

Comparación entre el uso de hCG vs hCG + acetato de triptorelina (DUAL TRIGGER) en pacientes normorrespondedoras

Comparison between the use of hCG vs. hCG + triptorelin acetate (DUAL TRIGGER) in patients normo-responders

Miranda Maurín MC¹, Kunz MJ¹, Ganzer L¹, Fraustschi C¹, Lofredo M¹, García C¹, Estofán L¹.

¹ Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR), Córdoba, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿El uso de dual trigger para maduración final ovocitaria mejora los resultados reproductivos en normorespondedoras?

Respuesta resumida: Con dual trigger se obtuvo mayor proporción de ovocitos recuperados, ovocitos MII por paciente y embriones criopreservados para futuras transferencias.

Lo que ya se sabe: Hay resultados opuestos sobre si la descarga con hCG + análogos GnRH aumenta la cantidad de ovocitos MII y buenos embriones.

Diseño del estudio: Estudio retrospectivo, caso-control. Grupo estudio de 54 pacientes y 108 en grupo control. Periodo de estudio desde Junio del 2021 hasta Abril 2024.

Materiales y Métodos: Se incluyeron pacientes que realizaron ICSI menores a 40 años, con HAM [1,2 – 3,5] ng/ml, y/o FSH <10 UI/ml. El grupo de estudio realizó maduración final ovocitaria con hCG + análogo de GnRH y el grupo control con hCG, en pacientes en proporción 2:1 con el grupo de estudio para coincidir en la edad, folículos antrales, finales y

ABSTRACT

Study question: Does the use of dual triggering for final oocyte maturation improve reproductive outcomes in normal responders?

Summary answer: Dual triggering resulted in a higher proportion of retrieved oocytes, MII oocytes per patient, and cryopreserved embryos for future transfers.

What is already known: There are conflicting results regarding whether hCG + GnRH analogues increase the number MII oocytes and good embryos.

Study design: Retrospective, case-control study. Study group of 54 patients and 108 in the control group. Study period from June 2021 to April 2024.

Materials and Methods: Patients under 40 years of age who underwent ICSI with AMH [1.2–3.5] ng/ml and/or FSH <10 IU/ml were included. The study group underwent final oocyte maturation with hCG + GnRH analogue, and the control group with hCG. Patients were matched 2:1 with the study group to match age, final antral follicles, and gonadotropin doses used. Retrieved

dosis de gonadotrofinas utilizadas. Se analizaron ovocitos recuperados, MII, embriones obtenidos, embriones de buena calidad, embarazo clínico por paciente, tasa de implantación y embriones criopreservados disponibles. Se usaron promedios, test-t, Mann-Whitney, y Chi-cuadrado. Se consideró una $p < 0,05$ como estadísticamente significativa.

Resultados: El grupo de estudio obtuvo un mayor porcentaje de ovocitos recuperados/folículos finales (82% vs 77% - $p = 0,0027$), mayor cantidad de ovocitos MII ($9,4 \pm 4,2$ vs $8,0 \pm 4,2$ - $p = 0,0412$). No hubo diferencias en embriones obtenidos, embriones de buena morfología, y embarazo clínico acumulado por paciente (61% vs 66% - NS). Para lograr resultados acumulados las pacientes de Dual Trigger se transfirieron menos embriones ($1,4 \pm 0,5$ vs $1,7 \pm 0,9$ - NS) totales, quedando disponibles para futuras transferencias 62% vs 42% de los embriones logrados ($p < 0,0001$).

Implicancias de los hallazgos: En concordancia con estudios previos se encontró mayor tasa de ovocitos maduros en dual trigger en pacientes normorrespondedoras. La mayor proporción de embriones criopreservados en el grupo de dual trigger permitiría más oportunidades de transferencias embrionarias sin realizar un nuevo ICSI.

Palabras clave: dual trigger, maduración final ovocitaria, normorrespondedoras.

oocytes, MII, embryos obtained, good-quality embryos, clinical pregnancy per patient, implantation rate, and available cryopreserved embryos were analyzed. Averages, t-tests, Mann-Whitney tests, and chi-square tests were used. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The study group obtained a higher percentage of retrieved oocytes/final follicles (82% vs. 77% - $p = 0.0027$) and a higher number of MII oocytes (9.4 ± 4.2 vs. 8.0 ± 4.2 - $p = 0.0412$). There were no differences in the number of embryos retrieved, embryos with good morphology, and cumulative clinical pregnancy per patient (61% vs. 66% - NS). To achieve cumulative results, the Dual Trigger patients transferred fewer embryos (1.4 ± 0.5 vs. 1.7 ± 0.9 - NS), leaving 62% vs. 42% of the embryos retrieved available for future transfers ($p < 0.0001$).

