

## بررسی میزان موفقیت حاملگی در دو روش نزدیکی زمان بندی شده و تلقیح داخل رحمی اسپرم در بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ناباروری ولیعصر

ظاهره افتخار (M.D.)<sup>۱</sup>، شیرین قاضی زاده (M.D.)<sup>۲</sup>، لادن کاشانی (M.D.)<sup>۳</sup>، مریم باقری (B.Sc.)<sup>۴</sup>.

۱- استادیار، مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

۳- دستیار، گروه زنان و زایمان، بیمارستان ولیعصر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

۴- کارشناس، مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** آمنوره هایپوتالامیک یکی از شایع ترین اشکال عدم تخمک گذاری است که در آن کمبود ترشح ضربانی GnRH دیده می شود. در صورت رد علل تخمدانی و هیپوفیزی عدم تخمک گذاری این تشخیص مطرح می شود. شایع ترین نوع آن سرکوب عملکرد تولید مثل است که اغلب نوعی پاسخ روانی-زیست شناختی به حوادث زندگی است و آمنوره هایپوتالامیک عملکردی نامیده می شود. بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک که خواهان حاملگی هستند باید تحت تحریک تخمک گذاری توسط گونادوتروپین های اگزوژن و یا GnRH قرار گیرند. GnRH به طور مداوم و به شکل ضربانی توسط یک پمپ کوچک قابل حمل به دو روش داخل وریدی و زیرجلدی تجویز می شود. بسیاری از بیماران آن را نامناسب می دانند زیرا مجبور هستند در زمان خواب نیز آن را همراه داشته باشند. متأسفانه در ایران پمپ تجویز GnRH در دسترس نیست و بنابراین جهت القاء تخمک گذاری از گونادوتروپین اگزوژن استفاده می شود. پس از تحریک تخمک گذاری، بیماران یا توصیه به نزدیکی زمان بندی شده (TI) و تلقیح داخل رحمی اسپرم (IUI) می شوند و یا تحت لقاح آزمایشگاهی (IVF) و حتی ترزیق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) قرار می گیرند. TI روشی آسان و کم هزینه تر نسبت به IUI و IVF است. هدف از این مطالعه مقایسه میزان موفقیت حاملگی در دو روش IUI و TI می باشد.

**روش بررسی:** این مطالعه به صورت گذشته نگر روی ۳۶ بیمار مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ناباروری بیمارستان ولیعصر دانشگاه علوم پزشکی تهران در فاصله فروردین ۱۳۷۸ لغایت بهمن ۱۳۸۳ انجام شد. این افراد بر اساس معیارهای ورود و خروج، در مطالعه شرکت نمودند. افراد پس از تحریک تخمک گذاری، توسط یکی از دو پروتکل درمانی IUI و TI تحت درمان قرار گرفتند و سپس از نظر میزان موفقیت حاملگی با هم مقایسه گردیدند. از جمله معیارهای ورود، سن بین ۴۰-۲۰ سال و اسپرموگرام طبیعی بود. پرونده هایی که در آن علت ناباروری، عامل مردانه ذکر شده بود، آنومالی رحمی همزمان و یا انسداد لوله رحمی وجود داشت، از این مطالعه خارج شدند. روش های آماری این مطالعه Unpaired Student t-test و Fisher's Exact test و نرم افزار مورد استفاده SPSS (10.5) و سطح معنی داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**نتایج:** در گروه TI از ۲۷ سیکل، ۱۹ مورد حاملگی (۷۰/۳۷٪) و در گروه IUI از ۲۹ سیکل، ۷ مورد حاملگی (۲۴/۱۳٪) اتفاق افتاده است که اختلاف بین این دو روش درمانی معنی دار است ( $p=0.05$ ). از نظر تعداد سقط، حاملگی خارج رحمی و چندقلویی اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت. همچنین از نظر مدت زمان ناباروری، میانگین سن و سایر مشخصات دموگرافیک و زمینه ای اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت.

