JN, and on behalf of the recombinant FSH study group. *A comparative randomized multicentric study comparing the step up versus step down protocol in polycystic ovary syndrome*. Hum Reprod 2003; 18:1626-31.
- 4- Balash J, Fabregues F, Creus M, Puerto B, Penarrubia J, Vanrell JA. *Follicular development and hormone concentrations following recombinant FSH administration for anovulation associated with polycystic ovarian syndrome: prospective randomized comparison between low dose step up and modified step down regimens*. Hum Reprod 2001;16(4):652-6.
- 5- van Santbrink EJ, Fauser BC. *Urinary follicle-stimulating hormone for normogonadotropic clomiphene resistant anovulatory infertility: prospective, randomized comparison between low dose step up and step down dose regimens*. J Clin Endocrinol Metab 1997;82(11):3597-602.
- 6- Mizunuma H, Takagi T, Yamada K, Andoh K, Ibuki Y, Igarashi I. *Ovulation induction by step down administration of purified urinary follicle-stimulating hormone in patients with polycystic ovarian syndrome*. Fertil Steril 1991;55(6):1195-6.
- 7- Hedon B, Hugues JN, Emperaire JC, Chabaud JJ, Barbereau D, Boujenah A, et al. *A comparative prospective study of a chronic low dose versus a conventional ovulation stimulation regimen using recombinant human follicle stimulating hormone in anovulatory infertile women*. Hum Reprod 1998;13(10)2688-92.
- 8- White DM, Polson DW, Kiddy D, Sagle P, Watson H, Gilling-Smith C, et al. *Induction of ovulation with low dose gonadotropins in polycystic ovary syndrome : an analysis of 109 pregnancies in 225 women*. J Clin Endocrinol, Metab 1996;81:3821-4.
- 9- Homburg R, Howles CM. *Howles Low dose FSH therapy for anovulatory infertility associated with polycystic ovary syndrome: rational, results, reflection and refinements*. Hum Reprod update 1999;5(5):493-9.
- 10- Thessaloniki ESHRE/ASRM-sponsored PCOS Consensus Workshop Group. *consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 2008 Mar;89(3):505-22.
- 11- Hugues JN, Cedrin-Durnerin I, on behalf of the recombinant FSH OI study Group. *The use of a decremental dose regimen in patients treated with a chronic low dose step up protocol for who Group II anovulation :a prospective randomized multicentre study*. Hum Reprod 2006;21(11):2817-22.
- 12- Hugues JN, Cedrin-Durnerin I, Avril C, Bulwa S, Herve F, Uzan M. *Sequential step up and step down dose regimen: an alternative method for ovulation induction with follicle-stimulating hormone in polycystic ovarian syndrome*. Hum Reprod 1996;11:2581-258.
- 13- Shoham Z, Patel A, Jacobs HS. *Polycystic ovarian syndrome: Safety and effectiveness stepwise and low dose administration of purified follicle stimulating hormone*. Fertil Steril 1991;55(6):1051-6.