

Il clomifene citrato nel trattamento della infertilità in ambulatorio: dalla scelta della paziente allo schema di trattamento

Paolo Giovanni Artini, Francesca Papini, Maria Ruggiero,
Olga Maria Di Berardino, Vito Cela

DIPARTIMENTO DI MEDICINA DELLA PROCREAZIONE E DELL'ETÀ EVOLUTIVA
DIVISIONE DI GINECOLOGIA E OSTETRICIA, UNIVERSITÀ DI PISA

STERILITÀ ED INFERTILITÀ

Il desiderio di maternità è una propensione naturale, che garantisce la continuità della specie; tuttavia l'impossibilità di realizzare questo istinto è stato sempre presente nella storia dell'uomo.

A differenza della fertilità, che definisce la capacità di ogni essere vivente di riprodursi, la sterilità rappresenta il risultato di un ostacolo alla fecondazione. Questa viene distinta dall'infertilità, definita come la conseguenza di un difetto di annidamento o dello sviluppo dell'embrione, per cui la donna è incapace di proseguire la gravidanza sino ad un'epoca di vitalità del feto[1]. Si parla infine di sub-fertilità quando entrambi i partner di una coppia infertile presentano minime alterazioni della fertilità, che presenti in uno solo dei due non comporterebbero conseguenze riproduttive[2]. La specie umana presenta un basso indice di fecondità, poiché solo il 25% delle coppie che ha rapporti regolari e non protetti ottiene una gravidanza nel corso del primo mese di tentativi. Soltanto una coppia su 5, quindi, tra quelle che attivamente ricercano una gravidanza, realizzerà il proprio desiderio. Circa il 90% delle coppie riesce ad ottenere una gravidanza nel corso del primo anno di rapporti liberi non protetti[3], pertanto, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), definisce la sterilità come l'incapacità di una coppia di concepire, dopo 12 mesi di rapporti non protetti avvenuti in fase ovulatoria. L'OMS ha stimato che nel mondo, circa il 10% delle coppie è affetto dal "problema dell'infertilità"[4]; perciò questo non è solo un fenomeno molto esteso, ma rappresenta a pieno titolo una realtà patologica, un problema di interesse medico-sociale importantissimo. I dati relativi all'incidenza e alle principali cause di sterilità sono simili a livello mondiale.

Nella tabella n°1 sono riportati i dati pubblicati da Collins[5] e Spira[6]. Come sottolineato anche nella definizione dell'OMS, l'ovulazione rappresenta l'evento centrale di tutto il fenomeno riproduttivo della donna, tanto che alterazioni dell'ovulazione sono responsabili di circa il 15-20% dei casi di infertilità. Stabilire, quindi, la presenza o meno dell'ovulazione rappresenta un momento fondamentale sia in termini diagnostici che terapeutici[7].

L'alterazione di uno qualunque dei caratteri del ciclo mestruale rappresenta uno dei problemi più frequenti per la salute della donna con importanti conseguenze in ambito diagnostico e terapeutico. Le alterazioni mestruali rappresentano infatti il

Cause di sterilità	Spira	Collins
Fattore Femminile	57%	54%
Difetto ovulatorio	29%	27%
Fattore tubarico	16%	22%
Endometriosi	7%	5%
Fattore cervicale	2%	/
Fattore uterino	3%	/
Fattore Maschile	21%	25%
Sterilità inspiegata	4%	17%
Fattore Maschile-Femminile	18%	/
Altri	4%	/

Tabella n°1 Linee guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita art. 7 - legge 40/2004 21 luglio 2004

sintomo di un'anomalia del sistema riproduttivo, dal suo sviluppo, ad alterazioni di origine endocrina, sino ad una lesione anatomica acquisita.

L'OMS ha proposto una classificazione riguardante i difetti ovulatori, dividendoli in tre gruppi:

- I. Alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisario, con livelli diminuiti di estrogeni (amenorree da stress, anoressia nervosa..);
- II. Disfunzione ipotalamo-ipofisario con livelli normali di gonadotropine, prolattina ed estrogeni (PCO);
- III. Deficit della funzione ovarica.