**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان می دهد که روش TI با توجه به سهولت، ارزانی و نیاز به تجهیزات کمتر می تواند به عنوان اولین روش جهت درمان بیماران مبتلا به ناباروری با علت آمنوره هایپوتالامیک مورد توجه قرارگیرد و روش های دیگر به عنوان گام های بعدی در درمان این بیماران لحاظ شود.

**کلید واژگان:** آمنوره هایپوتالامیک، ناباروری، نزدیکی زمان بندی شده، تلقیح داخل رحمی.

**مسئول مکاتبه:** دکتر شیرین قاضی زاده، مرکز تحقیقات ناباروری ولیعصر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

پست الکترونیکی: shirin\_ghazizadeh@yahoo.com

## زمینه و هدف

کمبود ترشح ضربانی GnRH می‌تواند منجر به فاز لوتئال ناکافی، عدم تخمک‌گذاری با قاعدگی نامنظم و حتی آمنوره هایپوتالامیک<sup>۱</sup> شود. این تشخیص یکی از شایع‌ترین اشکال عدم تخمک‌گذاری است و تنها بعد از کنار گذاشتن علل تخمدانی و هیپوفیزی عدم تخمک‌گذاری مطرح می‌شود. آمنوره هایپوتالامیک عملکردی علت شایع قابل برگشت عدم تخمک‌گذاری است و ۵٪ زنان در سنین باروری دچار آن هستند. در بسیاری از بیماران علت مشخص نیست؛ اما آمنوره اغلب به علت کاهش وزن شدید، ورزش سنگین (ژیمناستیک و یا دو قهرمانی) و استرس روانی به وجود می‌آید. اختلالات نوراندوکراین<sup>۲</sup> متعدد در آمنوره هایپوتالامیک عملکردی وجود دارد که شامل افزایش فعالیت محور آدرنال - هیپوفیز - هیپوتالاموس است که باعث افزایش ترشح کورتیزول، اوپیوئید<sup>۳</sup>، افزایش تون دوپامینرژیک<sup>۴</sup> و افزایش ترشح شبانه ملاتونین می‌شود (۱،۲).

آزاد شدن GnRH توسط مخدرهای داخلی، هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین، ملاتونین و گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA)<sup>۵</sup> مهار می‌شود. اما کاتکول آمین‌ها و استیل کولین و پلی‌پپتید وازواکتیو روده‌ای (VIP)<sup>۶</sup> ضربان‌های GnRH را تقویت می‌کنند. بدین ترتیب بیماری‌های مزمن و سوء تغذیه، استرس، بیماری‌های روانی و ورزش، ضربان‌های GnRH را مهار می‌کنند و بنابراین دوره‌های قاعدگی را تغییر می‌دهند. افزایش پرولاکتین خون، بیماری کوشینگ و آکرومگالی نیز باعث مهار ترشح GnRH می‌شوند. در موارد کاهش شدید GnRH، آمنوره ایجاد می‌شود و با

تغییرات کمتر در ترشح ضربانی GnRH عدم تخمک‌گذاری روی می‌دهد (۳، ۴). در کمبود ایزوله GnRH (سندرم کالمن)<sup>۷</sup> تکامل بلوغ وجود ندارد و یا ناکامل است. این سندرم هر دو جنس را متأثر می‌کند اما در پسرها شایع‌تر بود و اکثر موارد تک‌گیر<sup>۸</sup> است اما می‌تواند ارثی نیز باشد که به صورت اتوزوم غالب وابسته به کروموزوم X و یا مغلوب می‌باشد. در بعضی موارد غیرطبیعی بودن ژن KAL-1 مسئول کدگذاری گلیکوپروتئین و شبیه مولکول چسبندگی عصبی، باعث مهاجرت نورون‌های GnRH از پیاز بویایی هیپوتالاموس می‌شود؛ اما در اکثر موارد اختلال ژنتیکی وجود ندارد و نقصی در ترشح موزون GnRH سبب اختلال در افزایش ترشح GnRH طی بلوغ می‌شود (۵). الگوهای مختلف ترشح ضربانی LH دیده شده است؛ اما در اکثر موارد دامنه ضربان LH پایین است و مشابه الگوی قبل از بلوغ می‌باشد. در سایر موارد ضربان‌های GnRH دامنه و فرکانس نامنظم دارند. در بعضی موارد الگوی مشابه تکامل ناقص بلوغ همراه ترشح شبانه LH وجود دارد (۶، ۷).

بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک که خواهان حاملگی هستند، تحت القاء تخمک‌گذاری قرار می‌گیرند و پس از آن بیماران یا به نزدیکی زمان‌بندی شده (TI)<sup>۹</sup> یا تلقیح داخل رحمی اسپرم (IUI)<sup>۱۰</sup> توصیه می‌شوند و یا تحت درمان با روش‌های پیشرفته ART نظیر تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)<sup>۱۱</sup> و لقاح داخل آزمایشگاهی (IVF)<sup>۱۲</sup> قرار می‌گیرند. برای القای تخمک‌گذاری در بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک از GnRH ضربانی و یا گونادوتروپین‌ها استفاده می‌شود (۸). GnRH به طور مداوم و به شکل ضربانی

7- Calman's syndrome

8- Sporadic

9- Timed Intercourse

10- Intra Uterine Insemination

11- Intra Cytoplasmic Sperm Injection

12- In Vitro Fertilization

1- Hypothalamic amenorrhea

2- Neuroendocrine

3- Opioid

4- Dopaminergic tone

5- Gamma-Amino Butyric Acid

6- Vasoactive Intestinal Poly peptide

۱۷ سیکل IUI انجام شد. ۲۱ مورد حاملگی (۳/۲۶٪) اتفاق افتاد که باعث ۸ مورد سقط (۱/۳۸٪) و ۱۳ مورد زایمان (۶/۴۰٪) شد (۱۱).

در سال ۲۰۰۱ نیز مطالعه‌ای به صورت گذشته‌نگر روی ۲۴ بیمار مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک در ۴۴ سیکل با GnRH وریدی انجام شد. توسط سونوگرافی و ارزیابی سرویکال Insler system زمان تجویز HCG و در صورت لزوم انجام IUI تعیین شد. میزان تخمک‌گذاری ۹۵٪ و میزان کل حاملگی به ازای هر سیکل تخمک‌گذاری ۴۵٪ و میزان حاملگی به ازای هر بیمار ۸۳٪ بود (۱۲).

براساس بررسی‌های فوق تاکنون هیچ مطالعه‌ای در بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک، میزان موفقیت حاملگی در دو روش TI و IUI را به دنبال تحریک تخمک‌گذاری مقایسه نکرده است. لذا هدف این مطالعه بررسی میزان موفقیت حاملگی در دو روش IUI و TI بود.

### روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت گذشته‌نگر در سال ۸۳-۱۳۸۲ در بخش زنان و زایمان بیمارستان ولیعصر مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. کلیه بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک که در فاصله سال‌های ۱۳۷۸ لغایت ۱۳۸۳ مراجعه کرده بودند و همچنین همسرانشان اسپرموگرام طبیعی داشتند و دارای سن ۴۰-۲۰ سال بودند وارد مطالعه شدند. معیارهای خروج از مطالعه موارد ناباروری با علت مردانه، وجود آنومالی‌های رحمی همزمان و وجود انسداد لوله‌های رحمی بود. حجم نمونه ۳۶ بیمار و ۵۶ سیکل بود. از آنجا که همه بیماران این طرح از مرکز تحقیقات ناباروری ولیعصر بودند، تکنیک آماده‌سازی بیماران برای همگی یکسان بود. همچنین تمامی بیماران از داروهای تهیه شده از یک

