

Dlouhý a krátký stimulační protokol v IVF; hormonální hladiny ve folikulární tekutině a v séru

R. Suchá, Z. Ulčová-Gallová, R. Pikner, V. Bouše, K. Křížanovská, O. Topolčan, L. Švábek, P. Rokyta, Z. Rokyta

Úvod

Při léčbě neplodnosti umělým oplodněním – *in vitro fertilisatio* (IVF), je nezbytná kontrolovaná ovariální hyperstimulace pacientek. Hlavními požadavky hormonální ovariální stimulace je získání většího (ale bezpečného) počtu oocytů, optimální kvalita (zrlost) získaných oocytů a minimální zásah do luteální fáze cyklu [8].

Stimulační protokoly asistované reprodukce prodělaly v posledních letech značný vývoj. Zcela se ustoupilo od původní stimulace klomifencitrát+gonadotropiny (hMG/FSH) a v současné době se užívají již jen analoga nebo antagonisté gonadoliberinů (aGnRH) s gonadotropiny (hMG–u–FSH nebo rec–FSH) spolu s preovulační aplikací hCG.

Mezi zlatý standard posledních let patří stimulace aGnRH+hMG/FSH+hCG v krátkém, dlouhém nebo ultrakrátkém protokolu. Krátký protokol využívá počátečního *flare-up* efektu aGnRH (vzplanutí endogenní sekrece hypofýzy) i gonadotropinů a současně periovulačního supresivního působení analoga na hypofýzu. Dlouhý protokol využívá supresi hypotalamo–hypofýzo–ovariální osy, tzv. *down*–regulaci, která nastupuje při dlouhodobé aplikaci analoga a následně se přidává stimulace gonadotropiny. Ultrakrátký protokol se užívá méně často, a sice u tzv. *low responders* (pacientky málo reagující na stimulaci), zde se využívá pouze *flare-up* efektu aGnRH [8].

Gonadotropiny, dnes užívané pro ovariální stimulaci, jsou buď vysoce čištěné preparáty s FSH získané z moči menopauzálních žen (u–FSH), nebo rekombinantní (rec–FSH) získané genovou manipulací po biotechnologické inkorporaci humánního genu kódujícího syntézu FSH do buněčné linie čínské křečka. Rec–FSH oproti u–FSH preparátům mají vyšší bioaktivitu přes podobnou nebo nižší sérovou imunoaktivní FSH koncentraci, nenesou LH aktivitu a mají minimální kontaminaci *non*–FSH proteiny [3,6,8].

Mnoho prací v dostupné literatuře potvrzuje větší úspěšnost IVF při stimulaci dlouhým protokolem oproti krátkému [1,7,8,9,

10,13]. Autoři [1,7,8,9,10,13] se vesměs shodují ve vyšším implantačním poměru i dosažení klinické gravidity – *pregnancy rate* (PR), někteří uvádějí i vyšší počet folikulů [13], oocytů [1,10,13] a více nadbytečných embryí ke kryokonzervaci [7]. Dle jiných autorů [9] je počet folikulů, oocytů i embryí u obou protokolů téměř shodný. Metaanalytická randomizovaná studie Hughese et al z roku 1992 [5] neshledává mezi krátkým a dlouhým stimulačním protokolem statisticky významný rozdíl v počtu zrušených cyklů ani v PR.

Existují metaanalytické studie srovnávající rec–FSH s purifikovaným u–FSH, podle kterých má použití rec–FSH lepší výsledky, vyšší PR [2]. Studie srovnávající rec–FSH s u–FSH pouze v dlouhém protokolu udávají možnost užití menšího množství ampulí rec–FSH spolu se získáním většího množství folikulů, oocytů a vyšším PR (statisticky však nevýznamně) [11]. Rekombinantní humánní FSH je při IVF/ICSI klinicky i ekonomicky efektivnější než močový FSH, dosahuje většího počtu prospívajících těhotenství s menším počtem stimulačních cyklů [12].

Cílem naší práce bylo porovnání dlouhého a krátkého stimulačního protokolu, jejich úspěšnosti (PR), jejich hormonálních hladin dosahovaných při stimulaci ve folikulární tekutině aspirovaných preovulačních folikulů i v séru stimulovaných žen.

