

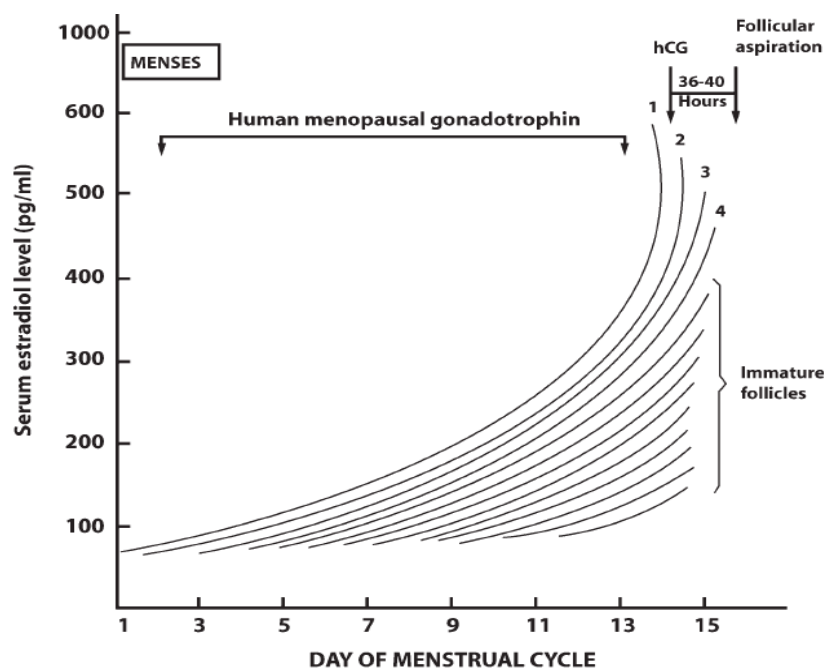
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΩΟΦΥΛΑΚΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ»**



ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΜΩΡΑΙΤΗΣ  
ΙΑΤΡΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ, Σεπτέμβριος 2010

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ  
Επιβλέπων: Καθηγητής ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΕΣΣΗΝΗΣ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :  
Αν. Καθηγήτρια ΑΣΠΑΣΙΑ ΤΣΕΖΟΥ  
Επικ. Καθηγητής ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΝΤΑΦΟΠΟΥΛΟΣ