VALUTAZIONE DELL'OVULAZIONE

La diagnosi di alterazione dell'ovulazione può essere posta in molti casi anche sulla sola base della storia mestruale. Flussi che si susseguono ogni 25-35 giorni, soprattutto se accompagnati da disturbi premenstruali come tensione mammaria, gonfiore addominale sono elementi anamnestici suggestivi di avvenuta ovulazione. Inoltre è importante anche uno scrupoloso esame obiettivo della paziente, che consideri sia l'indice di massa corporea (BMI) della donna stessa (<20 kg/m² può essere indice di una disfunzione ipotalamica; >30kg/m² di resistenza insulinica), che un'analisi accurata valutazione dell'anatomia dell'apparato riproduttivo[8].

Ad oggi risultano comunque utili indagini diagnostiche-laboratoristiche e strumentali capaci di dimostrare indirettamente l'avvenuta deiscenza follicolare.

- Tra queste, quelle più frequentemente utilizzate sono:
- » la misurazione giornaliera della Temperatura Corporea Basale (TCB). In caso di ciclo ovulatorio la temperatura mostra un andamento bifasico, caratterizzato da una prima fase (follicolare) ipotermica; ed una seconda (post-ovulatoria e in corso di attività del corpo luteo) caratterizzata da ipertermia, con un aumento di 0,5°C;
 - » la determinazione del progesterone sierico in 22°-25° giornata di un ciclo regolare di 28 giorni, corrispondente alla fase di massima attività del corpo luteo. Valori >10ng/ml sono suggestivi di avvenuta ovulazione; anche se considerando la pulsatilità della secrezione progestinica da parte del corpo luteo, anche valori <10 ng/ml possono essere talora considerati normali;
 - » l'utilizzo dell'ecografia pelvica con monitoraggio del diametro dei follicoli ovarici;
 - » la misurazione dell'escrezione urinaria dell'ormone luteinizzante (LH), che risulta aumentata nelle 24-36 ore precedenti l'ovulazione;
 - » la misurazione dell'estradiolo e dell'LH plasmatico.

L'aspetto qualitativo dell'ovulazione può essere poi valutato con:

- » una biopsia endometriale eseguita sul fondo dell'utero tardivamente nella fase luteinica (2-3 giorni prima dell'insorgenza della successiva mestruazione). In caso di avvenuta ovulazione, l'endometrio presenta un classico aspetto secretivo. Un ritardo nella maturazione endometriale superiore a 2 giorni (rispetto all'inizio del ciclo mestruale successivo) indica un'inadeguata fase luteinica (insufficienza luteinica, difetto della fase luteinica).

Tuttavia risulta di fondamentale importanza ricordare che la vera ed unica prova inconfutabile dell'avvenuta ovulazione è la gravidanza.

RISERVA OVARICA ED INDUZIONE DELL'OVULAZIONE

La farmacologia della riproduzione prevede l'impiego di più farmaci, associati o meno tra loro, che hanno come fine ultimo l'induzione dell'ovulazione, con la crescita di uno o più follicoli nei casi di anovulatorietà cronica. Le pazienti che non hanno concepito dopo un anno di rapporti regolari non protetti, affette da amenorrea disfunzionale, oligomenorrea ed insufficienza/assenza della fase luteinica, possono essere avviate a protocolli di induzione di ovulazione. Inoltre, sono candidate a questo tipo di trattamenti anche pazienti con endometriosi, coppie con fattore maschile lieve-moderato di sterilità e con fattore tubarico lieve.

Devono invece essere escluse le pazienti con amenorrea ovarica e disgenesia gonadica e quelle con valori basali elevati di gonadotropine. Nonostante le prime gravidanze nell'ambito delle tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) siano state ottenute su cicli spontanei, ben presto è stato evidenziato come l'incidenza delle gravidanze aumentasse di molto attraverso la maturazione follicolare multipla indotta da clomifene citrato o gonadotropine (hMG, HU-FSH, hCG).