Material a metody

Soubor tvořilo 202 pacientek podstupujících IVF léčbu na našem pracovišti v období 11/99–02/01. Průměrný věk žen byl 30,2 ± 4,3 roku. 57 % pacientek se léčilo pro sterilitu primární a 43 % pro sterilitu sekundární. Příčina sterility byla nejčastěji – ve 46 % smíšená z několika faktorů (93 pacientek), dále v 11,4 % čistě andrologická (23 pacientek), ve 28,2 % tubární (57 pacientek), ve 3,5 % imunologická (7 pacientek), ve 3,5 % ovariální (7 pacientek), ve 2 % endometrióza, v 0,5 % uterinní faktor (1 pacientka) a v 5 % idiopatická (10 pacientek).

126 žen (62,4 %) bylo stimulováno krátkým a 76 žen (37,6 %) dlouhým aGnRH/FSH/HCG stimulačním protokolem.

V 62 případech (30,69 %) byl při stimulaci použit rekombinantní FSH preparát, z toho ve 33 případech v krátkém a 29 případech v dlouhém stimulačním protokolu (16,34 % vs. 14,36 %).

Ostatních 140 žen (69,31 %) dalo přednost levnějšímu vysoce čištěnému močovému preparátu – 93 (46,04 %) v krátkém a 47 (23,26 %) v dlouhém protokolu.

Při krátkém protokolu si pacientky aplikovaly analog gonadoliberinu – aGnRH – busserelin acetát v dávce 0,6–0,9 mg/den nebo nafarelin acetát 0,6 mg/den intranazálně od 2. dne menstruačního cyklu až do aplikace choriového gonadotropinu (hCG). Od 3. dne cyklu si aplikovaly subkutánně 150–225 IU u–FSH (vysoce čištěný urofollitropin) nebo recFSH (follitropin alfa či beta). 10 000 IU hCG intramuskulárně se aplikovalo při USG nález alespoň 1 folikulu o velikosti 18 mm, nejméně 2 dalších nad 16 mm a výšce endometria alespoň 8 mm. Transvaginální aspirace folikulů pod USG kontrolou byla provedena za 34–36 hod po aplikaci hCG a sice v krátkodobé celkové anestezii.

Při dlouhém stimulačním protokolu se aplikoval depotní preparát aGnRH 1. den menstruačního cyklu subkutánní injekcí 3,6 mg goserelinu acetátu nebo intramuskulárně 3,75 mg triptorelinu acetátu. Pokud byla za přibližně 14 dní po aplikaci hladina estradiolu (E2) v séru pod 0,15 nmol/l, na USG nález klidových ovaríí a nízkého endometria, začala pacientka užívat 225–300 IU u–FSH nebo rec–FSH denně v subkutánní injekci. Další postup byl shodný s krátkým protokolem.

Těsně před úvodem do celkové anestezie byl pacientkám odebrán vzorek krve. Vzorek FF jsme získali při odběru oocytů.

U 104 žen (51,49 %) byla provedena klasická IVF a v 98 případech (48,51 %) intracytoplazmatická injekce spermií přímo do cytoplazmy oocyty (ICSI). Odběr FF spolu s oocyty jsme provedli standardní transvaginální aspirací preovulačních folikulů v celkové anestezii.

Vzorek krve i vzorek FF jsme předali do plastických nesterilních zkumavek bez pro-

Tab. 1. Celková úspěšnost – PR.

	Počet pacientek	Počet procent
Klinická gravidita – PR	55	27,23 %
Bez ET	16	7,92 %

Tab. 2. Průměrné hladiny hormonů v souboru.

	Sérum	Folikulární tekutina
FSH (IU/l)	5,43 ± 2,66	4,18 ± 1,96
LH (IU/l)	0,17 ± 0,41	0,08 ± 0,25
Progesteron (nmol/l)	30,03 ± 18,70	30789 ± 12547
Estradiol (nmol/l)	4,36 ± 3,39	18812 ± 11915
Testosteron (nmol/l)	3,45 ± 2,19	32,83 ± 32,59

Tab. 3. Porovnání krátkého a dlouhého protokolu – PR.