Implications of the findings: In line with previous studies, a higher rate of mature oocytes was found in dual trigger patients who responded normally. The higher proportion of cryopreserved embryos in the dual trigger group would allow for more opportunities for embryo transfers without performing a repeat ICSI.

Key words: dual trigger, final oocyte

INTRODUCCIÓN

En el ciclo natural humano, cuando los niveles de estradiol secretado por los folículos preovulatorios superan los 200 pg/ml se produce la liberación de la GnRH desde la hipófisis, la cual producirá el aumento de la secreción tanto de FSH como de LH⁽¹⁾. El aumento de FSH induce la formación de receptores de LH en las células de la granulosa⁽²⁾ mientras que la elevación de la LH genera cambios intracelulares en los ovocitos que se encuentran arrestados en profase I y en los niveles de cAMP/cGMP de las células de la granulosa. Esto provoca la reanudación de la meiosis hasta metafase II, consiguiendo la maduración del ovocito, estado en el cual adquiere la competencia para poder ser fertilizado por un espermatozoide⁽³⁾ y la luteinización de las células de la granulosa que comienzan a liberar progesterona.

En los ciclos de estimulación ovárica controlada para tratamientos de alta complejidad (ICSI/FIV) se induce el crecimiento sincrónico de la mayor cantidad de folículos que sea posible, con la administración de FSH y/o menotropinas. Para la maduración ovocitaria inicialmente se utilizaba hCG debido a la similitud de la subunidad beta entre la hCG y la LH, lo que permite la estimulación de los receptores de LH en las células de la granulosa⁽⁴⁾. Sin embargo la hCG posee una afinidad mayor por los receptores de LH y es cinco veces más potente que la LH, a la vez que su vida media, y por ende sus efectos, son más prolongados⁽³⁾. Además, la administración de hCG promueve la liberación de factores vasculares como el VEGF, el cual aumenta la permeabilidad vascular y el riesgo de SHEO⁽¹⁾. A raíz de estas complicaciones y con el desarrollo de ciclos de estimulación con esquemas con antagonistas de GnRH

para la inhibición del pico prematuro de LH se comenzaron a utilizar agonistas de GnRH para la maduración ovocitaria⁽⁵⁾, los cuales producen una respuesta más fisiológica con la liberación de FSH y LH endógena de la hipófisis⁽⁶⁾. La corta duración del pico de LH causa una luteólisis temprana con disminución de LH a las 24-36 horas, lo cual explica la disminución del SHEO por disminución de la liberación de péptidos vasoactivos como el VEGF⁽⁷⁾, sin embargo también se asocia con mayores tasas de aborto en transferencias en fresco y baja tasa de embarazo por deficiencia del cuerpo lúteo^(5,8).

La doble descarga, o dual trigger, surge como una estrategia para aprovechar el beneficio de ambos tipos de descarga, tanto la reducción del SHEO de los análogos como el rescate del cuerpo lúteo generado por la administración de hCG⁽⁷⁾. Ambas se prescriben entre 35-37 horas previo a la punción ovocitaria, o 40 y 34 horas previo a la misma (double trigger)⁽⁹⁾. Diversos estudios mostraron la efectividad de esta combinación respecto a mejor tasa de ovocitos maduros recuperados y, embriones de buena calidad⁽¹⁰⁾, mientras que el estudio realizado por Sule demostró que no se vería afectada la euploidia embrionaria⁽¹¹⁾. Sin embargo, el metaanálisis publicado por el grupo de Gonzalez no encontró diferencias respecto a ovocitos maduros obtenidos ni embriones de buena calidad⁽¹⁵⁾.

No está claro si existe beneficio del uso de dual trigger respecto a los resultados en transferencia de embriones en fresco y congelados y tasa de embarazo acumulado.