La percentuale infatti correla direttamente con il numero di embrione ottenuti e trasferiti in utero. Proprio per questo, attualmente infatti quasi tutti i programmi di PMA includono una stimolazione follicolare multipla mediante l'uso di varie sostanze farmacologiche (clomifene o gonadotropine,...) somministrate allo scopo di creare un numero maggiore di follicoli pre-ovulatori e permettere quindi di ottenere un numero maggiore di ovociti maturi riducendo al massimo la crescita asincrona dei vari follicoli. Il razionale di questa metodica trova le sue fondamenta nel considerare la somministrazione di FSH nella fase follicolare responsabile del reclutamento e maturazione dei follicoli selezionati dall'ovaio che in un ciclo naturale sarebbero stati destinati all'atresia.

Tra i vari farmaci utilizzati nella medicina della riproduzione si annoverano (Tabella n° 2):

- » antiestrogeni (Clomifene Citrato)
- » antiprolattinamici (Bromocriptina, Cabergolina)
- » gonadotropine (uFSH, rFSH, hMG, rLH, hCG, r hCG)
- » analoghi del GnRH
 - antagonisti (cetorelix, ganirelix)
 - agonisti (triptorelina, leuprolide, buserelin, goserelin)
- » gestageni (progesterone in olio, in gel)
- » estrogeni (estradiolo valerianato)

Citrato di Clomifene	per os 50-100 mg/die per 5 giorni, fino a 200-250 mg/die per 5 giorni
Agenti insulinolo-sensibilizzanti (metformina)	per os 1500 mg/die
Gonadotropine	
hMG follicolo-stimolante+hCG luteinizzante	i.m. 75/UI FSH+35/UI LH; 150/UIFSH+70/UI LH al giorno
hMG purificato follicolo stimolante	i.m. 75-150/UI al giorno
FSH ricombinante follicolo stimolante	i.m. 75/150/UI al giorno
hCG gonadotropina corionica luteinizzante	i.m. 500-1000-2000-5000/UI al giorno

Tabella n° 2 Farmaci induttori dell'ovulazione

Un elemento importante al fine di ottimizzare la stimolazione ovarica è dato dalla valutazione preventiva della riserva ovarica della paziente candidata alle tecniche di PMA; ciò consente infatti di definire i dosaggi e prevedere la risposta al trattamento, si può utilizzare il dosaggio dell'FSH e la conta dei follicoli antrali il 3° giorno del ciclo[9], ed eventualmente il test al clomifene citrato.

Il test più semplice, poco costoso e meno invasivo è il dosaggio basale dell'FSH, da effettuarsi in fase follicolare precoce. Diversi studi hanno messo in evidenza che donne con elevati valori basali di FSH, indipendentemente dell'età presentano una significativa riduzione del tasso di gravidanza[10];[11].

Il dosaggio basale di FSH ed estradiolo è più efficace della sola valutazione dell'FSH, poiché valori elevati di estradiolo possono abbassare i livelli di FSH e nascondere così un deficit di riserva ovarica. Inoltre, un valore elevato di estradiolo può indicare uno stadio funzionale più avanzato nello sviluppo follicolare, con conseguente minor reclutamento ovocitario in corso di stimolazione. Un valore elevato di estradiolo, a prescindere del livello anche normale dell' FSH basale è sempre

correlato con una riduzione della pregnancy rate[10];[12];[13]. La conta dei follicoli antrali in 3° giornata è un altro indice prognostico importante, soprattutto in associazione ai livelli basali di FSH [14]. Recentemente, vari Autori sottolineano l'importanza di alcune citochine come markers di riserva ovarica e sembrano particolarmente utili, anche se non utilizzati routinariamente nella pratica clinica, i livelli dell'ormone antimulleriano AMH e dell'inibina B [15];[16].

Il test al clomifene citrato si basa, previa valutazione della concentrazione plasmatica di FSH ed E2 al 3° giorno del ciclo, sulla somministrazione di 50-100 mg/die di clomifene citrato dal 5° al 9° giorno a partire dall'inizio delle mestruazioni. Il 10° giorno viene misurato nuovamente l'FSH che in donne con riserva ovarica normale risulta più basso, mentre l'estradiolo aumentato.