	Klinická gravidita	Bez ET
Krátký protokol	23,81 % (30/126)	8,73 % (11/126)
Dlouhý protokol	32,89 % (25/76)	6,58 % (5/76)

tisrážlivých přísad a oba vzorky za 2–6 hod po odběru centrifugovali (2 000 ot/min, 20 min). Získaný supernatant a sérum jsme zmrazili a uchovali při teplotě –20 °C až do zpracování.

Vzniklá embrya jsme kultivovali 48–72 hod. Maximálně 3 nejlepší z nich jsme transferovali do dutiny děložní a zbylá jsme kryokonzervovali. Za 14 dní po ET jsme stanovovali hladinu HCG v séru a za 5–6 týdnů

provedli USG vyšetření. Při nálezu gestačního vakuu s echem embrya v dutině děložní jsme cyklus považovali za úspěšný – klinická gravidita – pregnancy rate (PR).

U všech 202 cyklů jsme měřili hladinu FSH, progesteronu (P4), estradiolu (E2) a testosteronu (T) v séru i FF. Hladinu LH jsme měřili jen u 82 náhodně vybraných žen.

Stanovení FSH, LH, P4, E2 a T byly prováděny na imunoanalyzeru ACS 180, firmy Bayer, Germany. FSH a LH bylo stanovováno nekompetitivní chemiluminiscenční esejí užívající k detekci kombinaci polyklonálních a monoklonálních protilátek, která je značena akridinium esterem, následná luminiscence je vyvolána reakcí akridinium esteru se substrátem. Intezita luminiscence je přímo úměrná množství detekovaného antigenu. Progesteron, testosteron a estradiol byly stanovovány kompetitivní chemiluminiscenční esejí, při které dochází ke kompetici o limitovaný počet vazebných míst na monoklonální protilátce mezi stanoveným analytem a analytem značeným akridinium esterem, následná luminiscence je vyvolána reakcí akridinium esteru se substrátem. Intezita luminiscence je nepřímo úměrná množství detekovaného antigenu.

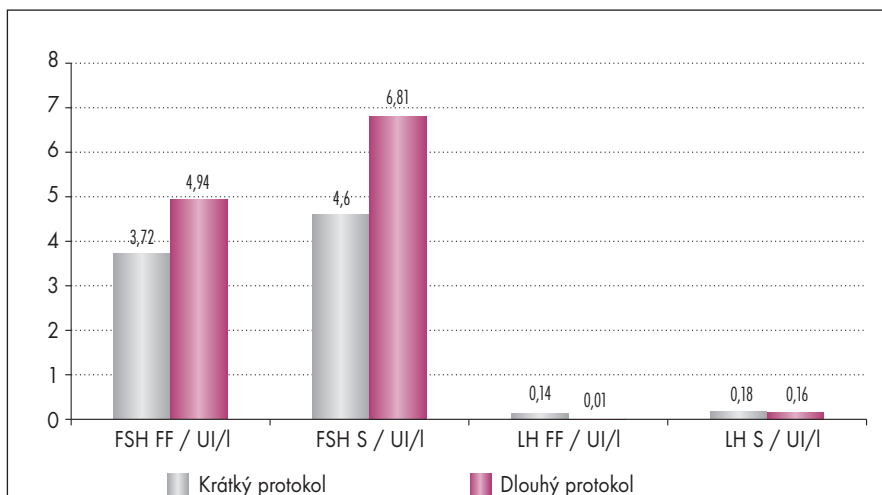
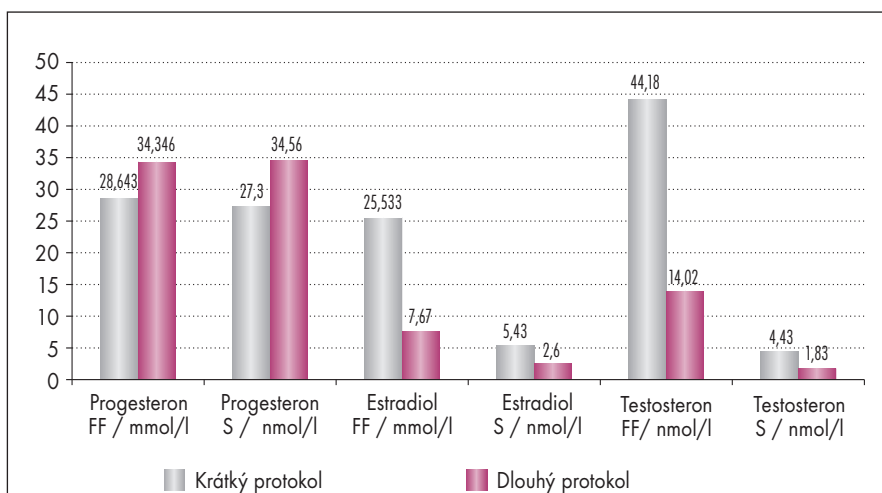
Chyba ve stanovení se pohybovala průměrně do 5 %. Vzorky T byly buď neředěny či ředěny 2krát, tj. chyba stanovení do 5 % naměřené hodnoty.