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

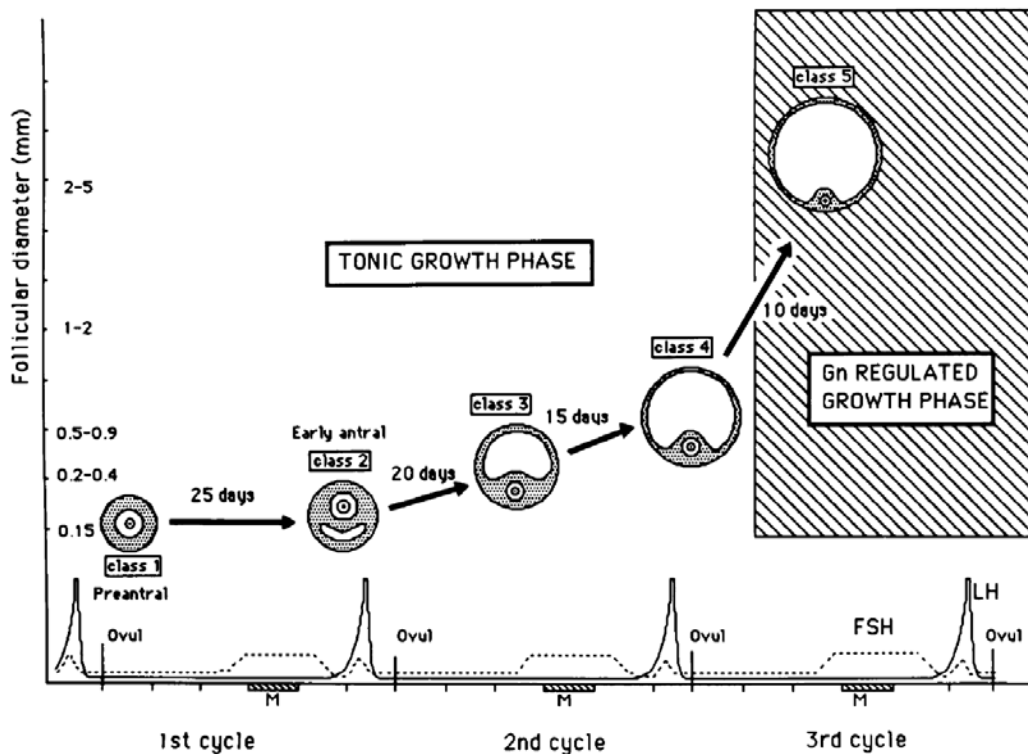
Τα κλασικά πρωτόκολλα διέγερσης των ωθηκών προκαλούν ασύγχρονη ανάπτυξη των ωοθυλακίων με αποτέλεσμα όταν χορηγούμε την hCG ένα ή δύο να έχουν φτάσει στο κατάλληλο μέγεθος (>20mm) και ταυτόχρονα να υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός μικρών ωοθυλακίων που δεν μπορούν να μας δώσουν ώριμα ωάρια αλλά μέσω της οιστραδιόλης που παράγουν να οδηγούν σε σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών και στην ακύρωση κύκλων. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην ανομοιογένεια των ωοθυλακίων στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης αφού τα μεγαλύτερα ωοθυλάκια είναι πιο ευαίσθητα στην FSH από τα μικρότερα κι έτσι αναπτύσσονται με ταχύτερο ρυθμό. Ακόμη αυτό μπορεί να οφείλεται στις μεγάλες δόσεις FSH κατά τη διάρκεια όλου του κύκλου ενώ μπορεί αυτές να μην είναι απαραίτητες. Για να απαντηθούν τα παραπάνω ερωτήματα έγιναν μελέτες που επικεντρώνονται σε τρία σημεία. Α) Στην καταστολή της FSH στο τέλος της ωχρινικής φάσης του προηγούμενου κύκλου μέσω της χορήγησης οιστραδιόλης ή GnRH ανταγωνιστή και κατά πόσο αυτή θα μπορούσε να μειώσει την ετερογένεια στο μέγεθος των ωοθυλακίων στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης και στην πιο σύγχρονη ανάπτυξή τους. Β) Στο ότι στην αρχική διέγερση δεν χρειάζονται απαραίτητα υψηλές δόσεις FSH για την πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης αλλά αυτό μπορεί να γίνει και με χαμηλότερες δόσεις αρκεί να παρατείνουν το “παράθυρο της FSH”. Γ) Στην χορήγηση χαμηλών δόσεων hCG από τη μέση ως το τέλος της διέγερσης και κατά πόσο αυτή μπορεί να συνεχίσει αποτελεσματικά την ωρίμανση των ωοθυλακίων και να συμβάλλει στον συγχρονισμό τους.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### Φυσιολογία της ωοθυλακιογένεσης

Οι ανθρώπινες ωοθήκες αποτελούν μια πηγή ωοθυλακίων που συνεχώς μειώνεται κατά τη διάρκεια της ζωής μιας γυναίκας. Από 6-7 εκατομμύρια την 20<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης (Baker, 1963) μειώνονται στο 1 εκ. κατά τη γέννηση, στο 0,5 εκ στην ήβη για να μείνουν μόνο περίπου 1000 κατά την εμμηνόπαυση. Απ' αυτά μόνο τα 400 θα φτάσουν στην ωοθυλακιορρηξία ενώ τα υπόλοιπα θα καταλήξουν στην ατρησία και την απόπτωση.

Η ωοθυλακιογένεση ξεκινά όταν τα ωοθυλάκια περνούν από το αρχέγονο στάδιο στη διαδικασία της ωρίμανσης. Η διαδρομή ενός ωοθυλακίου από το αρχέγονο ως το προωθυλακιορρηκτικό στάδιο κρατά περίπου 220 μέρες και χωρίζεται σε τρεις φάσεις ανάλογα με το μέγεθος και την εξάρτησή του από τις γοναδοτροφίνες (Gougeon, 1996). Το πρώτο στάδιο είναι η αρχική στρατολόγηση στο οποίο το ωοθυλάκιο βγαίνει από τη φάση ηρεμίας και αρχίζει να μεγαλώνει με τα κοκκώδη κύτταρα από πλακώδη να γίνονται κυβοειδή (πρωτογενές). Το δεύτερο στάδιο είναι η ανάπτυξη του ωοθυλακίου αρχικά σε δευτερογενές (πολύστιβο) κι έπειτα η δημιουργία του άντρου και η αρχική φάση ανάπτυξής του. Αυτή η φάση κρατά περίπου τρεις εμμηνορρησιακούς κύκλους και αν και δεν εξαρτάται άμεσα από τις γοναδοτροφίνες [όπως φαίνεται σε γυναίκες με σύνδρομο Kallmann ή μετά από υποφυσιεκτομή (Schoot et al, 1992)] αλλά αυτές μπορεί να διεγείρουν την ανάπτυξη (McGee and Hsueh, 2000). Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης τα ανδρογόνα πιστεύεται ότι έχουν θετική επίδραση στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων.(Vendola et al, 1998).

