

GnRH Antagonistlerinin Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonda Kullanımı

Cihat ÜNLÜ, Işık ÜSTÜNER, Murat SÖNMEZER

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Ankara, Türkiye

GnRH Antagonists in Controlled Ovarian Hyperstimulation

Abstract

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists have recently been introduced into clinical practice. They appear to offer a promising alternative to the long established GnRH agonist regimens for prevention of premature leutinizing hormone (LH) surge during ovarian stimulation for assisted reproductive techniques. GnRH antagonist protocols were associated with a smaller amount of gonadotropin, a shorter stimulation period, and a lower incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) with comparable pregnancy rates. The incidence of premature LH surge is far below 2%, while the pituitary response remains preserved allowing induction of ovulation by GnRH agonists. The perinatal outcome appears to be similar to that of other stimulation regimens. On the other hand, it has still been debated regarding the adverse effects of GnRH antagonists on ovarian steroidogenesis, implantation and embryo development. As more clinical experience is gained and the treatment protocol optimized, the clinical outcome with GnRH antagonists will improve.

Key words: cetrorelix, ganirelix, GnRH agonists, GnRH antagonists, IVF

Özet

Gonadotropin salıcı hormon (GnRH) antagonistleri, uzun süredir kontrollü ovaryen hiperstimülasyon amacı ile kullanılan GnRH agonist rejimleri yerine, alternatif bir tedavi seçeneği olarak klinik kullanıma girmiştir. Antagonist kullanılan protokoller agonistik protokoller ile karşılaştırıldığında, benzer gebelik oranları elde edilirken, daha az miktarda gonadotropin kullanılmakta, stimülasyon süresi daha kısa olmakta ve ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) insidansında azalma görülmektedir. GnRH antagonist kullanılan rejimlerde prematur LH salınımının insidansı %2'nin altındadır. GnRH antagonisti ile pituitar yanıt korunurken, ovülasyonun indüksiyonu da bir GnRH agonisti ile sağlanabilmektedir. Perinatal sonuçlar diğer stimülasyon rejimlerine benzerdir, ancak GnRH antagonistlerinin ovaryen steroidogenez, implantasyon ve embriyo gelişimi üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri ile ilişkili çalışmalar halen devam etmektedir. Antagonist protokolleri ile ilişkili klinik deneyim arttıkça klinik sonuçlar da olumlu yönde etkilenecektir.

Anahtar sözcükler: cetrorelix, ganirelix, GnRH agonistleri, GnRH antagonistleri, IVF

Giriş

Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon ve *in vitro* fertilizasyon (IVF) sikluslarında amaç çok sayıda ovaryen folikül gelişimini sağlayarak daha fazla sayıda embriyo elde etmek ve böylece de gebelik şansını yükseltmektir. Bu amaçla, uzun zamandır GnRH agonistleri (GnRH-a) ile birlikte gonadotropinler yaygın olarak kullanılmaktadır.

GnRH molekülünün yapısı ilk kez 1971 yılında tanımlanmıştır (1,2). Günümüze kadar agonistik veya antagonistik etki gösteren 3000'den fazla GnRH analogu sentezlenmiştir (3). Gelişim sürecinde, GnRH agonistlerinin doğal GnRH molekülüne oranla (2-5 dk.) yarı ömürleri uzatılmış

ve GnRH reseptörüne karşı afinitesi artırılmıştır. 1984 yılında GnRH agonistlerinin IVF sikluslarında prematür LH artışını önlediği bildirilmiştir (4). GnRH salınımını taklit eden GnRH agonistleri ilk başta FSH, LH ve estradiol salınımını artırmakla birlikte, pulsatil olmayan bir şekilde verildiğinde pituitar bezde "down" regülasyona yol açmaktadır (5). Medikal hipofizektomi olarak adlandırılan bu durum meme ve prostat kanserinde ve endometrioziste GnRH agonistlerini kullanım alanına sokmuştur (6,7,8).

GnRH-a ile yapılan ovaryen hiperstimülasyonda, sadece human menopozal gonadotropinler (HMG) veya klomifen sitrat (CC) kullanılarak yapılan rejimlerle karşılaştırıldığında daha fazla sayıda oosit ve embriyo elde edilmektedir (9). GnRH-a kullanımı, prematür LH yükselmesini önleyerek iptal edilen siklus sayısında belirgin azalmaya neden olmaktadır (10). GnRH-a kullanılan protokollerde embriyo kalitesi olumsuz yönde etkilenmemekle birlikte, artmış stimülasyon süresi, artmış gonadotropin kullanımı ve artmış ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski gibi bir takım dezavantajlar söz konusudur (11). Ayrıca, ilk "fla-

Yazışma adresi: Prof. Dr. Cihat Ünlü

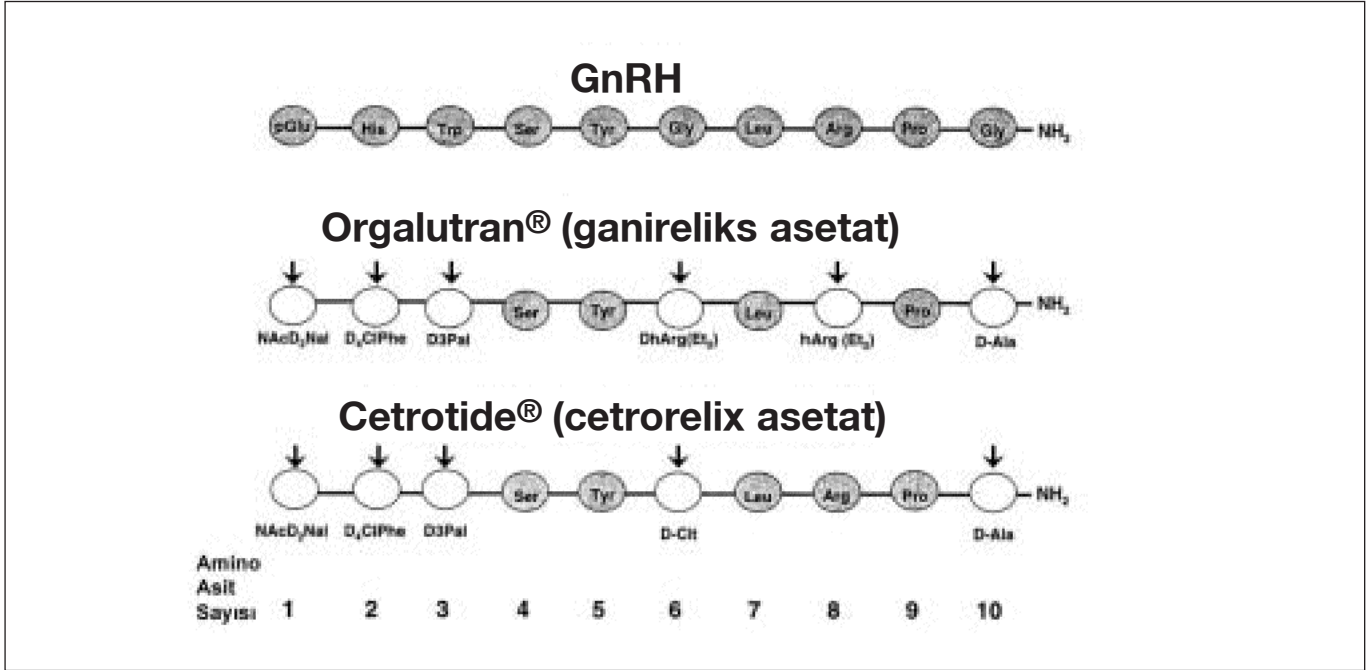
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

06100 Cebeci, Ankara, Türkiye

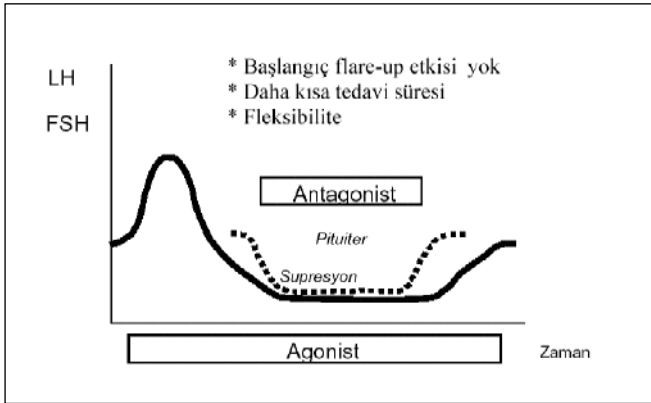
Tel: +90 (312) 320 35 50

Faks: +90 (312) 320 35 53

E-posta: unlu@artemisonline.net



Şekil 1. Ganireliks ve cetorelix'in moleküler yapısı.



Şekil 2. GnRH antagonist ve GnRH agonistlerinin farkları.

re up” döneminde artmış gonadotropin salgınımına bağlı ovaryen kist oluşumu, pituiter desensitizasyon döneminde ise östrojen yoksunluk semptomları izlenebilmektedir.

İlk GnRH antagonisti 1972 yılında sentezlenmiştir (12). GnRH antagonistlerinin güçlü lipofilik özellikleri nedeni ile ilk yıllarda bunların parenteral kullanımı mümkün olmamıştır. İlk olarak sentezlenen GnRH antagonistleri, mast hücrelerinde GnRH reseptörlerine bağlanarak histamin salgınımına ve alerjik reaksiyonlara yol açmıştır. Günümüzde ise histamin salgınımına bağlı alerjik yan etkilerden arındırılmış üçüncü nesil GnRH antagonistleri klinik kullanıma sunulmuştur. GnRH antagonistleri uygulanımı sonrasında LH, FSH supresyonu hızlı bir şekilde olduğundan bir önceki siklusun luteal dönemi yerine, aynı siklusun foliküler döneminde kullanılabilen ve LH yükselmesi belirgin olarak engellenmektedir.

I. GnRH ANTAGONİSTLERİNİN FİZYOLOJİSİ

Doğal GnRH molekülü hipotalamustan salınan ve 10 aminoasitten oluşan bir polipeptiddir. Doğal GnRH molekülü gibi 10 aminoasitten meydana gelen GnRH antagonistlerinde reseptöre bağlanma bölgesi olan ilk 3 aminoasit benzerdir (Şekil 1). 8 ve 10. pozisyonundaki değişiklikler ile 1. ve 2. nesil antagonistlerdeki histamin salgınımı problemi ortadan kaldırılmıştır (13). GnRH antagonistleri, GnRH agonistlerinden farklı olarak GnRH reseptörünü hızlı bir şekilde kompetitif olarak bloke ederler. Bu inhibisyon doza ve endojen GnRH miktarına bağlıdır (14). FSH yarılanma süresinin LH yarılanma süresinden daha uzun olmasından dolayı LH inhibisyonu FSH inhibisyonuna göre daha belirgindir.