IL CLOMIFENE CITRATO

Il clomifene citrato (CC) è una molecola con attività fondamentalmente anti-estrogenica, associata a deboli proprietà estrogeniche che divengono clinicamente apparenti quando i livelli di estrogeni endogeni sono molto bassi. Il CC agisce infatti legandosi in modo competitivo ai recettori degli estrogeni presenti nei nuclei delle cellule di vari organi bersaglio, comprendenti l'ipotalamo, l'ipofisi e l'ovaio, ma anche l'endometrio, le ghiandole mucipare cervicali e vaginali, determinando così una condizione di insensibilità agli estrogeni[17]. A livello ipotalamico, principale sede d'azione del farmaco, il CC provoca una definitiva riduzione del numero dei recettori per gli estrogeni (feed-back negativo) alla quale consegue una stimolazione della secrezione del GnRH). Quest'ultima va ad incrementare la produzione ipofisaria di FSH ed LH, per cui compare un picco di LH che determina l'ovulazione.

Il farmaco interagisce anche nei processi steroidogenetici a livello ovarico, facilitando la conversione degli androgeni in estrogeni, con il risultato finale dell'accrescimento e la maturazione di un certo numero dei follicoli nell'ovaio. Perciò non induce direttamente l'ovulazione, ma agisce innescando la cascata fisiologica di eventi che portano all'ovulazione nel corso di un ciclo normale. È evidente quindi come il CC possa esplicare la sua azione solo in pazienti con un asse ipotalamo-ipofisario integro. È inoltre importante sottolineare come il CC a livello uterino, cervicale e vaginale svolga un'azione anti-estrogenica, ostacolando l'impianto e l'iniziale sviluppo embrionario. Tuttavia vari studi hanno dimostrato una trascurabilità del dato alle dosi generalmente utilizzate in ambito clinico[18].

INDICAZIONI

Il CC è indicato per regolarizzare l'ovulazione e quindi la possibilità di concepimento in donne che ovulano sporadicamente, ma anche considerato molto utile per sincronizzare il momento dell'ovulazione in pazienti che debbono essere sottoposte a cicli di inseminazione artificiale.

Il CC rappresenta perciò il farmaco di prima scelta nel trattamento dell'induzione dell'ovulazione nelle pazienti normogonadotrope e normoprolattinemiche, anovulatorie, ma con un asse ipotalamo-ipofisi-ovarico integro (valutabile mediante la presenza di livelli estrogenici >40 pg/ml). Si può inoltre considerare importante nel trattamento di pazienti che presentano una fase luteinica insufficiente, senza la necessità di prolungare

la fase luteinica stessa. Questo farmaco trova inoltre un'importante utilizzazione nel trattamento delle pazienti affette da policistici ovarica (PCO), anche se in questa categoria di pazienti si ha un maggior rischio di gravidanze multi gemellari ed iperstimolazione ovarica. In queste pazienti, infatti, il CC aumenta l'ampiezza e non la frequenza del pulse del GnRH. Invece, le pazienti ipoestrogeniche-ipogonadotrope non rispondono raramente ad un trattamento con CC, quindi non è consigliabile sottoporre le pazienti a questo trattamento.

Il CC risulta quindi un'utile strategia nell'induzione dell'ovulazione per programmare rapporti spontanei, inseminazioni intrauterine (IUI) e fecondazione in vitro (FIVET-ICSI). Un recente studio retrospettivo sull'utilizzo di Clomifene citrato (CC) per le induzioni dell'ovulazione in caso di IUI ha mostrato percentuali medie di gravidanza per ciclo intorno al 5%[19]. Pertanto, tale dato, associato al più basso costo del farmaco rispetto alle gonadotropine, è sufficiente a giustificare l'utilizzo del CC nelle coppie con indicazione ad IUI come primo approccio terapeutico. Il CC è stato inoltre utilizzato anche nei cicli FIVET-ICSI in associazione alla gonadotropina corionica; successivamente è stato quasi del tutto abbandonato a favore delle gonadotropine, che risultano più affidabili e prive dell'effetto antiestrogenico a livello endometriale e sul muco cervicale[20].