توسط یک پمپ کوچک قابل حمل در سطح بدن، به دو روش داخل وریدی و زیر جلدی تجویز می‌شود. بسیاری از بیماران این پمپ را نامناسب می‌دانند زیرا آنها مجبور هستند در زمان خواب نیز پمپ را همراه داشته باشند. مزایای استفاده از پمپ GnRH نسبت به تجویز گونادوتروپین شامل خطر کمتر حاملگی چندقلویی است و بیمار مانیتورینگ کمی نیاز دارد (۶). راه دیگر القای تخمک‌گذاری، تجویز گونادوتروپین‌های اگزوژن است. میزان پاسخ بیماران به این روش متفاوت است. گروهی از زنان به دوز پایین گونادوتروپین ( $45 IU$ ) حساس هستند و گروهی نیازمند گونادوتروپین با دوز بالا ( $75 IU$ ) برای بیشتر از ۱۴ روز می‌باشند (۹). در یک مطالعه در سال ۱۹۹۳، شانزده بیمار مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک تحت القاء با GnRH وریدی قرار گرفتند. در مجموع طی تعداد ۴۷ سیکل، GnRH با دوز  $20 \mu gr/90 min$  در طی فاز فولیکولی تجویز شد و به دنبال آن در ۳-۵ روز بعد از تخمک‌گذاری به ۱ پالس کاهش یافت. فازلوتئال نیز با  $1000 IU/48h$  HCG تا پایان هفته پنجم حمایت شد. در خانم‌هایی که همسر آنان دارای آنالیز اسپرم طبیعی بود، نزدیکی جنسی و در موارد ناباروری با علت مردانه IUI انجام شد. در ۸۳٪ سیکل‌ها تخمک‌گذاری اتفاق افتاد که منجر به ۱۳٪ حاملگی کلینیکی و ۱۹٪ حاملگی بیوشیمیایی شد. با کنار گذاشتن ناباروری با علت مردانه میزان حاملگی ۲۶٪ کل سیکلها، ۲۸٪ سیکل‌های تخمک‌گذاری و ۵۶٪ خانمها بود (۱۰).

در مطالعه دیگری در سال ۱۹۹۹، سی و دو بیمار مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک با GnRH یا HMG تحت درمان قرار گرفتند. ۲۲ بیمار ۳۸-۲۴ ساله تحت ۱۳۰ سیکل تحریکی با GnRH قرار گرفتند و ۷ بیمار مبتلا به PCO به علت عدم پاسخ به GnRH با HMG درمان شدند. تخمک‌گذاری بعد از تجویز HMG و LH در ۸۰ سیکل از ۱۳۰ سیکل (۷/۷۷٪) اتفاق افتاد. در ۶۲ سیکل TI و در

شرکت دارویی (Serono, Italy) استفاده نمودند؛ لذا از این لحاظ هیچ اختلافی بین بیماران وجود نداشت. روش اجرایی مطالعه به این شکل بود که بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک مراجعه کننده جهت درمان ناباروری براساس معیارهای ورود و خروج مطالعه، یکی از ۲ پروتکل درمان یعنی IUI و TI را جهت درمان ناباروری دریافت کرده بودند، نتایج درمان و همچنین اطلاعات دموگرافیک از پرونده‌های این بیماران اخذ و وارد فرم اطلاعاتی گردید و سپس این اطلاعات جهت آنالیز به فایل SPSS (10.5) منتقل شد.

در این مطالعه برای مقایسه سن بین دو گروه، مدت زمان ناباروری بین دو گروه از unpaired Student's t- test دو طرفه و برای مقایسه تعداد سیکل‌ها بین دو گروه از آزمون ناپارامتری Mann-Whitney استفاده گردید.

برای مقایسه تعداد حاملگی، حاملگی خارج رحمی، چندقلویی و سقط از Fisher's Exact test استفاده شد. اطلاعات مربوط به شغل و تحصیلات به صورت آمار توصیفی بیان شده است.  $p\text{-value} < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## نتایج

مشخصات دموگرافیک و زمینه‌ای بیماران در جدول

شماره ۱ آمده است.