Antagonistik GnRH analoglarının, agonistik analoglardan belirgin farkları vardır. Agonistlerde tekrarlanan günlük dozlarda başlangıç olarak FSH ve LH sekresyonu artmaktadır. Bu “flare up” dönemini pituiter “down” regülasyon dönemi izler. Agonistlerde kontrollü ovaryen hiperstimülasyonda amaçlanan klinik supresyon dönemine 14-21 günde ulaşılmaktadır (16). Antagonistlerde, FSH ve LH supresyonu hemen başlamakta ve başlangıç “flare-up” etkisi izlenmemektedir. Luteal fazda verilen agonistler, “flare-up” dönemi sonunda relatif hipoöstrojenizme neden olmaktadır. Bu dönemde kadınlar, sıcak basmaları, uykusuzluk ve baş ağrısı gibi hipoöstrojenizm semptomlarından yakınmaktadırlar. Antagonistlerde ise östrojen yetmezliği bulguları izlenmez. Antagonistlerde menstrüel siklusun tüm fazlarında endojen FSH ve LH supresyonu hızla oluşturulabilmekte ve bu etki de antagonistlerin daha serbest kullanımına izin vermektedir. Aynı zamanda antagonist kesilmesini takiben hızla hipofizer fonksiyonlar geriye dönmektedir (13) (Şekil 2).

Tablo 1. Üç randomize faz III çalışmasının klinik ve endokrin sonuçları

	Avrupa Çalışması		Kuzey Amerika Çalışması		Avrupa ve Orta Doğu Çalışması	
	Ganireliks	Buserelin	Ganireliks	Leuprolide	Ganireliks	Triptorelin
Hasta sayısı	463	237	198	99	226	111
ET (n, %)	399 (86)	208 (88)	178 (90)	91 (92)	204 (90)	96 (86)
GnRH analog süresi (gün)	5(2-14)	26 (18-44)	4 (2-14)	22 (16-28)	5 (2-10)	26 (16-41)
Toplam r-FSH dozu (IU, yayılım)	1500 (900-5400)	1800 (900-6450)	1800 (1200-4275)	2025 (1350-5100)	1350 (900-3900)	1800 (1050-4050)
Toplam r-FSH tedavi süresi (gün)	9 (6-18)	10 (6-19)	8 (6-19)	10 (6-16)	9 (6-14)	11 (7-16)
Siklus başına toplanan oosit sayısı (n)	8.7 (5.6)	9.7 (6.2)	11.7 (6.7)	14.1 (8.2)	7.9 (5.1)	9.6 (6.8)
Embriyo sayısı (n)	6.0 (4.5)	7.1 (5.2)	6.9 (4.1)	8.2 (5.2)	4.0 (3.0)	4.7 (3.0)
İmplantasyon oranı (%)	15.7	21.8	21.1	26.1	22.9	22.9
Siklus başına devam eden gebelik oranı (%)	20.3	25.7	30.8	36.4	31.0	33.9
ET başına devam eden gebelik oranı (%)	23.3	29.0	34.3	39.6	34.3	38.5

II. GnRH ANTAGONİSTLERİNİN FARMAKODİNAMİK VE FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

GnRH antagonistleri ile yapılan faz I çalışmalarında, antagonistlerin biyoyararlanım, zirve konsantrasyonuna ulaşma için geçen süre ve eliminasyon gibi farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri araştırılmıştır.

On dokuz sağlıklı gönüllü kadının dahil edildiği randomize bir çalışmada, 0.25 mg ganireliks subkutan uygulanmış, bir hafta sonra ise intravenöz olarak 0.25 mg ganireliks tekrarlanmıştır (16). Eliminasyon yarı ömrü subkutan uygulandı da 12.8 saat, intravenöz uygulandı ise 12.7 saat olarak bulunmuştur. Ganireliksin biyoyararlanımı yaklaşık %91.3 olarak bulunmuştur.

Cetrorelix ile yapılan faz I çalışmaları sonucunda, maksimum plazma konsantrasyonuna ortalama 1-2 saatte ulaşılmış ve biyoyararlanımı %85 olarak saptanmıştır (17). 3 mg tek doz sonrası yarı ömür 62.8 saat, günlük 0.25 mg dozunda ise 20.6 saat olarak bulunmuştur.

III. DOZ BULMA ÇALIŞMALARI

“Ganirelix Dose Finding Study Group” tarafından gerçekleştirilen çok merkezli, çift kör toplam 333 kadının dahil edildiği bir çalışmada, uygun GnRH antagonist dozu araştırılmıştır (18). Menstrüel siklusun 2. gününde 150 IU/gün r-FSH, r-FSH'nin 6. gününde de 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg dozlarda ganireliks başlanmıştır. Ultrasonografide >17 mm foliküller izlendiğinde 10.000 IU hCG yapılmıştır. Çalışmadaki hastaların ortalama yaşı 31.6, ortalama vücut kitle indeksi ise 22.7 kg/m² olarak bildirilmiştir. Çalışma sonucunda 0.25 mg/gün ganireliks, prematür LH salınımını engelleyen minimum etkin doz olarak belirlenmiş, başlanan siklus başına devam eden gebelik oranı ise %33.8 olarak saptanmıştır. Siklus başına devam eden gebelik oranları 0.5

mg/gün ganireliks için %10.1, 1.0 mg/gün için %14.1 ve 2 mg/gün için ise %0 olarak saptanmıştır. Artan ganireliks dozuna paralel olarak izlenen gebelik oranlarındaki azalmanın nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, bunun antagonistlerin embriyo üzerine direkt etkilerinden kaynaklanmadığı düşünülmektedir (19). Doğal siklusta yüksek dozlarda ganireliksin kullanıldığı kadınlarda dondurulmuş-çözülmüş embriyolar kullanarak başarılı *transferler* bildirilmiştir (20,21).

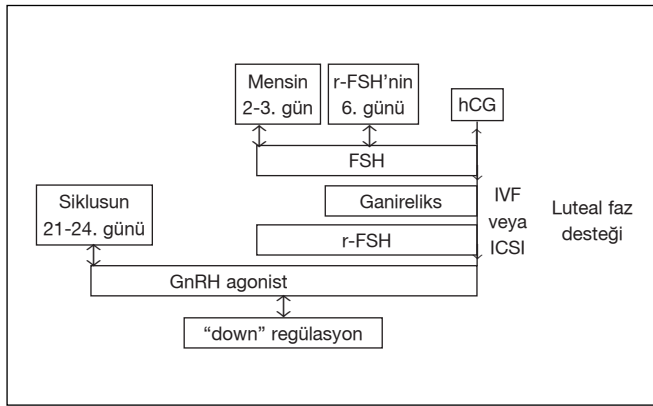
Olivennes ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, bir diğer GnRH antagonisti olan cetrorelix'in prematür LH salınımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır (22). Cetrorelix geç foliküler fazda tek bir doz olarak 3 mg ve 2 mg olarak uygulanmıştır. 2 mg dozunun LH yükselmesini 3 gün kadar önlediği izlenirken, 3 mg dozunun 4 gün kadar engellediği saptanmıştır. Bu etkilerine ilave olarak IVF sonuçlarına olumsuz etkileri bulunmamaktadır. Hasta toleransı yönünden cetrorelix çok rahat bulunmuş, sadece %15 hastada enjeksiyon yerinde eritem görülmüştür.

Felberbaum ve arkadaşları tarafından yapılan, tubal infertilite tanısı konulmuş 20 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, cetrorelix'in hipofizer yanıtı etkisi araştırılmıştır (23). Hastalara menstrüel siklusun 2. günü HMG başlanmış, 15 hastaya menstrüel siklusun 7. gününden başlayarak hCG gününe kadar 3 mg/gün subkutan cetrorelix verilmiştir. Takip sırasında hiçbir hastada prematür LH salınımı görülmemiştir. Aynı protokole 5 hastaya 1 mg/gün cetrorelix verilmiş ve LH salınımı gözlenmemiştir. Oosit kalite ve sayısı uzun agonist protokole benzerdir. Ovülasyon indüksiyonundan 3 saat önce, 25 µg doğal GnRH ile yapılan LHRH testi ile hipofiz fonksiyonları değerlendirilmiş ve hipofiz fonksiyonunun konduğu izlenmiştir.

Albano ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 90 hastada 0.25, 0.5 ve 0.1 mg/gün cetrorelix dozları karşılaştırılmış ve kullanılan bütün dozlarda prematür LH artışının en-

Tablo 2. Üç randomize faz III çalışmasının klinik sonuçları

	Multipl doz (Albano, 2000)		Tek doz (Olivennes, 2000)		Tek doz (Roulier, 2001)	
	Cetrorelix	Buserelin	Cetrorelix	Triptorelin	Cetrorelix	Agonist
Hasta sayısı	188	85	115	39	307	364
Gonadotropin tedavi süresi (gün)	10.6±2.3	11.4±1.8	9.4±1.4	10.7±1.7	10.0	11.3
Toplam gonadotropin dozu (ampul)	23.6±8.5	25.6±7.6	24.3±7.4	35.6±15.1	21.4	26.4
Devam eden gebelik oranı (%)	22	26	21.2	27.3	22.1	22.5
Grade II-III OHSS insidansı	2/181 (1.1)	5/77 (6.5)	(3.5)	(11.1)	(0.9)	(3.8)

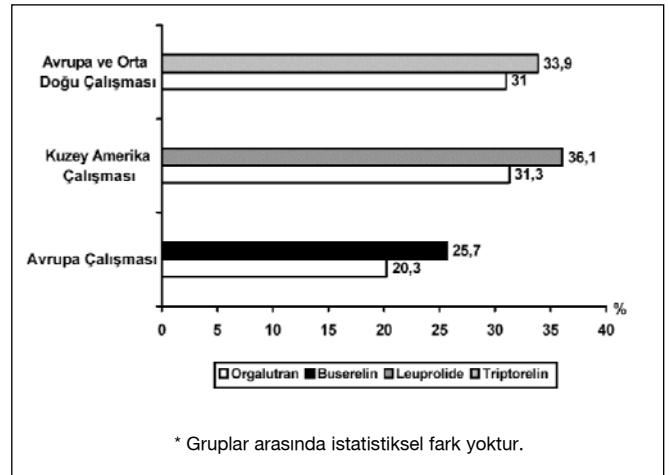

Şekil 3. Üç randomize faz III çalışmanın tedavi rejimi.

gellendiği izlenmiştir (24). Sadece 0.1 mg/gün cetrorelix alan bir hastada LH yükselmesi ve progesteron artışı gözlenmiştir. Ayrıca, 0.25 ve 0.5 mg dozlarda IVF sonuçları benzer bulunmuş ve 0.25 mg/gün dozu minimum etkin doz olarak kabul edilmiştir.