P4 ve FF byl ředěn 500krát a E2 ve FF 10 000 krát, ředění byla prováděna pomocí Multidiluentu 3 pro P4 a Multidiluentu 9 pro E2, zde je již nutno brát v úvahu chybu vzniklou ředěním, která se v případě P4 bude pohybovat do 15 % stanovené hodnoty, u E2 mezi 25–30 %.

Výsledky jsme rozsáhle statisticky zpracovali. Na porovnání mezi různými podskupinami byla užita analýza rozptylu při jednoduchém třídění (ANOVA), dále pak Wilcoxonův nepárový test, mediánový nepárový test a párový studentův T-test. Na analýzu souvislostí mezi kvalitativními veličinami byl užit Spearmanův pořadový korelační koeficient, mezi kvalitativními veličinami byla souvislost zjišťována použitím χ^2 -kvadrát testu.

Výsledky

Ze souboru 202 pacientek bylo 16 žen (7,92 %) po stimulaci bez embryotransferu (ET) (důvody: nulový zisk oocytů, selhání fertilizace, hrozící hyperstimulační syndrom, nízké endometrium). U 55 pacientek v tomto sledovaném cyklu s ET byla prokázána klinická gravidita; PR 27,23 % (tab. 1).


Obr. 1a. Porovnání hladin hormonů v závislosti na protokolu – krátký vs dlouhý.

Obr. 1b. Porovnání hladin hormonů v závislosti na protokolu – krátký vs dlouhý.

Tab. 4. Hladiny hormonů při krátkém a dlouhém protokolu.

	Krátký protokol	Dlouhý protokol	Významnost
FSH FF / UI/l	3,72	4,94	p < 0,0001
FSH S / UI/l	4,60	6,81	p < 0,0001
LH FF / UI/l	0,14	0,01	p < 0,0001
LH S / UI/l	0,18	0,16	NS
Progesteron FF / nmol/l	28643	34346	p = 0,0016
Progesteron S / nmol/l	27,30	34,56	p = 0,0072
Estradiol FF / nmol/l	25533	7670	p < 0,0001
Estradiol S / nmol/l	5,43	2,60	p < 0,0001
Testosteron FF/ nmol/l	44,18	14,02	p < 0,0001
Testosteron S / nmol/l	4,43	1,83	p < 0,0001
Počet oocytů / n	12	11	NS
V FF / ml	52	42	NS

S – sérum, FF – folikulární tekutina

Tab. 5. Dlouhý protokol – celkem 76 žen; u-FSH vs rec-FSH – PR.

	Klin. gravidita	Bez transferu
αGnRH + u-FSH (HP)	27,66 % (13/47)	8,51 % (4/47)
αGnRH + rec FSH	41,38 % (12/29)	3,45 % (1/29)
Celkem	32,89 % (25/76)	6,58 % (5/76)

Tab. 6. Krátký protokol – celkem 126 žen; u-FSH versus rec-FSH – PR.

	Klin. gravidita	Bez transferu
αGnRH + u-FSH (HP)	27,96 % (26/93)	8,60 % (8/93)
αGnRH + rec FSH	12,12 % (4/33)	3,03 % (1/33)
Celkem	23,81 % (30/126)	8,73 % (11/126)

U IVF hormonálně stimulovaných žen se v den odběru oocytů nachází v plazmě, resp. ve FF hladina FSH v průměru $5,43 \pm 2,66$ IU/l, resp. $4,18 \pm 1,96$ IU/l, hladina LH $0,17 \pm 0,41$ IU/l, resp. $0,08 \pm 0,25$ IU/l, progesteronu $30,03 \pm 18,7$ nmol/l, resp. $30\,789 \pm 12\,547$ nmol/l, estradiolu $4,36 \pm 3,39$ nmol/l, resp. 18812 ± 11915 nmol/l a testosteronu $3,45 \pm 2,19$, resp. $32,83 \pm$

$\pm 32,59$ nmol/l (tab. 2). Hladina LH ve FF byla u většiny pacientek pod hranici detekovatelnosti užitou laboratorní metodou. V průměru jsme odebrali cca 48 ml FF při zisku 11,6 oocytů.