El objetivo de este estudio es analizar si el uso de dual trigger para maduración final ovocitaria mejora los resultados reproductivos en normorrespondedoras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de caso-control en el que se recolectaron datos de pacientes normorespondedoras que realizaron tratamiento de alta complejidad, ICSI, en el periodo comprendido entre Junio del 2021 hasta Abril del 2024. Los criterios de inclusión fueron: edad menor de 40 años, recuento de folículos antrales mayor a 5, Hormona Antimulleriana entre 1,2 y 3,5 ng/ml y/o FSH menor a 10 UI/ml.

La estimulación folicular inició entre el día 2-3 del ciclo luego de control ecográfico y valoración de estradiol basal, se utilizó esquema con gonadotrofinas con dosis entre 225 a 300 UI/día y antagonistas de GnRH indicados cuando se objetivó un folículo mayor a 14 mm o estradiol mayor o igual a 500 pg/ml. Se conformaron dos grupos según el tipo de descarga de maduración ovocitaria realizada. El grupo de estudio comprendió 54 pacientes que recibieron descarga con 250 ugr de hCGr (Ovidrel Sc) + 0,2 mg de acetato de triptorelina (Gonapeptyl Sc), mientras que el grupo control quedó conformado por 108 pacientes las cuales recibieron 250ugr de hCGr (Ovidrel Sc) o 10000 UI hCGu (Dinaron IM) para la maduración final. Las pacientes incluidas en el grupo control se seleccionaron en proporción 2:1 con el grupo de estudio para coincidir en la edad, folículos finales, folículos antrales y dosis de gonadotrofinas utilizadas.

En ambos, la descarga se realizó luego de obtener 2 o más folículos mayores a 18 mm y la punción para la captación ovocitaria fue realizada a las 36 horas de haber sido administradas.

Se realizó ICSI a las 5-6 horas post aspiración y, se comprobó fertilización a las 17 horas. Se transfirieron aquellos embriones con calidad 1-2 embriones en día 3-4 o un blastocisto en día 5, y se criopreservaron

en día 5-6 los de calidad blastocistos desarrollados no transferidos. Se consideraron de buena calidad embriones de día 3 de 8 o más células y hasta 10% de fragmentos, mórulas de día 4 compactadas, sin fragmentos y sin vacuolas⁽¹²⁾, y blastocistos 3BB o mejores según la clasificación de Gardner⁽¹³⁾.

Análisis de datos estadísticos

Las pacientes de los grupos se compararon en: edad, HAM, FSH basal, recuento de folículos antrales (RFA), dosis de gonadotrofinas, folículos finales.

Se analizaron las siguientes variables: cantidad de ovocitos recuperados, proporción de ovocitos recuperados por folículos totales, proporción de ovocitos MII por ovocitos recuperados, tasa de MII fertilizados normales por MII inyectados, tasa de embriones viables por ovocito fertilizado y tasa de embriones de buena calidad obtenidos por ovocito fertilizado.

Se analizaron los resultados acumulados logrados luego de transferencia en fresco y/o criopreservados: de embarazo clínico acumulado (total de embarazos con visualización ecográfica de embrión con latido cardíaco positivo de 7 o más semanas por paciente), y de implantación acumulada (total de sacos gestacionales por total de embriones transferidos).

El análisis estadístico se realizó con el paquete Med Calc (10.2.0.0). Se compararon promedios mediante test-t o test de Mann-Whitney según fuera normal o no la distribución de cada variable. Se compararon proporciones mediante test de Chi-cuadrado. Un $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

El estudio incluyó 162 pacientes: 54 en el grupo que recibió dual trigger y 108 en

el grupo que recibió hCG. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos respecto a la edad, valores de HAM iniciales, RFA, dosis de gonadotrofinas utilizadas en la estimulación, y cantidad de folículos finales previa a la descarga con hCG o con dual trigger.(Tabla 1).

Los resultados de embriología se exponen en la tabla 2. Se encontró mayor proporción de ovocitos recuperados por folículos finales en el grupo de la doble descarga ($p = 0,0027$), con una mayor cantidad de ovocitos MII recuperados ($p = 0,0412$), aunque no mayor de MII.

Luego del ICSI fueron comparables entre los grupos la tasa de fertilización por ovocito inyectado, y las tasa de embriones totales y de buena calidad por ovocito

fertilizado.