Tuttavia lavori recenti hanno riscoperto che l'utilizzo del CC in associazione a basse dosi di gonadotropine può rappresentare una buona alternativa per pazienti con cicli regolari[21].

DOSAGGIO

Esistono numerosi schemi di trattamento, ma per lo più si procede somministrando inizialmente, indipendentemente dalla gravità della disfunzione ipotalamo-ipofisaria, la dose più bassa, pari a 50/die per cinque giorni consecutivi, iniziando il farmaco al quinto giorno della mestruazione.

Alcuni studi riportano un suo inizio anche in terza giornata, aumentando però, in questo modo, il rischio di gravidanze multiple. Le dosi poi variano appunto in base alla gravità della disfunzione, le forme più lievi rispondono a dosaggi di 50-100 mg/die per 5 giorni, quelle più gravi possono richiedere anche dosaggi di 200-250 mg/die sempre per un periodo di 5 giorni consecutivi. Alle pazienti trattate si deve consigliare di avere rapporti regolari, a giorni alterni, non protetti, a partire dal quinto giorno dopo la fine del trattamento[22].

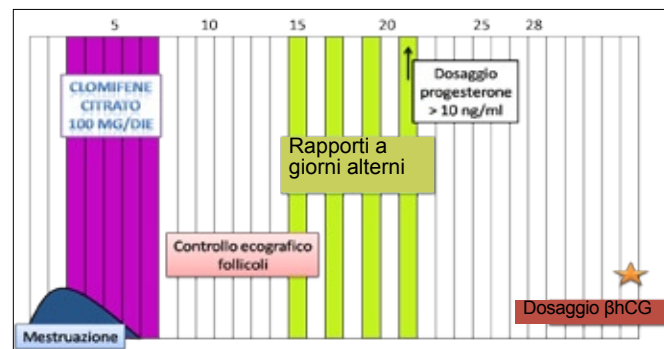


Tabella modificata da G. Pescetto et al., 2009

Se non si instaura una gravidanza nonostante un periodo di apparente normalità dell'ovulazione, sarà importante ricorrere al monitoraggio ecografico, per poter meglio analizzare il diametro follicolare ed il numero dei follicoli stessi, così da individuare il momento migliore per la somministrazione della gonadotropina corionica al fine di ottenere la maturazione follicolare e l'ovulazione. Il monitoraggio ecografico, risulta infatti particolarmente importante, in tutti quei casi in cui, nonostante si verifichi un significativo aumento degli estrogeni, non si ha l'ovulazione, per cui si necessita dell'associazione del clomifene con l'hCG (10.000 UI i.m. monodose). Risulta importante, inoltre, il dosaggio del progesterone plasmatico al 21°-22° giorno del ciclo; valori >10ng/ml dimostrano l'avvenuta ovulazione, valori inferiori, invece, suggeriscono la possibilità di una insufficienza luteinica (si deve aumentare il clomifene) o peggio, un fallimento della terapia a causa della clomifene-resistenza.

In corso di stimolazione per FIVET-ICSI, i dosaggi di CC sono sovrapponibili a quelli utilizzati nei cicli IUI.

COMPLICANZE

La terapia con clomifene citrato, nonostante sia un farmaco molto maneggevole, non è scevra da effetti collaterali, legati soprattutto alla durata ed alla dose della terapia. Tra i vari disturbi, quelli più frequentemente riscontrati nella pratica clinica sono quelli vasomotori (vampate, aumento della temperatura corporea..) probabilmente giustificati dall'effetto antiestrogenico e da quello diretto del farmaco a livello del centro termo-regolatore ipotalamico. Si possono annoverare altri disturbi comunque meno frequenti che riguardano alterazioni gastrointestinali come distensione addominale, nausea e vomito, mastodinia e alterazioni visive; con scomparsa quasi completa nel giro di pochi giorni. Tra le reazioni avverse non si devono trascurare rari ma importanti disturbi epatici.

Tra le complicanze dell'utilizzo del CC, si annoverano:

- » gravidanze multiple
- » iperstimolazione ovarica.