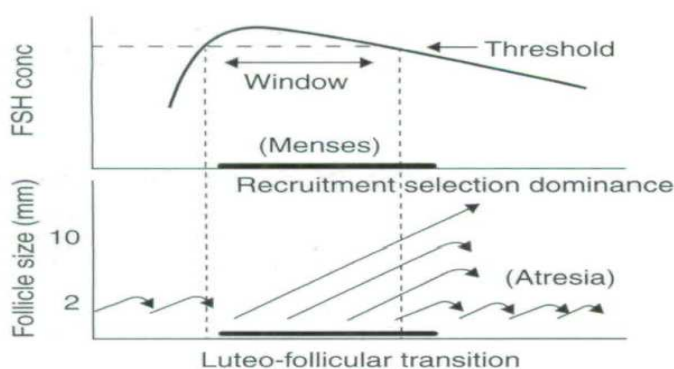


Το τρίτο στάδιο είναι αυτό της κυκλικής στρατολόγησης όπου μια ομάδα ωοθυλακίων αρχίζει να αναπτύσσεται έως την επιλογή του ενός που θα επιλεγεί να φτάσει ως την ωοθυλακιορρηξία ενώ ταυτόχρονα τα υπόλοιπα θα καταλήξουν στην ατρησία. Αυτή η φάση εξαρτάται απόλυτα από τις γοναδοτροφίνες και η επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου γίνεται μέσω της διακυκλικής αύξησης της FSH από μία ομάδα περίπου 11 ωοθυλακίων που ξεκινούν να αναπτύσσονται κατά την κυκλική στρατολόγηση. (Hodgen 1982, Pache et al 1990). Τα ωοθυλάκια αυτά είναι μεγέθους 2-8 mm (McNatty et al 1983, Chikazawa et al 1986, Gougeon 1986), και απ'αυτά θα επιβιώσει αυτό που θα αναπτύξει πιο γρήγορα τη μεγαλύτερη ευαισθησία στην FSH. Η διακυκλική αύξηση και μετέπειτα μείωση της FSH έχει μεγάλη σημασία για την επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου και για τα πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών και θα αναλυθεί διεξοδικά παρακάτω.

### **Κατώφλι και παράθυρο της FSH**

Στο τέλος της ωχρινικής φάσης του κύκλου λόγω της εξασθένισης της λειτουργίας του ωχρού σωματίου μειώνονται τα επίπεδα της οιστραδιόλης, της προγεστερόνης και της ινχιμίνης Α στο αίμα με συνέπεια, λόγω της αρνητικής ανατροφοδότησης, να αυξάνεται η FSH (Rosseff et al 1989, Groome et al 1996).