Respecto a los resultados reproductivos se analizó el total de transferencias realizadas en ambos grupos incluyendo transferencias de embriones en fresco y criopreservados. Se realizaron 60 transferencias del grupo en estudio y 155 en el grupo control, a 46 y 100 pacientes, lo que resultó en un promedio de transferencias por pacientes de $1,3 \pm 0,5$ y $1,6 \pm 0,9$. Se transfirieron un total de 63 y 170 embriones respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de embarazo clínico ni en la tasa de implantación acumuladas. Estos resultados comparables se lograron de manera más eficiente en el grupo de dual trigger, con transferencia de un total de 63 embriones (38% de los 166

Tabla 1. Características sociodemográficas y resultados de estimulación ovocitaria

	Dual Trigger	hCG	p
N	54	108	
Edad	$35,2 \pm 2,7$	$34,8 \pm 3,0$	0,3744
HAM	$2,2 \pm 0,8$	$2,0 \pm 0,7$	0,9797
FSH basal	$6,9 \pm 1,9$	$7,0 \pm 2,0$	0,5980
Folículos antrales (RFA)	$11,8 \pm 4,1$	$12,4 \pm 4,2$	0,3247
Dosis gonadotrofinas	2235 ± 403	2169 ± 450	0,3216
Folículos finales	$14,1 \pm 4,5$	$13,3 \pm 4,4$	0,2493

Valores expresados en N y %.

Tabla 2. Resultados de embriología

	Dual Trigger	hCG	p
Folículos finales	764	1435	
Ovocitos recuperados	628 (82%)	1099 (77%)	0,0027
	$11,6 \pm 5,0$	$10,2 \pm 5,1$	0,0871
Ovocitos MII	507 (81%)	869 (79%)	0,4456
	$9,4 \pm 4,2$	$8,0 \pm 4,2$	0,0412
MI I inyectados	485	848	
MI I fertilizados	343 (71%)	564 (67%)	0,1283
Embriones totales obtenidos	166 (48%)	294 (52%)	0,2745
Embriones de buena calidad	133 (38%)	238 (42%)	0,3581
Embriones totales/paciente	$2,5 \pm 2,0$	$2,4 \pm 1,5$	0,5202

Valores expresados en N y % o promedios $\pm$ sd.

embriones obtenidos) comparado con el grupo de hCG en el que se transfirieron en total 170 embriones (58% de los 294 embriones transferidos). A la fecha queda 103 y 124 embriones sin transferir en cada grupo (62% vs 42% - $p < 0,0001$). (Tabla 3).

DISCUSIÓN

El dual trigger se ha estudiado e implementado en los últimos años como una estrategia para la maduración final ovocitaria en pos de obtener mejores resultados reproductivos. Varios trabajos han sido realizados para establecer si realmente existe un beneficio o no del dual trigger respecto a los resultados reproductivos en pacientes normorrespondedoras.

En nuestro trabajo, hemos encontrado aumento significativo en el porcentaje de ovocitos recuperados por folículo en el grupo de doble descarga al igual que los estudios publicados de Haas et al, Ali et al, Gonzalez et al y Setti et al ^(9,10,14,15).

La cantidad de ovocitos MII obtenidos fue significativamente mayor en el grupo de doble descarga, tal como lo hicieron los grupos de Haas y Ali^(9,10) pero con una proporción de MII por ovocitos recuperados comparable, lo que indica que la mayor cantidad de MII se debe a mayor recuperación ovocitaria, no a una maduración

diferente. Un metaanálisis publicado en 2023 por Gonzalez, que incluyó 4 estudios randomizados controlados y 2 estudios de cohorte prospectivos estableció que si bien hay un aumento en la cantidad de ovocitos MII recuperados y mayor cantidad de embriones obtenidos esta diferencia no es significativa⁽¹⁵⁾. Se sabe que el uso de análogos de GnRH produce una inducción de la ovulación más fisiológica al producir tanto la liberación de FSH como de LH que inicia incluso a las 4 horas de su colocación. Diversos estudios han demostrado que la liberación de FSH en la mitad del ciclo ayuda a la formación de receptores de FSH en las células de la granulosa y además tendría un rol en la activación de la meiosis ovocitaria, promoviendo la expansión de las células de la granulosa y separando al ovocito de las paredes foliculares, facilitando su maduración y ovulación⁽⁹⁾, mientras que la exposición a LH reanuda la meiosis y maduración ovocitaria desde metafase I hasta la metafase II adquiriendo la competencia para ser fertilizado⁽³⁾. El dual trigger entonces puede generar una respuesta más temprana y maduración de ovocitos más potente por el efecto de la FSH y LH endógenas mientras que la hCG exógena podría servir como rescate en caso de una respuesta insuficiente a