IV. KARŞILAŞTIRMA ÇALIŞMALARI

Toplam 43 IVF merkezinin dahil edildiği 3 ayrı faz III çalışmasında, standart uzun GnRH agonist protokolü ile GnRH antagonistleri (0.25 mg ganireliks) karşılaştırılmıştır; “*European Orgalutran Study Group*”, “*North American Ganirelix Study Group*” ve “*European and Middle East Orgalutran Study Group*” çalışmalarındaki tedavi protokolü şeması Şekil 3’te görülmektedir. Çalışmaya sağlıklı, 18 ile 39 yaşları arasında, vücut kitle indeksi 18 ile 29 kg/m² arasında olan ve 24-35 gün arasında spontan menstrüel siklusu olan kadınlar dahil edilirken, siklusun 2-4. günü FSH düzeyi ≥10 IU olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır (Tablo 1) (25-27).

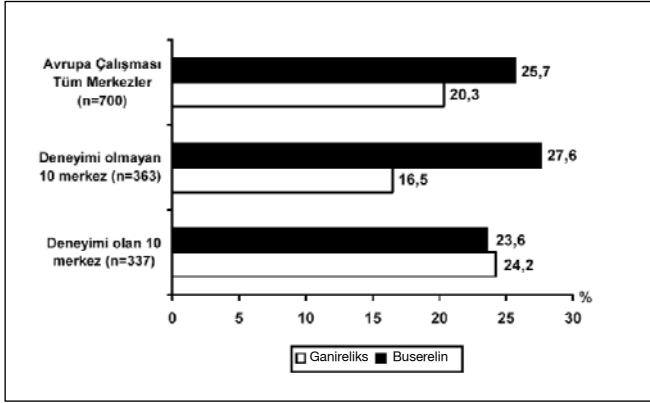
Ganireliks kullanımında, GnRH agonist grubuna göre; GnRH analog tedavi süresi 18-21 gün daha kısa sürmüştür. Buna ek olarak toplam 225-450 IU r-FSH daha az kullanılmıştır ve ovaryen stimülasyon süresinin 1-2 gün daha az olduğu saptanmıştır. hCG günü 11 mm ve üstündeki folikül sayısı ganireliks grubunda, agonist rejimlere göre ortalama 1 folikül daha azdır. Bununla birlikte r-FSH’nin 6. gününde yani ganireliksin ilk veriliş gününde, antagonist rejiminde 1.7-2.8 daha fazla folikül izlenmiştir. Estradiol konsantras-


Şekil 4. Faz III karşılaştırma çalışmaları, devam eden gebelik oranı.

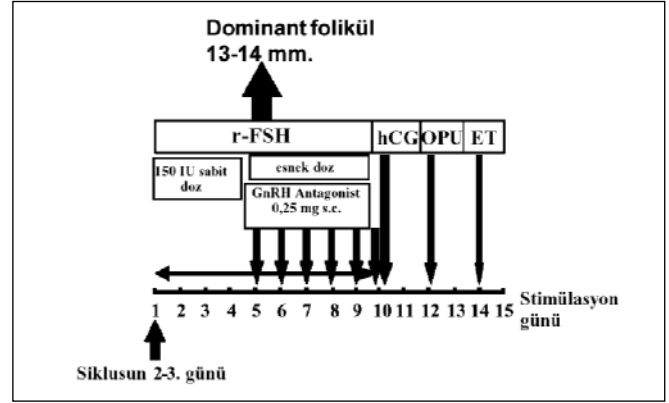
yonu, ganireliks grubunda hCG günü daha düşük olarak saptanmakla birlikte, ganireliks başlangıç günündeki estradiol konsantrasyonu daha yüksek olarak saptanmıştır. Ancak antagonist grubunda, agonist grubuna oranla anlamlı olarak daha az oosit toplanmıştır (1.0-2.4 daha az oosit). Bu azalmanın embriyo kalitesi üzerinde herhangi bir negatif etkiye yol açmadığı izlenmiştir. Devam eden gebelik oranları antagonist grubunda %2.9-5.6 daha düşük olarak saptanmış (p>0.05) (Şekil 4) ve bunun antagonist kullanımı ile ilgili klinik deneyim eksikliğinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. “*European Orgalutran Study Group*” çalışmasında, antagonist rejimle ilgili deneyimi olmayan merkezlerin çalışmadan çıkartılması sonucunda, gruplar arasında benzer gebelik oranları bulunmuştur (antagonist grup; %24.2, agonist grup; %23.6) (13) (Şekil 5).

“*European Orgalutran Study Group*” çalışmasında, ganireliks grubunda OHSS insidansı %2.4, buserelin grubunda ise %5.4 saptanmıştır. Ancak OHSS insidansındaki bu azalma “*North American Ganirelix Study Group*” ve “*European and Middle East Orgalutran Study Group*” çalışmalarında desteklenmemiştir. Üç çalışma birlikte değerlendirildiğinde OHSS insidansı, antagonist grupta %2.9, agonist grupta ise %3.8 olarak saptanmıştır (19).

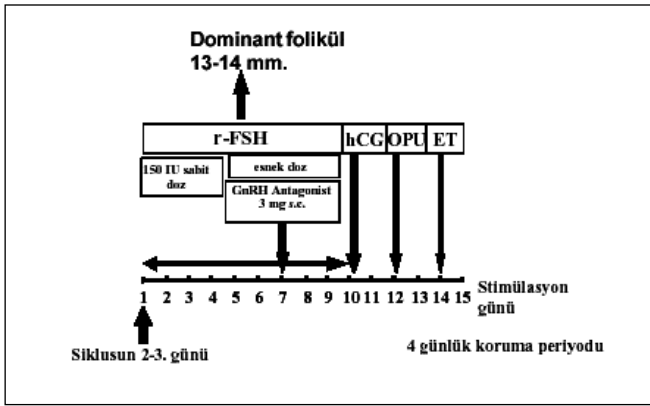
“*North American Ganirelix Study Group*” çalışmasında, antagonist alan grupta kızarma, terleme, ağrı gibi allerjik şika-



Şekil 5. Daha önce deneyimi olan ve olmayan merkezlerdeki devam eden gebelik oranı.



Şekil 6. Multipl doz sabit protokol ve esnek protokol.



Şekil 7. Tek doz sabit protokol ve esnek protokol.

yetler (antagonist injeksiyonu sonrası ilk saat içinde) %12,4, leuprolide alan agonist grupta ise % 25,6 oranında izlenmiştir. Aynı yan etkiler antagonist alan grupta “European and Middle East Orgalutran Study Group” çalışmasında %24,1, “European Orgalutran Study Group” çalışmasında ise %11,9 oranında gözlenmiştir.

Olivennes ve arkadaşları tek doz GnRH antagonist protokolünü (cetorelix, n=115), triptorelin içeren uzun agonist protokolü (n=39) ile karşılaştırmışlardır (28). Cetorelix 3 mg tek doz olarak uygulandıktan sonra 4 gün içerisinde hCG enjeksiyonu için yeterli folikül gelişimi olmazsa, doz 0,25 mg/gün olarak ilaca devam etmişlerdir. Toplam 18 hastada (%15,7) cetorelix gününde LH yükselmesi izlenmiş (LH>10 IU/L) fakat uygulamadan sonra LH seviyesi düşmüştür. Bu 18 hastada, ortalama LH seviyesi 17,4±4,6 IU/L iken cetorelix verilmesini takip eden günde ortalama LH seviyesi 1,0±0,3 IU/L olarak ölçülmüştür. Bu hastalardan 4’ü daha sonra gebe kalmıştır. Yazarlar LH yükselmesi sırasında, LH salınımının baskılanmasının gebelik üzerine olumsuz etkisi olmadığını vurgulamışlardır. Agonist grubundan sadece 1 hastada prematür LH yükselmesi gözlenirken, cetorelix grubunda hiçbir hastada prematür LH yükselmesi gözlenmemiştir. Cetorelix grubunda indüksiyon süresinin daha kısa olmasına ve daha az sayıda gonadotropin kullanılmasına rağmen,

uzun agonist protokolü uygulanan hastalarda daha fazla sayıda oosit toplanmış ve daha fazla embriyo elde edilmiştir. Ancak, matür oosit sayısı, fertilizasyon, klinik gebelik ve abortus oranları açısından uzun GnRH agonist grubu ile antagonist grubu arasında fark saptanmamıştır. OHSS olguları cetorelix grubunda daha az izlenmekle birlikte, istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Ancak uzun GnRH agonist kullanılan hasta grubunda, OHSS riski nedeni ile iptal edilen olgular eklendiğinde, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak GnRH antagonist protokolü ile daha kısa ovülasyon indüksiyon süresi, daha az gonadotropin kullanımı ve daha düşük OHSS riski söz konusudur ve IVF sonuçları açısından da uzun agonist protokol ile uyumluluk göstermiştir (Tablo 2).

“European Cetorelix Study Group” tarafından yapılan bir çalışmada 0,25 mg/gün cetorelix (n=188), uzun protokol buserelin ile (n=85) ile karşılaştırılmıştır (29). Her iki grupta gonadotropin olarak HMG kullanılmıştır. Klinik gebelik oranı antagonist grubunda %22,3 iken, agonist grubunda %25,9 bulunmuştur (p>0,05). Fertilizasyon, bölünme ve gebelik oranları her iki grupta benzer olarak gözlenmiştir. Antagonist grubunda stimülasyon süresi daha kısa ve gonadotropin dozu daha az olarak izlenirken, hCG günündeki estradiol düzeyi anlamlı olarak daha düşük olarak izlenmiştir (Tablo 2). Roulier ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 3 mg tek doz cetorelix (n=307) ile depo GnRH agonisti (n=364) karşılaştırılmıştır (30). Cetorelix grubunda stimülasyon süresi agonist grubuna göre anlamlı olarak daha kısa (antagonist grubunda 10, agonist grubunda 11,3 gün; p<0,05) ve kullanılan FSH dozu daha az (antagonist grubunda 1604 IU, agonist grubunda 1980 IU; p<0,05) olarak saptanırken, klinik gebelik oranları antagonist grupta %22,1, agonist grupta ise %22,5 olarak bildirilmiştir. OHSS oranı ise sırasıyla antagonist grubunda %0,9, agonist grubunda ise %3,8 olarak saptanmıştır (Tablo 2).