Considerando il rischio di gravidanze multiple, la frequenza raggiunge circa il 3%-7% delle pazienti trattate con un rischio più elevato nelle donne con sindrome dell'ovaio policistico. Tuttavia non esistono evidenze in grado di confermare che le gonadotropine conducano ad un aumentato rischio rispetto agli antiestrogeni. Infatti la Cochrane review del 2007 riporta un rischio di gravidanza multipla per ciclo di IUI pressoché sovrapponibile tra antiestrogeni e gonadotropine (9.8% e 10% rispettivamente)[20].

Per quanto concerne, invece, l'incidenza di iperstimolazione, questa oscilla dal 3% al 10% soprattutto in pazienti trattate a lungo con clomifene e alle dosi >100 mg/die, ed anche in questo caso con una percentuale maggiore in donne affette da PCO [23]. Sono state descritti effetti avversi di questo farmaco sull'endocervice, endometrio, ovaio, ovocita ed embrione, ma in realtà non esistono prove certe che questi effetti si verifichino con conseguenze cliniche importanti [24]. Infatti al contrario di qualche teoria allarmistica in voga alla fine degli anni '80 [25]. Riguardo un aumentato rischio di malformazioni congenite soprattutto neurologiche, a seguito dell'uso di clomifene, si è dimostrato l'infondatezza di queste segnalazioni. Non-

stante questo, Lobo, nel 2007 ha dimostrato che, anche se non statisticamente significativo, un aumento del tasso di malformazioni fetali più alto del normale con la somministrazione di clomifene nelle prime 6 settimane dopo il concepimento. Per questo è comunque bene escludere sempre una gravidanza prima della somministrazione del farmaco.

CONTROINDICAZIONI

Si considerano controindicazioni all'utilizzo del farmaco, la presenza di cisti ovariche, che potrebbero crescere eccessivamente con elevato rischio di rottura, la presenza di disfunzione epatica e di disturbi visivi.

CONCLUSIONI

Vari dati di letteratura hanno dimostrato che l'utilizzo del CC riesce ad indurre l'ovulazione nel 70-80% dei casi e in circa la metà di queste pazienti si instaura una gravidanza. La differenza tra queste due percentuali può trovare varie spiegazioni, tra cui l'effetto del farmaco stesso sul muco cervicale e sull'endometrio, creando un ostacolo alla penetrazione degli spermatozoi e al successivo impianto, la possibilità di un'ovulazione prematura del follicolo solo parzialmente maturo con conseguente insufficienza del corpo luteo.

- » Le pazienti con policistosi ovarica godono di un grande beneficio dall'utilizzo di questo farmaco, addirittura con un indice di gravidanza superiore rispetto alle altre pazienti trattate per sterilità inspiegata, forse per la maggiore resistenza delle prime agli effetti negativi dell'effetto anti-estrogenico del CC sui tessuti periferici. Per quella percentuale (10-20%) di pazienti non responsive ai dosaggi massimali (250 mg/die per 10 giorni) della terapia, può essere utile, prima di abbandonare il farmaco e passare al trattamento con gonadotropine, tentare l'associazione del CC con altri farmaci, tra cui:
 - » associazione con desametasone 0,5 mg/die o prednisone 5 mg/die in pazienti con elevato livelli di deidroepiandrosterone solfato (DHEAS) per ridurre la concentrazione di androgeni a livello del microambiente follicolare, con riduzione della capacità di risposta alle gonadotropine ipofisarie [26];
 - » associazione con DA-agonista (cabergolina o bromocriptina) in pazienti con alti livelli di prolattinemia;
 - » utilizzo di contraccettivi orali o analoghi del GnRH per circa sei mesi (pre-trattamento) per diminuire i livelli circolanti di LH;
 - » associazione di metformina in pazienti con PCO resistenti al solo clomifene, con possibilità di aumentare l'incidenza delle gravidanze addirittura del 9%;
 - » associazione con letrozolo, un inibitore delle aromatasi.