Dlouhý stimulační protokol je úspěšnější než krátký. Ze skupiny pacientek stimulovaných krátkým protokolem otěhotnělo

23,81 % vs 32,89 % stimulovaných protokolem dlouhým; bez ET bylo 8,73 % vs 6,58 %. Tento klinicky významný rozdíl není při zhodnocení testem χ^2 -kvadrát významný statisticky, což však může být dáno pouze menší velikostí našeho souboru. Výsledek je v souladu s mnoha pracemi [7,8,9,10,13] dokumentujícími větší úspěšnost dlouhého protokolu oproti krátkému (tab. 3).

Při dlouhém protokolu se dosahuje vyšších hladin FSH jak v séru (6,81 vs 4,60 IU/l), tak ve FF (4,94 vs 3,72 IU/l) a mírně vyšších hladin P4 (v séru: 34,56 vs 27,30 nmol/l i ve FF: 34 346 vs 28 643 nmol/l). Naopak je při dlouhém stimulačním protokolu více potlačena produkce a výskyt LH převážně ve FF: 0,01 vs 0,14 IU/l, v séru pak nevýznamně: 0,16 vs 0,18 IU/l. Dále je při dlouhém protokolu významně snížena hladina E2 v obou tekutinách (sérum: 2,6 nmol/l vs 5,43 nmol/l, FF: 7 670 nmol/l vs 25 533 nmol/l). Nejvýznamněji je však snížena produkce T, sérové hladiny jsou 1,83 nmol/l při dlouhém protokolu vs 4,43 nmol/l při krátkém protokolu; ve FF hladina T 14,02 nmol/l při dlouhém a 44,18 nmol/l při krátkém protokolu.

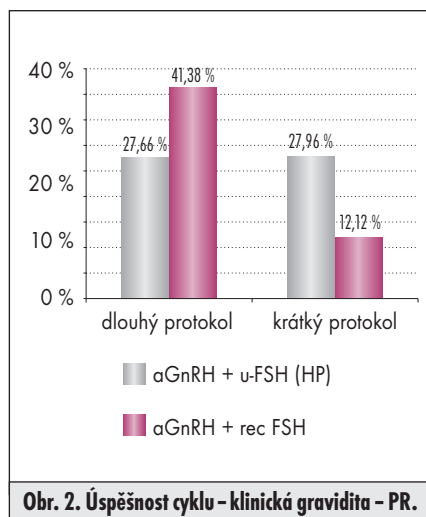
U žen stimulovaných dlouhým protokolem jsme tedy zjistili statisticky velmi významně vyšší hladiny FSH v séru i FF a méně pak P4, zároveň významně nižší hladiny E2 a T v obou tekutinách a významně nižší hladinu LH ve FF, nevýznamně pak v séru (tab. 4. graf 1A a 1B).

Při použití rec-FSH preparátů se dosahuje nejlepších výsledků v kombinaci s dlouhým protokolem (41,4 %), u krátkého protokolu je PR naopak nízký (12,1 %). Vysoce čištěný u-FSH má u obou protokolů stejné výsledky: 27,7 vs 28 % (tab. 5 a tab. 6. graf 2).

Tab. 7. Porovnání dlouhého protokolu s rec-FSH oproti ostatním.