Παρόλα αυτά η πτώση της οιστραδιόλης παίζει τον κύριο ρόλο στη διακυκλική αύξηση της FSH (le Nestour et al 1993). Η FSH αρχίζει να αυξάνει 12 μέρες μετά το προηγούμενο κύμα της LH (Hall et al 1992). Όταν τα επίπεδα της FSH περάσουν πάνω από ένα κατώφλι τότε ξεκινά η διέγερση των ωοθυλακίων. Η θεωρία για το “κατώφλι της FSH” παρουσιάστηκε πρώτη φορά από τον Brown το 1978. Κάθε ωοθυλάκιο έχει διαφορετική ευαισθησία στην FSH κι αυτό συνεπάγεται ότι κάθε ωοθυλάκιο έχει διαφορετικό κατώφλι διέγερσης (Sheele and Schomaker, 1996). Το ωοθυλάκιο με τη μεγαλύτερη ευαισθησία θα αρχίσει πρώτο να παράγει οιστρογόνα και ινχιμπίνη Β οπότε μέσω αρνητικού feedback η FSH θα αρχίσει να μειώνεται μέχρι να πέσει κάτω από το κατώφλι. (Zelevnik et al 1985, Groome et al 1996, Schipper et al 1998, Welt et al 1997). Παρά την πτώση της συγκέντρωσης της FSH το πιο ώριμο ωοθυλάκιο συνεχίζει να αναπτύσσεται λόγω αυξημένης ευαισθησίας στην FSH και εξάρτησης και από την LH( Hillier 1994, McGee and Hsueh 2000). Τα υπόλοιπα ωοθυλάκια λόγω της έλλειψης επαρκούς FSH σταματούν να αναπτύσσονται και γίνονται ατροφικά. Με αυτόν τον τρόπο γίνεται η επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου. Το διάστημα που η FSH βρίσκεται πάνω από το κατώφλι ονομάζεται “Παράθυρο της FSH” και ο όρος αυτός δόθηκε από τον Fauser (Fauser et al, 1993) για να τονίσει τη σημασία της διάρκειας των αυξημένων επιπέδων FSH και όχι του ύψους της συγκέντρωσής της FSH πάνω από το κατώφλι.



Εικόνα 2

## Ο ρόλος της LH στην ανάπτυξη του ωοθυλακίου

Ο ρόλος της LH είναι πολύ σημαντικός κατά τη διάρκεια του κύκλου της γυναίκας. Εκτός του ότι η “Αιχμή της LH” προκαλεί την ωοθυλακιορρηξία στο μέσο του κύκλου, η LH είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του ωοθυλακίου και την παραγωγή των οιστρογόνων. Σύμφωνα με το μοντέλο των “δύο κυττάρων, δύο γοναδοτροφινών” (Dorrington et al, 1979) η LH προκαλεί την παραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης τα οποία μεταφέρονται στα κοκκώδη κύτταρα για να μετατραπούν από την αρωματάση σε οιστρογόνα κάτω από την επίδραση της FSH. Όμως από το μέσο της ωοθυλακικής φάσης εμφανίζονται υποδοχείς της LH και στα κοκκώδη κύτταρα (Shima et al, 1987) και η LH αναλαμβάνει το ρόλο της FSH στην ανάπτυξη του ωοθυλακίου και τη δράση της αρωματάσης.(Zelevnik and Hillier, 1984). Αυτή η εξαρτώμενη από την LH ανάπτυξη του ωοθυλακίου από τη μέση προς το τέλος της ωοθυλακικής φάσης αναπτύσσεται στο αναθεωρημένο μοντέλο “δύο κυττάρων-δύο γοναδοτροφινών” από τον Hillier (Hillier, 1994).

Stage of life	Theca cell receptors		Granulosa cell receptors	
	FSH	LH	FSH	LH
Prenatal	-	+	+	-
Prepubertal	-	+	+	-
Adult menstrual cycle				
Early follicular	-	+	+	-
Mid- to late-follicular	-	+	+	+

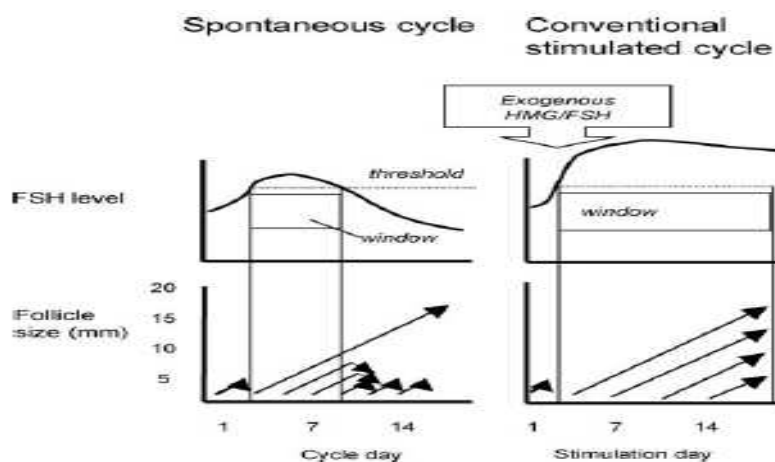
Εικόνα 3

## Τα πρωτόκολλα πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης και το πρόβλημα της ασύγχρονης ανάπτυξης των ωοθυλακίων.