Tabla 3. Características sociodemográficas y resultados de estimulación ovocitaria

	Dual Trigger	hCG	p
Pacientes transferidas	46	100	
Transferencias	60	155	
Transferencia/paciente	1,3±0,5	1,6±0,9	0,2407
Embarazo clínico/paciente	28 (61%)	66 (66%)	0,6779
Embriones totales obtenidos	166	294	
Embriones transferidos	63	170	
Embriones transferidos por paciente	1,4±0,5	1,7±0,9	0,0845
Sacos gestacionales (tasa de implantación)	29 (46%)	68 (40%)	0,4965
Embriones criopreservados disponibles	103 (62%)	124 (42%)	<0,0001

Valores expresados en N y % o promedios ± sd.

los análogos⁽¹⁶⁾. Esto explicaría la mayor recuperación de ovocitos maduros demostrada por Griffin *et al*⁽¹⁷⁾ en pacientes con historia previa de recuperación de más de un 25% de ovocitos inmaduros.

Respecto a la tasa de fertilización, nuestros resultados concuerdan con la mayoría de las publicaciones que concluyen que la diferencia no es significativa^(2,9,14) por lo que ambas estrategias son comparables y no habría una alteración en la calidad de las gametas.

Sobre la tasa de implantación los resultados son más heterogéneos ya que hay grupos que al igual que nosotros, si bien obtuvieron porcentajes mayores estos no fueron significativos^(2,9,18) mientras que otros, encuentran valores aumentados con significancia estadística^(1,10,14).

Por otro lado, si bien se han logrado tasas de embarazo acumuladas comparables entre los grupos, el grupo de doble descarga lo ha hecho con un número menor de transferencias y de embriones totales transferidos. Y aunque la proporción de pacientes embarazadas no es estadísticamente diferente entre los grupos, el grupo de doble descarga dispone de más embriones criopreservados para futuras transferencias, lo que representaría mayor posibilidad de nuevas transferencias sin necesidad de realizar un nuevo ciclo de estimulación ovárica. Este parámetro de valor en lo que respecta al futuro reproductivo de las pacientes es analizado solo en algunas publicaciones^(9,10,18).

Entre las debilidades de nuestro estudio están el diseño retrospectivo, y el tiempo corto de seguimiento que no permite ver tasas de embarazo acumulado finales, luego de la transferencia de todos los embriones disponibles criopreservados. Dentro de las fortalezas, se destaca la cantidad de

pacientes en comparación a otros estudios publicados, la homogeneidad de pacientes mediante el diseño de caso-control elegido, la estandarización de los protocolos respecto a las dosis y horarios de aplicación tanto de la hCG como del agonista, y la publicación de los resultados aún si estos no están en concordancia con estudios de mayor poder estadístico.

A futuro, creemos que es importante poder continuar con el desarrollo prospectivo de este estudio donde podamos incluir mayor cantidad de pacientes y la aleatorización de las mismas. A su vez, poder realizar un estudio semejante en pacientes baja respondedoras en quienes puede resultar una opción para obtener mejores resultados reproductivos.

CONCLUSIÓN

La doble de descarga es una estrategia válida en pacientes normorespondedoras, ya que permite mayor obtención de ovocitos totales y maduros sin afectar la tasa de fertilización, tasa de embarazo y tasa de implantación, permitiendo disponer mayor cantidad de embriones criopreservados para futuras transferencias.