	Dlouhý p. - u-FSH	Dlouhý p. - rec-FSH	Krátký p. - u-FSH	Krátký p. - rec-FSH	Významnost p < 0,005
FSH FF / UI/l	6,08	3,09	4,07	2,75	1,2,3,4,6
FSH S / UI/l	7,94	5,00	5,15	3,05	1,2,3,5,6
LH FF / UI/l	0,018	0,00	0,13	0,25	NS
LH S / UI/l	0,2	0,06	0,18	0,15	NS
Progesteron FF / nmol/l	36560	30759	27747	31311	2
Progesteron S / nmol/l	34,25	35,06	26,63	29,92	NS
Estradiol FF / nmol/l	6957	8824	26610	24424	2,3,4,5
Estradiol S / nmol/l	2,33	3,00	5,54	5,07	2,3,4,5
Testosteron FF/ nmol/l	13,16	15,40	47,63	35,01	2,3,4,5
Testosteron S / nmol/l	1,75	1,96	4,51	4,20	2,3,4,5
Počet oocytů / n	10	12,2	11,9	12,4	NS
V FF / ml	41	42	51	51	NS

Vysvětlivky:					
Signifikantní párový	Dlouhý u-FSH	Dlouhý u-FSH	Dlouhý u-FSH	Dlouhý rec-FSH	Dlouhý rec-FSH
T - test mezi:	x dlouhý rec-FSH	x krátký u-FSH	x krátký rec-FSH	x krátký u-FSH	x krátký rec-FSH
Test č.:	1	2	3	4	5
NS = nesignifikanční rozdíl					6



Obr. 2. Úspěšnost cyklu – klinická gravidita – PR.

V tab. 7 jsou uvedeny rozdíly hormonálních hladin dle použitých protokolů i FSH preparátů a jejich statistická významnost.

Diskuse

Naše práce potvrzuje, že užití dlouhého stimulačního protokolu je při IVF úspěšnější než užití krátkého aGnRH/FSH/HCG protokolu. Tento výsledek je v souladu s většinou prací srovnávající tyto dva protokoly. Autoři [1,7,8,9,10,13] se vesměs shodují ve vyšším implantačním poměru i PR při dlouhém protokolu, což je v souladu i s výsledky naší práce. Naše výsledky se přiklání k výsledkům Ravhona et al [9], který sledoval podobný počet folikulů, oocytů i embryí u obou protokolů.

Z výsledků naší studie vyplývá, že při stimulaci dlouhým protokolem je významně snížena hladina T i E2 v séru i FF a hladina LH je významně nižší ve FF. Výsledek je v souladu s principem stimulace dlouhým protokolem, který využívá supresi hypotalamo–hypofyzární–ovariální osy, tzv. *down–regulaci*, která nastupuje při dlouhodobé aplikaci aGnRH, a tudíž umožňuje optimální kontrolu endogenní sekrece LH [8]. Nižší množství LH tedy méně stimuluje syntézu androgenů, vede k poklesu produkce jak androgenů, tak estradiolu [3]. Naopak hladina FSH je při dlouhém protokolu v obou tekutinách vyšší, což může být však dáno jen rozdílným typem stimulace, podle kterého naše pacientky užívaly při dlouhém protokolu průměrně více jednotek FSH preparátu denně.

Vyšší úspěšnost dlouhého protokolu může tedy vysvětlit nižší LH a androgenů (A), když víme, že hypersekrece LH ve folikulární fázi cyklu je spojena s negativním vlivem na fertilizaci, těhotenství i udržení těhotenství a androgeny způsobují folikulární atrezii a degeneraci oocytů [1].

Tasdemir [13] popisuje při stimulaci dlouhým protokolem vyšší *peak* E2. Dle našich výsledků i výsledků Ravhona et al [9] je tomu právě naopak. Neexistuje konsenzus, zda vyšší E2 má, nebo nemá negativní efekt na kvalitu oocytů a embryí či receptivitu endometria.

Bo–Abbas [1] sledoval rovněž při dlouhém protokolu nižší sérový LH, folikulární androgeny (A) a folikulární E2; v sérovém FSH, A, P4 a E2 neshledává signifikantní rozdíly. Dále udává, že krátký stimulační protokol může pravděpodobně navodit podobné hormonální prostředí, které se nachází u žen s PCOS, charakterizovaným oligomenoreou, hyperandrogenismem, vyšší sekrecí LH a ovariálními A a nižší fertilitou [1].

Krátký stimulační protokol navozuje vyšší sérové hladiny LH, T a nižší počet preovulačních folikulů [4], nižší zisk oocytů a vyšší potratovost než dlouhý [10].