**تعداد سیکل‌ها در دو گروه TI و IUI:** در گروه TI میانگین و انحراف معیار تعداد سیکلها  $1/5 \pm 0/85$  و در گروه IUI میانگین و انحراف معیار تعداد سیکلها  $1/61 \pm 0/6$  بود. Mann - whitney test دو طرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

**تعداد حاملگی در دو گروه TI و IUI:** در گروه TI، ۱۹ حاملگی در ۲۷ سیکل ( $70/37\%$ ) و در گروه IUI، ۷ حاملگی در ۲۹ سیکل ( $24/13\%$ ) مشاهده شد. Fisher's Exact test دو طرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود داشته است ( $p=0/05$ ).

**تعداد چند قلویی در دو گروه TI و IUI:** در گروه TI، ۶ مورد چند قلویی در ۲۷ سیکل و در گروه IUI، ۲ مورد چندقلویی از ۲۹ سیکل مشاهده شد. Fisher's Exact test دو طرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

**تعداد حاملگی خارج رحمی در دو گروه TI و IUI:** در هر گروه یک مورد حاملگی خارج رحمی مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

**تعداد سقط در دو گروه TI و IUI:** در گروه TI، ۴ مورد سقط و در گروه IUI، ۱ مورد مشاهده شد. Fisher's Exact test دو طرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

جدول ۱- مشخصات دموگرافیک بیماران در دو گروه TI و IUI در مبتلایان به آمنوره

هایپوتالامیک مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ناباروری ولیعصر، ۸۳-۱۳۷۸

متغیر	گروه	نزدیکی زمان بندی شده	تلقیح داخل رحمی اسپرم	p-value
سن (سال) (M±SD)		۲۶/۸۸±۳/۸۱	۲۶/۲۷±۲/۸۴	۰/۰۵۸
طول مدت ناباروری (سال) (M±SD)		۴/۲۸±۳/۰۰	۴±۳/۹۵	۰/۰۶۹
تحصیلی وضعیت	زیر دیپلم	۶	۵	--
	دیپلم	۹	۱۱	
	تحصیلات دانشگاهی	۳	۲	
شغلی وضعیت	خانه‌دار	۱۱	۱۱	--
	کارگر	۱	۲	
	کارمند	۶	۵	

## بحث

ناباروری بار روانی و مالی زیادی بر بیمار و خانواده وی تحمیل می‌کند. استفاده از روش‌های درمانی تخصصی و پر هزینه در اولین قدم و شکست این روش‌ها علاوه بر هزینه‌های مالی، آثار روحی و روانی مضاعفی را نیز بر زوجین خواهد گذاشت. استفاده از درمان‌های آسان و کم هزینه‌تر در اولین قدم انتخاب خوبی برای بیمار خواهد بود. چرا که حتی شکست این روشها آثار مخرب فکری کمتری برای بیمار دارد. در صورت شکست روش‌های تخصصی این مسئله قویاً فکر و ذهن بیمار را به خود مشغول کرده و می‌تواند سبب ناامیدی وی شود.

در مطالعه حاضر مشخص شد در گروه TI از ۲۷ سیکل، ۱۹ مورد حاملگی و در گروه IUI از ۲۹ سیکل فقط ۷ مورد حاملگی اتفاق افتاده است. لذا اختلاف معنی‌داری بین این دو روش حتی با این تعداد کم حجم نمونه مشاهده شد. به نظر می‌رسد نتایج مطالعه کنونی موید این امر است که احتمالاً TI روش موثرتری در مقایسه با IUI در درمان ناباروری بیماران مبتلا به آمنوره هایپوتالامیک خواهد بود. با توجه به بار اقتصادی کمتر روش TI نسبت به IUI، صرف وقت کمتر، و نیاز به تجهیزات محدودتر، به نظر می‌رسد روش TI قابل اجرا در بسیاری از مراکز با امکانات محدود باشد.