ABREVIATURAS

hCG: Gonadotrofina Coriónica humana

FSH: Hormona Folículo Estimulante

LH: Hormona Luteinizante

ICSI: Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotrofinas

VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

SHEO: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica

HAM: Hormona Anti Mulleriana

RFA: Recuento de Folículos Antrales

REFERENCIAS

1. Zhu, Haiyan *et al.* "Dual Trigger for Final Follicular Maturation Improves Cumulative Live-Birth Rate in Ovarian Stimulation for Freeze-All *In Vitro* Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles." *Frontiers in endocrinology* vol. 12 708247. 19 Jul. 2021, doi:10.3389/fendo.2021.708247
2. Albeitawi, Soha *et al.* "Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves oocyte yield in normal responders on GnRH-antagonist cycles." *JBRA assisted reproduction* vol. 26,1 28-32. 17 Jan. 2022, doi:10.5935/1518-0557.20210039
3. Abbara, A., Clarke, S. A., & Dhillon, W. S. (2018). Novel Concepts for Inducing Final Oocyte Maturation in In Vitro Fertilization Treatment. *Endocrine Reviews*, 39(5), 593–628. doi:10.1210/er.2017-00236
4. Shakerian, Bahar *et al.* "Dual Trigger Compared with Human Chorionic Gonadotropin Alone and Effects on Clinical Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection." *International journal of fertility & sterility* vol. 15,4 (2021): 294-299. doi:10.22074/IJFS.2021.135720.1010
5. Humaidan, P., Kol, S., & Papanikolaou, E. (2011). GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice? *Human Reproduction Update*, 17(4), 510–524. doi:10.1093/humupd/dmr008
6. Kozlowski, Isadora Ferreira *et al.* "Dual trigger and the impact on oocyte quality and embryo development: a Brazilian cohort." *JBRA assisted reproduction*, vol. 27,4 629–637. 28 Sep. 2023, doi:10.5935/1518-0557.20230048
7. Engmann, L., Benadiva, C., & Humaidan, P. (2016). GnRH agonist trigger for the induction of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF cycles: a SWOT analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 32(3), 274–285. doi:10.1016/j.rbmo.2015.12.007
8. Shapiro, B. S., Daneshmand, S. T., Garner, F. C., Aguirre, M., & Hudson, C. (2011). Comparison of "triggers" using leuprolide acetate alone or in combination with low-dose human chorionic gonadotropin. *Fertility and Sterility*, 95(8), 2715–2717. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.03
9. Ali, Shymaa S *et al.* "Dual trigger using recombinant HCG and gonadotropin-releasing hormone agonist improve oocyte maturity and embryo grading for normal responders in GnRH antagonist cycles: Randomized controlled trial." *Journal of gynecology obstetrics and human reproduction* vol. 49,5 (2020): 101728. doi:10.1016/j.jogh.2020.101728
10. Haas, J *et al.* "GnRH agonist and hCG (dual trigger) versus hCG trigger for final follicular maturation: a double-blinded, randomized controlled study." *Human reproduction (Oxford, England)* vol. 35,7 (2020): 1648-1654. doi:10.1093/humrep/deaa107
11. Yildirim Kopuk, Sule *et al.* "Does dual trigger improve euploidy rate in normoresponder? A cross-sectional study." *International journal of reproductive biomedicine* vol. 21,5 395-402. 12 May. 2023, doi:10.18502/ijrm.v21i5.13473
12. Feil D, Henshaw RC, Lane M. Day 4 embryo selection is equal to Day 5 using a new embryo scoring system validated in single embryo transfers. *Hum Reprod* 2008; 23(7): 1505-1510
13. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB.. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril*.2000 Jun; 73(6):1155-1158
14. Setti, Amanda Souza *et al.* "Dual trigger improves response to ovarian stimulation and ICSI outcomes in patients with a previous r-hCG triggered ICSI cycle." *JBRA assisted reproduction* vol. 26,2 255-260. 17 Apr. 2022, doi:10.5935/1518-0557.20210065
15. González, Virginia González *et al.* "Dual

- trigger vs. Conventional trigger outcomes in In Vitro Fertilization. Systematic review and meta-analysis." *JBRA assisted reproduction* vol. 27,1 112-119. 30 Mar. 2023, doi:10.5935/1518-0557.20220035
16. Lin, Ming-Huei *et al.* "Dual trigger with gonadotropin releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves live birth rate for women with diminished ovarian reserve." *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* vol. 17,1 7. 4 Jan. 2019, doi:10.1186/s12958-018-0451-x
17. Griffin, Daniel *et al.* "Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates." *Fertility and sterility* vol. 102,2 (2014): 405-9. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.04.028
18. Yan, Meng-Han *et al.* "Dual trigger for final oocyte maturation in expected normal responders with a high immature oocyte rate: a randomized controlled trial." *Frontiers in medicine* vol. 10 1254982. 5 Oct. 2023, doi:10.3389/fmed.2023.1254982