Většina studií srovnávajících rec–FSH s purifikovaným u–FSH udává lepší výsledky IVF při použití rec–FSH, vyšší PR [2, 6, 11]. Naše studie potvrzuje vyšší PR při použití rec–FSH, ale jen v dlouhém stimulačním protokolu, v krátkém naopak významně nižší. Výsledek může být dán malou velikostí našeho souboru, zvláště pak podskupiny stimulované tímto preparátem, a zároveň tím, že ve většině dnešních studií se užívá již jen dlouhý stimulační protokol s GnRH analogem.

Závěr

Závěrem lze z naší práce shrnout, že jsme prokázali vyšší úspěšnost dlouhého stimulačního protokolu, který vykazuje nižší hladiny LH, T a E2 v séru i FF spolu s vyšším PR. Dlouhý protokol tedy lépe kontroluje produkci LH a T a ovaria jsou pod vlivem vyšších hladiny FSH. Rec–FSH má vyšší PR v dlouhém protokolu, v krátkém naopak nižší. U–FSH vykazuje shodné výsledky v obou stimulačních protokolech.

PRÁCE VZNIKLA ZA PODPORY GRANTU
VZ LF UK 111 4 0000 5 /6035/.

Literatura

- Bo–Abbas YY, Martin KA, Liberman RF et al. Serum and follicular fluid hormone levels during in vitro fertilization after short- or long-course treatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril* 2001; 75 (4): 694–99.
- Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Hum Reprod* 1999; 14(9): 2207–2215.
- Duijkers IJM, Willemsen WNP, Hollanders HMG et al. Follicular fluid hormone concentrations after ovarian stimulation using gonadotropin preparations with different FSH/LH ratios. I. and II. *Int J Fertil* 1997; 42 (6): 426–435.

4. Filicori M, Flamigni C, Cognigni GE et al. Different gonadotropin and leuporelin ovulation induction regimens markedly after follicular fluid hormone levels and folliculogenesis. *Fertil Steril* 1996; 65: 387–93.

5. Hughes EG, Fedorkow DM, Daya S et al. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 1992; 58: 888–96.

6. Mannaerts BML, Rombout F, Out HJ et al. Clinical profiling of recombinant follicle stimulating hormone (rFSH; Puregon): relationship between serum FSH and efficacy. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 153–161.

7. Marcus SF, Ledger WL. Efficacy and safety of long-acting GnRH agonist in in vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Fertil (Camb)* 2001; 4 (2): 85–93.

8. Mardešić T. Metody ovariální stimulace. *Postgraduální medicína* 2000; 2 (4): 482–485.

9. Ravhon A, Lawrie H, Ellenbogen A et al. A prospective, randomized controlled trial comparing the efficacy of recombinant follicle-stimulating hormone in three different in vitro fertilization protocols. *Fertil Steril* 2000; 73 (5): 908–912.

10. San Roman GA, Surrey ES, Judd HL et al. A prospective randomized comparison of luteal phase versus concurrent follicular phase initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992; 58: 744–9.

11. Schats R, De Sutter P, Basil S et al. Ovarian stimulation during assisted reproduction treatment: a comparison of recombinant and highly purified urinary human FSH. *Hum Reprod* 2000; 15 (8): 1691–97.

12. Silverberg K, Daya S, Auray JP et al. Analysis of the cost effectiveness of recombinant versus urinary follicle stimulating hormone in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection programs in the United States.

13. Tasdemir M, Tasdemir I, Kodama H et al. Is long-protocol gonadotropin releasing hormone agonist administration superior to the short protocol in ovarian stimulation for in vitro fertilization? *Int J Fertil menopausal Stud* 1995; 40 (1): 25–8.

**MUDr. Renáta Suchá,
Doc. MUDr. Zdeňka Ulčová, CSc.,
MUDr. Richard Pikner*,
MUDr. Vladimír Bouše,
MUDr. Kamila Křížanovská, PhD.
Prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.*,
MUDr. Ladislav Švábek,
MUDr. Pavel Rokyta,
MUDr. Zdeněk Rokyta**

Gynekologicko-porodnická klinika LF UK
a FN v Plzni,
přednosta doc. MUDr. Z. Rokyta, CSc.

*Oddělení nukleární medicíny,
úsek imunodiagnostiky, FN Plzeň,
primářka MUDr. D. Slípková