V. MULTİPLE VEYA TEK DOZ KULLANIM

Olivennes ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada multipl doz (0,25 mg/gün) ve tek doz (3 mg) GnRH antagonist protokolleri karşılaştırılmıştır (31). İki merkezli ve geniş

katılımlı bu çalışmada, multipl doz grubuna 125 merkezden toplam 1066 hasta, tek doz grubuna ise 83 merkezden toplam 541 hasta dahil edilmiştir. Gonadotropinlere karşı kötü yanıt öyküsü olan ve menstrüel siklusun 2-4. günü FSH düzeyi ≥ 10 IU olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Ovaryen stimülasyona, spontan menstrüel siklusun 2.-3. gününde başlanmıştır. Multipl doz grubunda, başlangıç FSH dozu 150 IU/gün iken, tek doz grubunda başlangıç dozuna, daha önceki IVF sikluslarındaki yanıtı ve hastanın yaşına göre araştırmacı karar vermiştir. Ovaryen stimülasyon için kullanılan gonadotropinlerin seçimi (HMG, r-FSH) her iki grupta da araştırmacının tercihine bırakılmıştır.

Multipl doz grubunda stimülasyonun 5. gün gecesi veya 6. gün sabahı 0.25 mg/gün cetrorelix başlanmış ve hCG gününe kadar devam etmiştir. Tek doz grubunda ise, stimülasyonun 7. gününde 3 mg cetrorelix verilmiştir. Ancak 7. gün 14 mm çapa ulaşan bir folikül izlenmez ise cetrorelix daha geç verilmiştir. 4 gün içerisinde hCG yapma kriterleri oluşmaz ise 0.25 mg/gün cetrorelix hCG gününe kadar devam edilmiştir. Her iki grupta da hastaların %90'ında hCG yapma kriterleri oluşmuştur. Multipl doz grubunda hastaların %83'ünde, tek doz grubunda ise hastaların %84'ünde embriyo transferi gerçekleştirilebilmiştir. Başlanan siklus başına gebelik hızı ve gebelik hızı/ embriyo transfer oranı multipl doz grubunda sırası ile %24 ve %28, tek doz grubunda ise %23 ve %27 olarak saptanmıştır. Her iki hasta grubunda da orta veya ciddi OHSS riski hastaların %1'inden daha azında oluşmuştur. ICSI planlanan hastalarda, tek doz alan grupta daha fazla oosit toplanmakla birlikte, araştırmacılar bunun tek doz grubunda FSH başlangıç dozunun yüksekliğine bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışma sonucunda, tek doz cetrorelix protokolünün, multipl doz cetrorelix protokolü ile eşit etkinlik ve güvenlikte olduğu gösterilmiştir.

VI. ANTAGONİST PROTOKOLÜNDE DEĞİŞİKLİKLER

Standart yaklaşımda multipl doz stimülasyonun 6. gününde, tek doz ise stimülasyonun 7. gününde başlanmaktadır (*sabit protokol*) (32) (Şekil 6 ve 7). Tek doz kullanımında 4 gün içerisinde hCG kriterleri karşılanmaz ise tedaviye 0.25 mg/gün ile devam edilmektedir.

İyi yanıt veren hastalarda antagonist tedavisine genellikle stimülasyonun 6. günü başlanmakla birlikte, prematür luteinizasyonu önlemek için stimülasyonun 5. günü de başlanabilir. Ancak kötü yanıt veren hastalarda erken LH salınımı olasılığı daha az olduğundan antagoniste stimülasyonun 8 hatta 9. günü başlanabilir. Bazı yazarlar kötü yanıt veren hastalarda antagonist tedavisinin 2-3 günden daha uzun süre verilmesini önermemektedir (33). Güncel yaklaşımda antagonistlerin başlangıç gününün, foliküler çapa ve serum estradiol düzeylerine bağlı olarak ayarlanması (*esnek protokol*) önerilmektedir.

VII. ORAL KONTRASEPTİF TABLET İLE SENKRONİZASYON

Optimum bir IVF siklusunda yüksek fertilizasyon, implantasyon ve gebelik oranları amaçlanır. Ayrıca OHSS riski en

alt düzeyde tutulmalıdır. GnRH antagonist protokolü uygulanan sikluslarda, oral kontraseptif tablet (OKT) ile ön tedavi, klinik olarak siklus düzenlenmesine olanak tanır. Aynı zamanda hipotalamo-pitüiter aksın baskılanması sonrası, FSH, LH, estradiol ve ovaryen androgenlerin serum düzeyleri azalmaktadır. Bu etki bazal LH ve androgen seviyesi yüksek olan infertil hastalarda olumsuz siklus sonuçlarını önleyebilir.

Meldrum ve arkadaşları tarafından yapılan çok merkezli açık uçlu pilot çalışmada, 77 sağlıklı infertil kadına menstrüasyonun 1-3. günü başlamak üzere OKT (Desogen) (0.03 mg etinil estradiol ve 0.15 mg desogestrel) 14-21 gün, OKT bitiminden 4 gün sonra da r-FSH 225 IU/gün verilmiştir (34). Stimülasyonun 6. günü veya en büyük folikül 12 mm olunca ganireliks 0.25 mg/gün subkutan başlanmıştır. İmplantasyon oranı %26, gebelik oranı ise %37 olarak bildirilmiştir. Bu ilk öncül sonuca göre GnRH antagonist rejimlerinde siklus programlanması için OKT'nin başarılı bir şekilde kullanılabileceği söylenebilir.

Shapiro ve arkadaşları toplam 204 hastayı içeren 225 IU r-FSH/GnRH antagonist siklusunda OKT ön tedavisi alan hastalarda (n=136) embriyo transferi başına gebelik oranını %41.7, almayanlarda %41.4 (n=86), implantasyon oranını OKT alanlarda %18.7, almayanlarda ise %21.2 olarak bildirmişlerdir (35). Sonuç olarak OKT ön tedavisinin GnRH antagonist rejimlerinde, siklus zamanlaması ve programlanmasında başarılı bir şekilde kullanılabileceği, ancak ovaryen yanıtı ve IVF sonuçlarına olumlu bir katkısının olmadığı bildirilmiştir.

Obruca ve arkadaşları 150 IVF hastasını OKT ile ön tedavi konusunda randomize etmişler; 75 hastaya OKT verirken, 75 hastaya ise OKT vermemişlerdir (36). OKT'ye (0.03 mgEE + 0.15 mg Desogestrel) menstrüasyonun 1. günü başlanmış ve 18-28 gün kullanılmıştır. Son hap pazar günü alınmıştır. OKT bitiminden 5 gün sonra 150 IU r-FSH/gün ile stimülasyona başlanmış (cuma günü) ve stimülasyonun 6. günü de GnRH antagonisti verilmeye başlanmıştır. OKT kullanan hastaların hiçbirinde oosit toplama işlemi hafta sonuna denk gelmemiştir. Embriyo transferi başına klinik gebelik oranı OKT kullanan grupta %39.7, OKT kullanmayan grupta ise %41.2 olarak bulunmuştur.

VIII. STİMÜLASYON REJİMİ, GONADOTROPİN BAŞLANGIÇ GÜNÜ VE DOZU

Wikland ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, multipl doz cetrorelix protokolü ile birlikte farklı r-FSH başlama dozları araştırılmış ve 150 veya 225 IU r-FSH ile, her iki grupta da benzer folikül gelişimi, embriyo sayısı, implantasyon ve gebelik oranları görülmüştür (37). Ancak, 225 IU r-FSH kullanan grupta daha fazla sayıda oosit toplanmıştır (11.0'e karşılık 9.1; p <0.025).

Olivennes ve arkadaşları da daha yüksek r-FSH başlangıç dozuyla daha fazla sayıda oosit toplandığını, ancak gebelik oranlarında herhangi bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir

(31). Sonuç olarak başlangıç r-FSH dozunun IVF sonuçlarını etkilemediği ve benzer OHSS riskine sahip olduğu, tedavinin kişiselleştirilmesi gerektiği yani; başlangıç dozunun hastanın yaşı ve daha önceki IVF yanıtı gibi infertilite özelliklerine göre ayarlanması gerektiği bildirilmiştir (31,37,38). Standart uzun protokol ile, GnRH antagonistlerini karşılaştıran faz III çalışmalarında gonadotropin tedavisine siklusun 2. veya 3. günü başlanmış ve benzer klinik gebelik oranları bulunmuştur (25-30).

Hohmann ve arkadaşları randomize bir çalışmada siklusun 2. günü veya 5. günü gonadotropin başlanması (r-FSH) sonuçları üzerindeki etkisini araştırmışlardır (39). Çalışmaya IVF/ICSI endikasyonu olan 142 normal ovulatuvar kadın dahil edilmiş ve gruplara randomize edilmiştir. A grubuna (n=45) uzun GnRH agonist protokolü alan hastalar, B grubuna (n=48) siklusun 2. günü r-FSH başlanan ve GnRH antagonist alan hastalar, C grubuna ise (n=49) siklusun 5. günü r-FSH başlanan ve GnRH antagonist alan hastalar dahil edilmiştir. Ovaryen stimülasyon için r-FSH sabit dozda (150 IU/gün) kullanılmıştır. En büyük folikül çapı 14 mm olunca GnRH antagonistine başlanmıştır (cetorelix 0.25 mg/gün). C grubunda stimülasyon süresi daha kısa olarak saptanırken (A, B, C grupları için sırası ile; 11, 9, 8 gün), aynı zamanda daha az gonadotropin kullanılmıştır (A, B, C grupları için sırası ile; 1650, 1350, 1200 IU). Ancak C grubunda yetersiz ovaryen yanıt nedeni ile daha az oosit toplanmış (A, B, C grupları için sırası ile; 9, 8, 7) ve daha fazla siklus iptali izlenmiştir. Ancak C grubunda daha kaliteli embriyo elde edilmiştir ve her toplanan oosit başına daha fazla transfer yapılmıştır. (%68, %71, %90; p=0.04) Ancak her üç grupta da başlanan siklus başına gebelik oranları arasında fark yoktur.

Bu çalışma sonucunda Hohmann ve arkadaşları normal foliküler kohort gelişime geç müdahalenin daha ılımlı bir ovaryen yanıtı neden olduğunu öne sürmüşlerdir. C grubunda siklusu iptal edilen hastalar, aslında bazal FSH seviyesi ve yaşları yüksek olan hastalardır. Çalışmada kötü yanıt veren hasta sınıfına girmeyen bu altgrupta, yazarların ılımlı stimülasyon olarak nitelendirdiği bu protokol kullanıldığında daha fazla siklus iptali ile karşılaşmıştır. Bu altgrup hastalarda, GnRH antagonist rejimi ile birlikte siklusun 2. gününde gonadotropinler başlandığında siklus iptali olmamakta, ancak kötü kalite embriyo gelişimi izlenmektedir.