In conclusione, nonostante il CC sia un farmaco utilizzato da molto tempo, le ultime ricerche ed i nuovi studi, hanno rivalutato la sua funzione sia per l'utilizzo in donne che ricercano una gravidanza spontanea, sia per quelle che si affidano alle tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita di primo e secondo livello.

{BIBLIOGRAFIA}

1. G.Pescetto, L. De Cecco, D. Pecorari, N. Ragni, *Ginecologia e Ostetricia*. SEU, 2009.
2. E. Cittadini, R. Palermo, C Zangara. Sterilità femminile. In Candiani, Danesino, Gastaldi. *La Clinica Ostetrica e Ginecologica*. Masson, Milano, 1996.
3. Schwartz D, Mayaux MJ. Female fecundity as a function of age: results of artificial insemination in 2193 nulliparous women with azoospermic husbands. Federation CECOS. *N Engl J Med*. 1982
4. Albrecht BH, Cramer D, Schiff I. Factors influencing the success of artificial insemination. *Fertil Steril*. 1982 .
5. Collins TA et al. The prognosis for live birth among untreated infertile couplet. *Fertil Steril* 1995.
6. Spira A. Epidemiology of human reproduction. *Hum Reprod*. 1986 .
7. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod*. 2000 .
8. *Disturbi del ciclo mestruale in NappiC(ed): ostetricia e ginecologia*. Idelson, Gnocchi, Napoli 2005.
9. Noci I, Biagiotti R, Maggi M, Ricci F, Cinotti A, Scarselli G. Low day 3 luteinizing hormone values are predictive of reduced response to ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 1998 Mar.
10. Scott RT, Toner JT, Mausher SJ, et al. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1990.
11. El-Toukhy T, Khalaf Y, Hart R, Taylor A and Braude P .Young age does not protect against the adverse effects of reduced ovarian reserve—an eight year study. *Hum Reprod* 2000.
12. Evers JLH, Slaats P, Land JA, et al. Elevated levels of basal estradiol predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998.
13. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR, et al. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997.
14. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2003.
15. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006.
16. Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P, Laing I. Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2009.
17. Derman SG, Adashi EY. Induction of ovulation. *Compr Ther*. 1995.
18. Kelekçi S, Saygılı-Yılmaz E, Inan I, Eminsoy G. A trial of a new regimen with clomiphene citrate administration to reduce the antiestrogenic effects on reproductive end organs. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004.
19. Custers IM, Steures P, Hompes P, Flierman P, van Kasteren Y, van Dop PA, van der Veen F, Mol BW. Intrauterine insemination: how many cycles should we perform? *Hum Reprod*. 2008 Apr.
20. Cantineau AE, Cohlen BJ, Heineman MJ .Ovarian stimulation protocols (anti-oestrogens, gonadotrophins with and without GnRH agonists/antagonists) for intrauterine insemination (IUI) in women with subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007.
21. Karimzadeh MA, Ahmadi S, Oskouian H, Rahmani E. Comparison of mild stimulation and conventional stimulation in ART outcome. *Arch Gynecol Obstet*. 2009 .
22. Polyzos NP, Tzioras S, Badawy AM, Valachis A, Dritsas C, Mauri D. Aromatase inhibitors for female infertility: a systematic review of the literature. *Reprod Biomed Online*. 2009.
23. Abramov Y, Elchalal U, Schenker JG. Severe OHSS: An 'epidemic' of severe OHSS: a price we have to pay? *Hum Reprod*. 1999.
24. Fritz MA, Speroff L. The endocrinology of the menstrual cycle: the interaction of folliculogenesis and neuroendocrine mechanisms. *Fertil Steril*. 1982 .
25. Cornel MC, Ten Kate LP, Te Meerman GJ. Ovulation induction, in-vitro fertilisation, and neural tube defects. *Lancet*. 1989.
26. Parsanezhad ME, Alborzi S, Motazedian S, Omrani G. Use of dexamethasone and clomiphene citrate in the treatment of clomiphene citrate-resistant patients with polycystic ovary syndrome and normal dehydroepiandrosterone sulfate levels: a prospective, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*. 2002 .