در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری بین دو گروه

از نظر سقط، چند قلوئی و حاملگی خارج رحمی مشاهده نشد. در جستجویی که در نمایه نامه Medline از سال ۱۹۶۶ تا پایان سال ۲۰۰۴ انجام شد، هیچ مطالعه‌ای که به طور مستقیم دو روش TI و IUI را با هم مقایسه نماید، مشاهده نگردید. در مطالعه‌ای که توسط Dessole و همکاران در سال ۱۹۹۳ انجام گرفت درصد حاملگی از کل سیکل‌ها فقط ۲۶٪ بود که به نظر می‌رسد بسیار کمتر از درصد حاملگی در مطالعه ما باشد (۲۰).

در مطالعه دیگری که توسط Marci و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام گرفت، مجموع بارداری در دو گروه TI و IUI ۳۸/۱٪ بود (۱۱).

## نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های این مطالعه از جمله روش مطالعه که به صورت گذشته‌نگر انجام گرفته است و تعداد نسبتاً محدود بیماران، به طبع نمی‌توان نتیجه‌گیری قاطعی انجام داد. با این حال مطالعه حاضر می‌تواند جرقه‌ای برای انجام یک مطالعه آینده‌نگر، با حذف عوامل مخدوش‌کننده و تعداد حجم نمونه بالا باشد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که روش TI با توجه به سهولت، ارزانی و نیاز به تجهیزات کمتر می‌تواند بعنوان اولین روش جهت درمان بیماران مبتلا به ناباروری به دلیل آمنوره هایپوتالامیک مورد توجه قرار گیرد و روش‌های دیگر به عنوان گام‌های بعدی در درمان این بیماران لحاظ شود.

## References

- 1- Jaffe R.B. Long-term follow up of functional hypothalamic amenorrhea and prognostic factors. *Obstet Gynecol Sur.*2002;57:512-514.
- 2- Berga S.L. Functional hypothalamic amenorrhea. *Curr Opin Endocrinol Diabetes.* 2001;8: 207-313.
- 3- Berek J.S. Novak's Gynecology. 13<sup>th</sup> Edition.2002. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore, USA.
- 4- Speroff L., Glass R.H., Kase N.G. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 6<sup>th</sup> Edition.1999. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore, USA.
- 5- Marshall J.C., Eagleston C.A., McCartney C.R. Hypothalamic dysfunction. *Molecul Cellul Endocrinol.*2001; 183:29-32.
- 6- Reame N.E., Sauder S.E., Case G.D. Pulsatile gonodotropin secretion in women with hypothalamic amenorrhea: evidence that reduced frequency of gonodotropin-releasing hormone secretion is the mechanism of persistent anovulation. *J Clin Endocrinol Metab.*1985; 61:851-858.

- 7- Haisnleder D.J., Dalkin A.C., Marshall J.C. Regulation of gonadotropin gene expression. In: Knobil, E., Neill, J. (Eds), *The physiology of Reproduction*, second ed. Raven Press, New York, NY, p:1793, Chapter 31.
- 8- Wolf L.J. Ovulation induction. *Clin Obstet Gynecol.* 2000;15:902-915.
- 9- Gardner D.K., Weissman A., Howles C.M., Shoham Z. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques Laboratory and Clinical Perspectives (2<sup>nd</sup> Edition)*. 2004. Taylor and Francis.
- 10- Dessole S., Germond M., Senn A., Welti H., De Grandi P. Ovulation induction by Pulsatile intravenous administration of Gn-RH to patients with hypothalamic amenorrhea. *Minerva Gynecology.* 1993;45:71-76.
- 11- Marci R., Dessole S., Senn A, Grandi P., Germond M. Follow-up of 32 hypothalamo-hypopituitary patients treated with Pulsatile gonadotropin-releasing hormone or human menopausal gonadotropin. *Gynecol Endocrinol.* 1999;13(6):375-81.
- 12- Kesrouani A., Abdallah M.A., Attieh E., Abboud J., Atallah D., Makhoul C. Gonadotropin-releasing hormone for infertility in women with primary hypothalamic amenorrhea. Toward a more interventional approach. *J Reprod Med.* 2001;46:23-28.