IX. GnRH ANTAGONİSTİNE BAŞLANGIÇ GÜNÜ

GnRH antagonist kullanılan sikluslarda antagonist başlangıç günü ve başlangıç kriterlerini belirlemek amacı ile Ludwig ve arkadaşları 60 hasta üzerinde prospektif bir çalışma gerçekleştirmişlerdir (40). GnRH antagonist olarak cetorelix kullanılmıştır. Hastalar 3 gruba randomize edilmiştir; 1. gruptaki hastalara stimülasyonun 6. gününde başlamak üzere sabit multipl doz antagonist protokolü, 2. gruptaki hastalara en büyük folikül çapı 14 mm olduğunda multipl doz antagonist tedavisine başlanmış, 3. grupta yer alan hastalara en büyük folikül çapı 14 mm olduğunda tek doz antagonist tedavisi uygulanmıştır. 1. grupta, 2. gruba göre anlamlı ölçüde

daha fazla antagonist kullanılmıştır (6.81±1.61'e karşılık 4.59±1.65; p<0.01).

Mansour ve arkadaşları esnek protokol ile sabit protokolü karşılaştırmıştır (41). Esnek protokolde (n=64) en büyük folikül çapı 16 mm olunca, sabit protokolde ise stimülasyonun 6. günü GnRH antagonist başlanmıştır. İki protokol arasında embriyo sayıları, implantasyon oranı, klinik gebelik oranı ve çoğul gebelik oranı arasında fark görülmemiştir. Ancak antagonist enjeksiyon sayısı, esnek grupta sabit gruba göre (ortalama; 3.4±1.1'e karşılık 5.3±1.8; p<0.05) anlamlı olarak azdır. Yazarlar daha sonra kendi kliniklerinde GnRH antagonist başlama kriteri olarak en büyük folikül çapının 15 mm olmasını kabul etmişlerdir. Shapiro ve arkadaşları gözlemsel çalışmalarında sabit protokol yerine esnek başlangıç protokolünü önermektedirler. (35). Antagonist başlangıç kriterleri olarak; en büyük folikül çapının >12-13 mm olması, 6 veya daha fazla folikülün >11 mm olması veya estradiol düzeyinin >400 pg/ml olmasını önermektedirler. Antagonist başlanması için foliküler kriterlerin oluşmasına rağmen, estradiol <400 pg/ml ise tedaviye 1 ampul FSH eklenmesini önermişlerdir. GnRH antagonist başlandıktan sonra 48 saat içinde FSH dozunun azaltılmaması gerektiğini ve esnek protokol kullanırken 8. günün geçilmemesi gerektiğini bildirmişlerdir.

X. ANTAGONİST PROTOKOLDE KARŞILAŞILAN SORUNLAR

GnRH antagonistlerinin kullanım alanına girmesi ve klinisyenlerin bu yeni stimülasyon protokollerini öğrenmeye başlamasıyla birlikte, yeni birtakım sorunlarla karşılaşmaya başlanmıştır. Çok sık olarak karşımıza çıkmamakla birlikte, GnRH antagonistinin verildiği gün ve bunun sonrasındaki birkaç gün içerisinde estradiol düzeylerinde izlenen düşüş ve bunun siklus üzerindeki etkisi bunlardan biridir.

Shapiro ve arkadaşları GnRH antagonist sikluslarında, antagonist verildiği gün östrojen paternlerini değerlendirmişlerdir (35). 161 hastanın 124'ünde estradiol düzeylerinde artış (>%10), 27 hastada plato, 10 hastada ise düşüş (<%10) izlenmiştir. Bu 3 grup arasında, gebelik ve implantasyon oranlarında fark gözlenmemiş ve GnRH antagonist sonrasında serum estradiol düzeylerinde izlenen düşüş veya platonun IVF için prognostik bir öneminin olmadığı öne sürülmüştür. Buna zıt olarak, Lindheim ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada oosit donasyon siklusları retrospektif olarak incelenmiş ve GnRH antagonist sonrasında estradiol düzeylerinde düşüş izlenen hastalarda klinik gebelik oranlarında, devam eden gebelik oranlarında ve implantasyon oranlarında anlamlı düşüklük rapor edilmiştir (42). Sonuç olarak araştırmacılar, antagonist sonrasında izlenen estradiol düşüşünün, embriyo kalitesine etki etmediğini, ancak gebelik sonuçlarının anlamlı olarak düşük olması nedeni ile GnRH antagonistlerinin folikülogenez ve embriyo gelişimine, morfolojik olarak gösterilemeyen olumsuz bazı etkilerinin olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Önceleri GnRH antagonist kullanılan sikluslarda endojen LH aktivitesinin aşırı baskılanmasının, IVF sonuçlarına

olumsuz etki yapabileceği düşünülmüştür. Marviel ve arkadaşları GnRH antagonisti ve r-FSH kullanarak stimüle edilen 270 hastayı hCG günü LH düzeyine göre 2 gruba ayırmış ve IVF sonuçlarını incelemiştir; 1. grup LH <0.5 (n=119) ve 2. grup LH >0.5 (n=151) (43). Sonuçta hCG günü LH'nin <0.5 olmasının oosit ve foliküler matürasyona ve gebelik hızına olumsuz bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. LH <0.5 olan hastalarda hCG günü estradiol konsantrasyonlarının daha düşük olmasına rağmen, elde edilen oosit, pre-embriyo ve dondurulmuş embriyo sayılarının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak GnRH antagonistlerinin kullanıldığı protokollerde tedaviye dışardan LH eklenmesinin gerekli olmadığı söylenebilir. Bir başka çalışmada aynı şekilde dışardan verilen LH'nin GnRH antagonistlerinin kullanıldığı sikluslarda sonuçlara etkisi araştırılmıştır (44). Stimülasyon bir grupta r-FSH, diğer grupta ise HMG ile yapılmış, sonuçlar benzer bulunmuş ve orta ve geç foliküler fazda LH serum seviyesinin endometrial kalınlığa, luteal faz progesteron seviyesine ve gebelik sonucuna etki etmediği bildirilmiştir.

Kolbianakis ve arkadaşları tarafından yapılan prospektif, randomize bir çalışmada, 30 hastaya r-FSH'nin 1. günü GnRH antagonisti verilmiş, diğer 30 hastaya da GnRH antagonisti, r-FSH'nin 6. günü verilmiştir (45). Her iki gruba da r-FSH, menstruasyonun 2. günü sabit dozda (200 IU) başlanmıştır. GnRH antagonistine stimülasyonun 1. günü başlanan grupta, diğer gruba oranla, foliküler faz serum LH ve östrojen seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ancak foliküler gelişim her iki grupta da stimülasyonun 6. günü ve hCG günü benzer bulunmuştur. Her iki grupta da benzer fertilizasyon hızı, implantasyon hızı ve transfer başına devam eden gebelik hızı bildirilmiştir.

Christin-Maitre ve arkadaşları, GnRH antagonist uygulamasından önce izlenen LH yükselmesinin siklus üzerindeki etkisini; 3 mg cetrorelix uygulaması öncesinde LH düzeylerinde yükselme saptanan 36 hastayı retrospektif olarak inceleyerek araştırmışlardır. Bu hasta grubu antagonist uygulama gününde LH serum düzeyi <10 IU olan 138 hasta ile karşılaştırılmıştır (46). Serum LH seviyesi 10-15 IU olan grupta; (n=17) matür oositler, fertilizasyon oranı, implantasyon oranı ve gebelik oranı sırasıyla %88, %64.7, %12 ve %21 bulunmuştur. LH serum düzeyi <10 IU olan grupta ise sırasıyla %77, %71.3, %16 ve %26 bulunmuştur. Sonuçta GnRH antagonist uygulamasının hemen öncesinde ortaya çıkan LH yükselmesinin, GnRH antagonist uygulaması ile önlenebileceği ve bu yükselmenin baskılanmasının, oosit matüritesi, implantasyon oranları ve gebelik oranları üzerinde olumsuz etkiye yol açmadığı gözlenmiştir (28, 46).

Yapılan çalışmalarda cetrorelix dozu ile vücut ağırlığı arasında bir ilişki bulunmadığı, bu nedenle de hastanın kilosuna göre doz ayarlamasının gerekli olmadığı belirtilmektedir. Çünkü cetrorelix'in farmokokinetiği vücut ağırlığından bağımsızdır ve vücut ağırlığı ile cetrorelix plazma düzeyleri arasında korelasyon saptanmamıştır (47). Ancak cetrorelix'ten farklı olarak serum ganireliks düzeyleri ile vücut ağırlığı arasında bir ilişkinin olabileceği, bunun da 50 kg'ın al-

tındaki hastalarda izlenen düşük gebelik oranları ile bağlantısının olabileceği öne sürülmektedir (33).

Yardımcı üreme tekniklerinin kullanımında karşılaşılan ve siklus sonuçları üzerinde önemli etkileri olan bir diğer konu ise prematür luteinizasyondur. Bu amaçla yapılan prospektif gözlemsel bir çalışmada 52 GnRH antagonist siklusu analiz edilerek, hCG günü progesteron serum düzeyinin 1.2'den büyük olması prematür luteinizasyon olarak tanımlanmıştır (48). Toplam 52 siklusun 24'ünde (%46.2) prematür luteinizasyon izlenmiştir. Prematür luteinizasyon izlenen ve izlenmeyen gruplarda, transfer başına gebelik oranları %21.7 ve %53.6, implantasyon oranları ise %10.6 ve %30.1 olarak bulunmuştur. Bu ilk öncül sonuçlar, prematür luteinizasyonun gebelik ve implantasyon oranları üzerindeki olumsuz etkilerini yansıtmaktadır. GnRH antagonist sikluslarında sık olarak izlenen bu durum, serum LH konsantrasyonundan çok, matür granüloza hücrelerinin dışardan verilen FSH'ye yanıtı ile ilişkilidir. Bu veriler, GnRH antagonist sikluslarında ek olarak progesteron monitörizasyonunun gerekliliğini ortaya koymaktadır.

XI. GnRH ANTAGONİSTLERİNİN PERİFERİK ETKİLERİ

Standart uzun GnRH agonist protokolü ile GnRH antagonist protokolünü karşılaştıran faz III çalışmalarında gebelik oranlarında anlamlı olmayan düşüklükler bildirilmiştir (25-30). Bu çalışmalarda, implantasyon oranlarında ve hCG günü serum estradiol seviyelerinde düşüklük gösterilmesi ve faz II çalışmalarında artan GnRH antagonist dozuna bağlı olarak, implantasyon oranlarında azalma bildirilmesi; GnRH antagonistlerinin ovaryen steroidogenez, endometrium ve erken embriyo gelişimine olumsuz etkileri olabileceğini düşündürmektedir (18, 49-51).

İnsan overinde GnRH reseptörlerinin varlığı, reseptör geninin tanımlanması ve fonksiyonları ile ilgili yapılan çalışmalarda; GnRH reseptörleri insan granüloza hücrelerinde gösterilmiştir (52). Buna ek olarak düşük afinitede bağlanma noktaları korpus luteumda bulunmaktadır (53).

İnsan overinde GnRH reseptörü bulunmasına karşın, hipofizden salınan doğal GnRH'nin periferik serum düzeylerinin düşüklüğü nedeniyle bu reseptörler ile etkileşime girmediği düşünülmektedir. GnRH'nin periferik reproduktif dokularda, otokrin ve parakrin etkileri olduğu, GnRH ve GnRH benzeri peptidlerin over dokusu üzerindeki direkt tesirlerinin GnRH antagonistleri tarafından etkilenebileceği varsayılmaktadır. Buna ek olarak ART sikluslarında dışardan verilen analogların bu reseptörler ile etkileşime girme olasılığı bulunmaktadır.

Hernandez ve arkadaşları, folikülogenez, blastomer oluşumu ve implantasyona uygun endometrium için mitozun şart olduğunu belirterek, GnRH antagonistlerinin, periferik GnRH reseptörleri ile etkileşime girerek büyüme faktörlerinin sentezini azaltabileceği ve hücre sel siklusunda inhibisyon yapabileceğini belirtmişlerdir (54).

Minaretzis ve arkadaşları, GnRH antagonist sikluslarında, granuloza-lutein hücrelerde aromataz aktivitesinin azaldığı ama bazal ve gonadotropin ile stimüle edilen progesteron yanıtlarının, agonist ve antagonist sikluslarında benzer olduğunu belirtmişlerdir (55). Antagonist sikluslarında düşük serum estradiol seviyesinin aromataz aktivitesinin azalmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Antagonist sikluslarında, aromataz aktivitesini yansıtan foliküler sıvı estradiol testosteron oranı (E/T) agonist sikluslarına göre daha düşüktür. *In vitro* kültür çalışmalarında, hCG veya cAMP ile stimüle edilen granuloza hücrelerinin estradiol üretimi, agonist ve antagonist sikluslarında benzerdir. cAMP bir intrasellüler ikincil haberci moleküldür ve ovaryen steroidogenez gibi birçok hücre fonksiyonunda görev alır. Demirel ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, antagonistlerin insan granuloza ve kumulus hücrelerinde, cAMP üretimine olumsuz etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (56). Sonuçta antagonistlerin ovaryen steroidogenez üzerinde olumsuz etkileri olmadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Fare embriolarının gelişim potansiyelinin gözlemlendiği çalışmalarda, artan GnRH agonist seviyesine paralel olarak "hatching" blastokist evresi artmaktadır. Buna zıt olarak *in vitro* kültür sistemine GnRH antagonist eklenmesi ile blastokist evresinin progresyonu inhibe olmaktadır. Ancak insanda GnRH antagonistinin son dozundan yaklaşık 5-7 gün sonra embriyo transferi yapılmakta ve antagonistlerin yarı ömrü göz önüne alınırsa insan embriyonunun gelişim programına antagonistlerin zararlı etki yapması olası görülmemektedir.

İmmün boyama yöntemi ile GnRH, endometrial stroma, luminal ve glandüler epitelde gösterilmiştir. Ayrıca embriyo üzerinde GnRH reseptörleri tespit edilmiştir. Teorik olarak dışardan verilen GnRH antagonistleri, GnRH reseptörlerini bloke ederek GnRH'nin bazı etkilerini inhibe edebilir. Ancak bugüne kadar hiçbir araştırma, GnRH antagonistlerinin endometrium üzerinde negatif etkisinin olduğunu göstermemiştir.

Öte yandan GnRH antagonistlerinin fertilizasyon oranını etkilemeden, doz bağımlı olarak, spermin zona *pellucida*'ya bağlanmasını azalttığı gösterilmiştir (57). Bugün için GnRH antagonistlerinin periferik etkilerinin önemli olduğu klinik olarak gösterilememiştir. Bu konu üzerinde ileri çalışmalar devam etmelidir.

XII. OOSİT MATÜRASYONUNUN TETİKLENMESİ

GnRH antagonistlerinin kullanıldığı sikluslarda, agonistik analoglardan farklı olarak, I. mayoz bölünmenin tetiklenmesi amacıyla GnRH agonistleri kullanılabilir. Olivennes ve arkadaşları intrauterin inseminasyon planlanan, GnRH antagonistlerinin kullanıldığı 5 hastada oosit matürasyonunu tamamlamak amacıyla başarılı bir şekilde GnRH agonistlerini kullanmışlardır (58). OHSS riski yüksek olan hastalarda da, LH'nin yarı ömrünün hCG'ye göre daha kısa olması nedeni ile GnRH agonistleri önemli bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu amaçla ganireliks ve r-FSH'nin kullanıldığı

ve ciddi OHSS riski olan 8 hastada, LH salınımı 0.2 mg triptorelin ile tetiklenmiş ve hiçbir hastada OHSS gelişmemiştir (59). Fakat daha önce agonistlerle desensitize edilmiş sikluslarda bu amaçla GnRH agonistlerinin kullanılabilmesi mümkün değildir.

Olivennes ve arkadaşları antagonist kullanılan 200 siklusta LH salınımının indüklenmesi amacıyla hCG ve GnRH analoglarını karşılaştırmışlardır (60). Altı ayrı merkezde sürdürülen randomize çalışmada 0.2 mg triptorelin s.c., 0.5 mg leuprolide s.c ve 10.000 IU hCG karşılaştırılmıştır. hCG, triptorelin ve leuprolide gruplarında toplanan oosit sayısı sırasıyla 8.3 ± 3.3 , 9.8 ± 5.4 ve 8.7 ± 4.5 olarak bulunmuştur. Klinik sonuçlar üç grupta da benzerdir. Sonuç olarak bu verilerden GnRH antagonisti kullanılan sikluslarda, özellikle OHSS riskinin yüksek olduğu düşünülen olgularda, en son oosit matürasyonunu tetiklemek için agonistlerin güvenli ve başarılı şekilde kullanılabileceği görülmektedir.

XIII. LUTEAL FAZ DESTEĞİ

Agonistik analogların luteolitik etkileri olduğu bilinmektedir. Antagonistler ise geçici olarak LH supresyonu yaptıkları için, antagonist kullanılan sikluslarda luteal fazın daha az etkilenebileceği öngörülebilir.

Albano ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, luteal faz desteği olmayan hastalarda cetorelix kullanımı sonrasında, kısa luteal faz, düşük serum estradiol ve progesteron konsantrasyonları izlenmiş ve gebelik görülmemiştir (61). Lin ve arkadaşları ise GnRH antagonistlerinin kullanıldığı IVF sikluslarında, progesteron konsantrasyonu açısından, agonist tedaviyle karşılaştırıldığında, granuloza-luteal hücrelerin *in vitro* hormon stimülasyonuna daha erken yanıt verdiğini göstermiştir (62). Bozulmuş korpus luteum fonksiyonunda KOH stimülasyon rejimi öncelikle suçlanmaktadır.

Beckers ve arkadaşları GnRH antagonisti kullanılan ve r-FSH ile stimülasyon uygulanan 40 hastada luteal faz desteğinin etkisini araştırmışlardır (63). Ovülasyonu tetiklemek amacıyla, en az bir folikül ≥ 18 mm olduğunda, 11 hasta rekombinant hCG (250 µg), 13 hasta rekombinant LH (1 mg) ve 15 hasta da triptorelin (0.2 mg) kullanmıştır. Luteal faz desteği yapılmayan her üç grupta da luteal faz uzunluğu sırasıyla 13, 10 ve 9 gün bulunmuş ve gebelik oranları anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar GnRH antagonist kullanılan KOH sikluslarında luteal faz desteğinin verilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Ovülasyon tetikleyici olarak r-hCG kullanılan grupta, luteal fazın uzunluğunun daha az etkilenmesi, hCG yarı ömrünün daha uzun olmasından kaynaklanmaktadır. Üç grupta da erken luteal faz estrojen ve progesteron seviyeleri yüksektir.

XIV. GnRH ANTAGONİSTLERİ VE OHSS

Ludwig ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, GnRH antagonist (cetorelix) grubunda, agonist (Buserelin) grubuna oranla OHSS riskini anlamlı oranda düşük olarak saptanmıştır (%1.1'e karşılık % 6.5, $p < 0.05$). Araştırmacılar

bunu GnRH antagonisti verilen hastalarda daha az gonadotropin kullanılmasına ve daha az oosit elde edilmesine bağlamışlardır (64).

XV. GnRH ANTAGONİSTLERİ VE PCOS HASTALIĞI

Antagonistlerin PCOS hastalarındaki etkinliğini test eden geniş serili araştırmalar yoktur. Antagonistlerin LH üzerindeki supresyon etkisi daha fazla olacağı için, teorik olarak PCOS hastalarının stimülasyonunda kullanılabileceği ve PCOS hastalarında daha sık olarak izlenen OHSS insidansı azaltılabileceği düşünülmüştür (65).

Yakın zamanda 110 PCOS hastası üzerinde yapılan bir araştırmada BMI ≤ 29 kg/m² ve BMI >29 kg/m² olan hastalarda GnRH antagonisti ve r-FSH ile gerçekleştirilen kontrollü ovaryen hiperstimülasyonun sonuçları değerlendirilmiştir (66). BMI ≤ 29 kg/m² olan hastalarda stimülasyona 100 IU r-FSH ile başlanırken, >29 kg/m² olan hastalarda 200 IU r-FSH ile başlanmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar BMI >29 kg/m² olan hastalarda daha düşük devam eden gebelik oranları saptarken, OHSS riskinin de daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Antagonistler, PCOS hastalarında, basit ve hasta uyumunun yüksek olması, OHSS riskini azaltması ve vücut kitle indeksi yüksek olan hastalarda daha sık olarak izlenen istenmeyen LH salınımının esnek protokol ile birlikte önlenmesi nedeni ile tercih sebebi olabilir.

XVI. KÖTÜ YANITA SAHİP HASTALARDA GnRH ANTAGONİSTLERİ

Kötü yanıt için en önemli kriter, IVF siklusu veya ovülasyon indüksiyonuna kötü bir foliküler yanıt öyküsünün bulunmasıdır. KOH siklusu sırasında tek veya iki folikül yanıtı olan ve hCG verilmesi sırasında serum estradiol düzeyi 500 pg/ml'yi aşmayan hastalar kötü yanıt veren hasta grubu içerisinde yer alırlar. Çok fazla miktarda ve uzun süre gonadotropin stimülasyonu gereken hastalar da (örneğin üçten fazla folikül elde edilebilmesi için >450 IU/gün gonadotropine gereksinim duyanlar) bu sınıfa dahil edilebilir.

Kötü yanıt veren hastalarda GnRH agonistlerinin tedaviye eklenmesi iptal edilen IVF sikluslarının oranını azaltmıştır. Ancak bazen normal ovulatuar siklusları olan hastaların, uzun GnRH agonist protokolü sonrasında, aşırı supresyon nedeni ile gonadotropinlere yanıt vermediği izlenmiştir. Bu hastaların serum estrogen düzeyleri yeterli seviyelere ulaşmayabilir ve artmış gonadotropin dozuna rağmen foliküler yanıtlar izlenmez (67).

Agonist siklusunun 3. gününde FSH ve LH serum düzeylerinin aşırı baskılanmış olmasına karşın, antagonist sikluslarında FSH ile indüksiyonun başlaması sırasında serum FSH ve LH düzeyleri sırası ile 8 IU ve 5 IU düzeyindedir. Over rezervi azalmış olan kötü yanıt veren hastalarda supresyon olmaksızın izlenen bu yüksek endojen FSH ve LH düzeyleri sirküle olan gonadotropin havuzuna katkıda bulunabilirler.

Sonuç olarak kötü yanıt veren hastaların optimal stimülasyonu hâlâ zor bir konu olarak durmaktadır. GnRH agonistleri ile “down” regülasyon, kötü yanıt veren bazı hastaları çok fazla suprese edebilir. Tedavi öncesi kullanılan ve siklus zamanlamasına yardımcı olan OKT ile birlikte tedavi protokolüne eklenen LH, kötü yanıtı olan hastalarda iptal oranlarını azaltabilir (67). Kötü yanıt veren hastalarda bir seçenek olarak düşünülen gonadotropin dozunun artırılmasının çoğu zaman sonuçlara bir etkisi yoktur. Eğer over rezervi kötü ise hiçbir preantral folikül stimüle olamayacak ve hangi stimülasyon yöntemi kullanılırsa kullanılsın IVF ile iyi bir sonuç alınamayacaktır.

Kötü yanıt veren hastalarda mikrodoz “flare-up” protokolü ile, multipl doz cetrorelix protokolünü karşılaştıran bir çalışmada antagonist grubunda gebelik oranı %21 olarak bulunurken, mikrodoz “flare-up” grupta gebelik oranı %16.6 olarak bulunmuştur ($p>0.05$) (68). GnRH antagonistleri ile standart ve “flare-up” GnRH agonist protokollerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, devam eden gebelik oranlarında ve toplanan oosit sayısında herhangi bir azalma olmadan GnRH antagonistlerinde siklus iptal oranlarının daha az olduğu gösterilmiştir (69).

XVII. GnRH ANTAGONİSTLERİ VE PERİNATAL ETKİLER

GnRH antagonistlerinin perinatal etkilerini araştırmak amacı ile yapılan bir çalışmada taze embriyo transferi sonrası oluşan 208 klinik gebelikten elde edilen toplam 163 doğum ile 209 bebek (120 tekil, 40 ikiz ve 3 üçüz) incelenmiştir (70). Klinik düşük oranı %16.8, ektopik gebelik oranı ise %3.4 olarak bulunmuştur. Ayrıca 1 heterotopik gebelik, 2 ölü doğum ve diyafragmatik herni nedeniyle 1 indüklenen abortus bildirilmiştir.

Dondurulmuş-çözülmüş sikluslarda da embriyo transferi sonrası benzer sonuçlar alınmıştır. Düşük oranı %17.4 ve ektopik gebelik oranı ise %4.3 olarak bildirilmiştir. İki malformasyon biri de HELLP nedeni ile 3 gebelik terminasyonu yapılmıştır. Toplam olarak tüm malformasyon hızı; canlı doğum, ölü doğum ve abortus olmuş fetüslerde %3.1 olarak kaydedilmiştir. 227 çocuk fiziksel ve mental gelişim açısından takip edilmiş ve diğer IVF sonrası doğan çocuklara göre fark izlenmemiştir. Sonuçta gebelik komplikasyonları ve anomali açısından antagonistler olumsuz bir etki yapmamaktadır.

XVIII. MİNİMUM STİMÜLASYONDA ANTAGONİSTLER

Yüksek doz ovülasyon indüksiyonu sonucu ortaya çıkan çoğul gebelikler ve buna bağlı yan etkiler, daha basit indüksiyon protokollerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Doğal sikluslar iptal oranlarının yüksek olması nedeni ile fazla tercih edilmemektedir. Ancak antagonist kullanılarak daha iyi sonuçlar elde edilebileceği tahmin edilmektedir.

Doğal siklus sırasında cetrorelix'in etkileri araştırılmıştır (71). Düzenli menstrüasyon gören, bazal FSH seviyesi, estradiol serum düzeyleri sırası ile <8 IU/l ve <50 pg/ml olan kadınlarda,

en büyük folikül 12-14 mm olunca tek doz s.c. 1 mg veya 0.5 mg antagonist uygulanmıştır. 33 hasta üzerinde uygulanan bu tedavide hastalara çok düşük dozda HMG takviyesi de yapılmıştır. En büyük folikül 16-20 mm'ye ulaştığında veya estradiol serum düzeyi 200 pg/ml olunca hCG enjeksiyonu yapılmıştır. Total 4 siklus iptal edilmiştir (%9). Foliküler büyüme ve estrogen salgılanması cetorelix verilmesi sonrasında etkilenmemiştir. Fertilizasyon oranı %80 bulunurken, transfer başına klinik gebelik oranı %17.5 olarak bildirilmiştir. LH salınımına bağlı siklus iptal oranı, diğer doğal sikluslar ile karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur.

Sonuç

GnRH antagonistleri, kontrollü ovaryen hiperstimülasyon rejimlerine oldukça büyük yenilikler getirmiştir. Çok sayıda hasta, IVF merkezlerinin olduğu büyük şehirlerin oldukça uzağında yaşamaktadır. Antagonist uygulamalarla hem bu hastaların tedavi süreleri kısaltmakta hem de evlerinden daha az süre uzaklaşmaktadırlar. Bunun yanında antagonist rejimlerde agonistlerde izlenen "flare-up" etkisi ve daha sonra oluşan östrojen yoksunluk semptomları görülmemekte ve OHSS riski azalmaktadır.

Hali hazırda 2 antagonist piyasada mevcuttur: cetorelix ve ganirelix. Cetorelix 0.25 mg ve 3 mg, ganirelix ise 0.25 mg dozda mevcuttur. Hara ve arkadaşları yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada, oral GnRH antagonistlerinin kullanılabilirliğini araştırmışlardır (72). TAK-013 adını verdikleri bu yeni oral non-peptid GnRH antagonisti ile araştırmacılar, maymunlarda LH, E₂ ve progesteron düzeylerini hızla suprese etmeyi başarmışlardır. TAK-013'ün serum FSH düzeyleri üzerinde hiçbir supresif etkisi görülmemiştir.

Yakın gelecekte antagonist protokollerin geliştirilmesi ve basitleştirilmesiyle, KOH siklusları optimum duruma getirilebilecek ve gonadotropin kullanımı da en alt düzeye indirilecektir.

Kaynaklar

- Baba Y, Matsuo H, Schally AV. Structure of the porcine LH and FSH releasing hormone. Confirmation of the proposed structure by conventional sequential analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1971;44:459-63.
- Schally AV, Kastin AJ, Arimura A. Hypothalamic follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH)-regulating hormone: structure, physiology, and clinical studies. *Fertil Steril* 1971;22:703-21.
- Schally AV, Halmos G, Rekasi Z, Arencibia-Jimenez JM. The actions of luteinizing hormone releasing hormone agonists, antagonists and cytotoxic analogues on the LHRH receptors on the pituitary and tumors. *Infertility and Reproductive Medicine Clin North Am* 2001;12:17-44.
- Porter RN, Smith W, Craft IL. Induction of ovulation for IVF using Buserelin and gonadotropins. *Lancet* 1984;2:1284-1285.
- Lemay A, Maheux R, Faure N. Reversible hypogonadism induced by a LHRH agonist (buserelin) as a new therapeutic approach for endometriosis. *Fertil Steril* 1984;41:863-71.
- Campos SM, Winer EP. Hormonal therapy in postmenopausal women with breast cancer. *Oncology* 2003;64:289-99.
- McLeod DG. Hormonal therapy: historical perspective to future directions. *Urology* 2003;61:3-7.
- Bergqvist IA. Hormonal regulation of endometriosis and the rationale and effects of gonadotrophin-releasing hormone agonist treatment: a review. *Hum Reprod* 1995;10:446-52.
- Rutherford A, Subak-Sharpe RJ, Dawson KJ, Margara RA, Franks S, Winston RM. Improvement of in vitro fertilisation after treatment with buserelin, an agonist of luteinising hormone releasing hormone. *BMJ* 1998;296:1765-68.
- Hughes E, Federkow D, Daya S, Sagle MA, Van De Koppel P, Collins JA. The routine use of gonadotrophin releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafollopan transfer. A meta analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 1992;58:888-96.
- Liu HC, Lai YM, Davis O. Improved pregnancy outcome with gonadotrophin releasing hormone agonists stimulation due to the improvement in oocyte quantity rather than quality. *J Assist Reprod Genet* 1992;9:338-42.
- Bouchard P, Fauser BC. Gonadotropin-releasing hormone antagonist: new tools vs. old habits. *Fertil Steril* 2000;73: 18-20.
- Shapiro DB. An overview of GnRH antagonists in infertility treatments. Introduction. *Fertil Steril* 2003;80:1-7.
- Reismann T, Felberbaum R, Diedrich K. Development and application of luteinizing hormone agonists in the treatment of the infertility: an overview. *Hum Reprod* 1995;10:1974-81.
- Lindner C, Braendle W, Lichtenberg V, Bettendorf G. Induction of pharmacological hypogonadotrophism using GnRH agonists in patients undergoing controlled ovarian stimulation. *Gynecol Obstet Invest* 1990; 29:132-9.
- Oberye JJ, Mannaerts BM, Kleijn HJ, Timmer CJ. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of ganirelix (Antagon/Orgalutran). Part I. Absolute bioavailability of 0.25 mg of ganirelix after a single subcutaneous injection in healthy female volunteers. *Fertil Steril* 1999; 72:1001-5.
- Reissmann T, Schally AV, Bouchard P, Rietmüller H, Engel J. The LHRH antagonist Cetorelix: A review. *Hum Reprod Update* 2000;6: 322-31.
- Ganirelix Dose Finding Study Group. A double blind, randomized, dose finding study to assess the efficacy of the GnRH antagonist ganirelix (Org37642) to prevent premature LH surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation with recombinant FSH (Puregon) *Hum Reprod* 1998;13:3023-31.
- Out HJ, Mannaerts BM. The gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix-history and introductory data. *Hum Fertil* 2002;5: 5-10.
- Kol S, Lightman A, Hillensjo T, Devroey P, Fauser B, Tarlatzis B, Mannaerts B, Itskovitz-Eldor J. High doses of gonadotrophin-releasing hormone antagonist in in-vitro fertilization cycles do not adversely affect the outcome of subsequent freeze-thaw cycles. *Hum Reprod* 1999;14:2242-4.
- Mannaerts B, Gordon K. Embryo implantation and GnRH antagonists. GnRH antagonists do not activate GnRH receptor. *Hum Reprod* 2000;15:1882-83.
- Olivennes F, Alvarez S, Bouchard P, Fanchin R, Salat-Baroux J, Frydman R. The use of a GnRH antagonist (Cetorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg. *Hum Reprod* 1998;13:2411-4.
- Felberbaum RE, Reissmann T, Kupker W, Bauer O, al Hasani S, Diedrich C, Diedrich K. Preserved pituitary response under ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists (Cetorelix) in women with tubal infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995;61:151-5.
- Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmuller-Winzen H, Van Steirteghem A, Devroey P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1997;67:917-22.
- European Orgalutran Study Group, Borm G, Mannaerts B. Treatment with the GnRH antagonist ganirelix in women undergoing COH with rFSH is effective, safe and convenient: Results of a controlled, randomised, multicentre trial. *Hum Reprod* 2000;15:1490-98.
- North American Ganirelix Study Group. Efficacy and safety of ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing COH. *Fertil Steril* 2001;75:35-45.
- European and Middle East Orgalutran Study Group. Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2001;16:644-51.
- Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicolle B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R. Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer



- with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril* 2000;73:314-20.
29. Albano C, Felberbaum RE, Smits J, Riethmuller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetorelix Study Group. *Hum Reprod* 2000;15:526-31.
 30. Roulier R, Chabert-Orsini V, Sitri MC, Barry B, Terriou P. Depot GnRH agonist versus the single dose GnRH antagonist regimen (cetorelix, 3 mg) in patients undergoing assisted reproduction treatment. *Reprod Biomed Online* 2003;7:185-9.
 31. Olivennes F, Diedrich K, Frydman R, Felberbaum RE, Howles CM; Cerotide Multiple Dose International Study Group; Cetrotide Single Dose International Study Group. Safety and efficacy of a 3 mg dose of the GnRH antagonist cetorelix in preventing premature LH surges: report of two large multicentre, multinational, phase IIIb clinical experiences. *Reprod Biomed Online* 2003;6:432-8.
 32. Howles CM. The place of gonadotrophin-releasing hormone antagonists in reproductive medicine. *Reprod Biomed Online* 2002;4:64-71.
 33. Trew G.H. Optimizing GnRH antagonist protocol. *Hum Fertil* 2002;5:13-8.
 34. David Meldrum, Richard Scott, Michael J. Levy, Michael Alper and Nicole Noyes A pilot study to assess oral contraceptive (OC) pretreatment in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation (COH) in ganirelix acetate cycles. *Fertil Steril* 2002;78:176.
 35. Shapiro DB. GnRH antagonists in normal responder patients. *Fertil Steril* 2003;80:8-15.
 36. Obruca A, Fischl J, Huber C. GnRH antagonist bei der kontrollierten ovariellen hyperstimulation im rahmen der IVF. Optimierung der planbarkeit. *J Fertil Reprod* 2000;4:37.
 37. Wikland M, Bergh C, Borg K, Hillensjo T, Howles CM, Knutsson A, Nilsson L, Wood M. A prospective, randomized comparison of two starting doses of recombinant FSH in combination with cetorelix in women undergoing ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2001;1601676-81.
 38. Out HJ, Rutherford A, Fleming R, Tay CC, Trew G, Ledger W, Cahill D. A randomized, double-blind, multicentre clinical trial comparing starting doses of 150 and 200 IU of recombinant FSH in women treated with the GnRH antagonist ganirelix for assisted reproduction. *Hum Reprod* 2004;19:90-95.
 39. Hohmann FP, Macklon NS, Fauser BC. A randomized comparison of two ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:166-73.
 40. Ludwig M, Katalinic A, Banz C, Schröder AK, Löning M, Weiss JM and Diedrich K. Tailoring the GnRH antagonist cetorelix acetate to individual patients needs in ovarian stimulation for IVF: Results of a prospective, randomized study. *Hum Reprod* 2002;17:2842-45.
 41. Mansour R, Aboulghar M, Serour G, Al-Inany GH, Amin Y, Abousetta A. The use of a GnRH antagonist in a flexible protocol: A pilot study. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:444-46.
 42. Lindheim SR, Morales AJ. GnRH antagonists followed by a decline in serum estradiol results in adverse outcomes in donor oocyte cycles. *Hum Reprod* 2003;18:2048-51.
 43. Merviel P.H, Antoine JM, Boutlane-Iraki B. LH concentrations after GnRH antagonist administration do not have any influence on pregnancy rates in IVF/ET. *Hum reprod* 2002;17 (suppl 1);1-3.
 44. Noyes N, Chung K, Katz J. Is exogenous LH necessary when using GnRH antagonist in IVF. *Fertil Steril* 2002;78:22.
 45. Kolibianakis EM, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC, Devroey P. Initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist on day 1 as compared to day 6 of stimulation: effect on hormonal levels and follicular development in in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5632-7.
 46. Christin Maitre S, Olivennes F, Dubourdieu S et al. Effect of GnRH antagonist during the LH surge in normal women and during controlled ovarian stimulation. *Clinic Endocrinol* 2000;52:721-6.
 47. Engel JB, Ludwig M, Junge K, Howles CM, Diedrich K. No influence of body weight on pregnancy rate in patients treated with cetorelix according to the single- and multiple-dose protocols. *Reprod Biomed Online* 2003;6:482-7.
 48. Valencia I, Bosch E, Troncoso C. Premature luteinization during GnRH antagonist cycles in IVF adversely affects pregnancy and implantation rates. *Fertil Steril* 2002;78:21.
 49. Diedrich K, Ludwig M, Felberbaum RE. The role of gonadotropin-releasing hormone antagonists in in vitro fertilization. *Semin Reprod Med* 2001;19:213-20.
 50. Ortmann O, Weiss JM, Diedrich K. Embryo implantation and GnRH antagonists: ovarian actions of GnRH antagonists. *Hum Reprod* 2001;16:608-11.
 51. Weiss JM, Oltmanns K, Gurke EM, Polack S, Eick F, Felberbaum R, Diedrich K, Ortmann O. Actions of gonadotropin-releasing hormone antagonists on steroidogenesis in human granulosa lutein cells. *Eur J Endocrinol* 2001;144:677-85
 52. Latouche J, Crumeyrolle-Arias M, Jordan D. GnRH receptors in human granulosa cells: anatomical localization and characterization by autoradiographic study. *Endocrinology* 1989;125:1739-41.
 53. Bramley TA, Menzies GS, Baird DT. Specific binding of gonadotropin-releasing hormone and an agonist to human corpus luteum homogenates: characterization, properties and uterine phase levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;61:834-41.
 54. Hernandez ER. Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists. *Hum Reprod* 2000;15:1211-6.
 55. Minaretzis D, Alper MM, Oskowitz SP, Lobel SM, Mortola JF, Pavlou SN. Gonadotropin-releasing hormone antagonist versus agonist administration in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation: cycle performance and in vitro steroidogenesis of granulosa-lutein cells. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1518-25.
 56. Demirel LC, Weiss JM, Polack S, Unlu C, Diedrich K, Ortmann O. Effect of the gonadotropin-releasing hormone antagonist ganirelix on cyclic adenosine monophosphate accumulation of human granulosa-lutein cells. *Fertil Steril* 2000;74:1001-7.
 57. Schroder AK, Schopper B, Al-Hasani S, Loning M, Diedrich K, Ludwig M. Sperm to zona pellucida binding depends on the use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or a gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril* 2003;79:648-50.
 58. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P. Triggering of ovulation by a GnRH agonist in patients pretreated with a GnRH antagonist. *Fertil Steril* 1996;66:151-3.
 59. Itskovitz-Eldor J, Kol S and Mannaerts B. Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report. *Hum Reprod* 2000;15:1965-8.
 60. Olivennes F. Induction of final oocyte maturation by a single dose GnRH agonist after ganirelix treatment. *Gynecol Endocrinol* 2001;15 (suppl 1):12.
 61. Albano C, Grimbizis G, Smits J. The luteal phase of non supplemented cycles after ovarian superovulation with HMG and GnRH antagonist cetorelix. *Fertil Steril* 1998;70:357-9.
 62. Lin Y, Kahn JA, Hillensjo T. Is there a difference in the function of granulosa lutein cells in patients undergoing IVF either with GnRH agonist or GnRH antagonist. *Hum Reprod* 1999;14:885-8.
 63. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, Bustion S, Loumaye E, Fauser BC. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4186-92.
 64. Ludwig M, Felberbaum RE, Devroey P. Significant reduction of the incidence of OHSS by using the LHRH antagonist cetorelix in COH for ART. *Arch Gynecol Obstet* 2000;264:29-32.
 65. Cardone VS. GnRH antagonists for treatment of PCOS. *Fertil Steril* 2003;80:25-31
 66. Kolibianakis E, Zikopoulos K, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Reproductive outcome of polycystic ovarian syndrome patients treated with GnRH antagonists and recombinant



- FSH for IVF/ICSI. *Reprod Biomed Online* 2003;7:313-8.
67. Copperman AB. Antagonists in poor responder patients *Fertil Steril* 2003;80:16-24.
68. Akman M, Erden H, Tosun S, Bahçeci M. Comparison of agonistic flare up protocol and antagonistic multipl dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: Results of a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001;16:868-70.
69. Prough S, Blackwell JL, Mc Nichol MW, Thibodeaux JK, Green H. Effect of GnRH antagonist on cancellation rates in IVF cycles. *Fertil Steril* 2003;80 (suppl 3):182.
70. Ludwig M, Felberbaum RE. Health of 227 children born after COH for IVF using the LHRH antagonist cetrorelix. *Fertil Steril* 2001;75:18-22.
71. Ronigers – Bertrand C, Olivennes F, Righini C. Revival of the natural cycles in IVF with the use of a new GnRH antagonist Cetrorelix : A pilot study with minimal stimulation. *Hum Reprod* 1999;14:683-8.
72. Hara T, Araki H, Kusaka M. Suppression of a pituitary-ovarian axis by chronic oral administration of a novel nonpeptide gonadotropin-releasing hormone antagonists, TAK-013, in cynomolgus monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1697-1704.