Όλα τα πρωτόκολλα πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης στηρίζονται στην εξωγενή χορήγηση FSH για την ανάπτυξη πολλαπλών ωοθυλακίων και ενός GnRH αναλόγου για την αποτροπή πρόωμης ωοθυλακιορρηξίας.

Για την πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής ανάπτυξης πρέπει να χορηγείται εξωγενής FSH έτσι ώστε η συγκέντρωσή της να ξεπεράσει το κατώφλι (Messinis, Templeton, 1990) και για αρκετές ημέρες ώστε να διευρύνει το παράθυρο της FSH

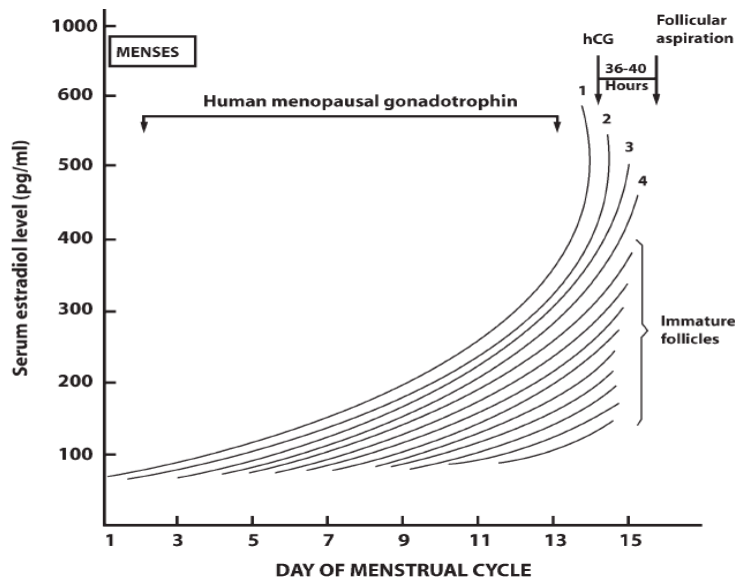
(Schipper, Fauser, 1998). Μία υψηλή δόση FSH στην αρχή του κύκλου δεν αρκεί για να διατηρήσει την ανάπτυξη πολλών ωοθυλακίων. (Lolis, Messinis, 1995).



Εικόνα 4

Κατά τη χορήγηση της εξωγενούς FSH τα ωοθυλάκια δεν ανταποκρίνονται με τον ίδιο τρόπο. Αυτό που έχει το χαμηλότερο κατώφλι για την FSH είναι το πρώτο που αναπτύσσεται. Ο γενικός κανόνας είναι ότι τα μεγαλύτερα ωοθυλάκια είναι πιο ευαίσθητα στην FSH από τα μικρότερα (McNatty et al, 1987: Fauser and Van Heusden, 1997). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα ωοθυλάκια να αναπτύσσονται ασύγχρονα. Κάποια απ' αυτά ξεκινούν αμέσως μετά τη χορήγηση της FSH και ο ρυθμός ανάπτυξης τους να είναι υψηλός (αφού όσο μεγαλώνει το μέγεθος αυξάνεται και η ευαισθησία στην FSH) και κάποια μερικές μέρες αργότερα με μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης. Έτσι όταν τα πρώτα ωοθυλάκια φτάσουν στο προωθυλακιορρηκτικό στάδιο και χορηγήσουμε την hCG υπάρχουν πολλά ωοθυλάκια τα οποία δεν έχουν προλάβει να ωριμάσουν. (Oehninger and Hodgen, 1990).





Εικόνα 5

Τα ωοθυλάκια αυτά είναι “ανεπιθύμητα” στα πρωτόκολλα διέγερσης αφού τα ωάρια που θα δώσουν θα είναι ανώριμα και ακατάλληλα για γονιμοποίηση. Αυτό έχει σαν συνέπεια να μειώνεται ο αριθμός των γονιμοποιημένων ωαρίων άρα και του ποσοστού κύησης. Επίσης λόγω της οιστραδιόλης που παράγουν μπορεί να αυξήσουν τα ποσοστά ακύρωσης του κύκλου και του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών.

### **Ο σκοπός και τα πιθανά οφέλη του συγχρονισμού της πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης**

Ο σκοπός του συγχρονισμού είναι η ανάπτυξη ενός αριθμού ωοθυλακίων, όχι απαραίτητα μεγάλου, που θα φτάσουν ταυτόχρονα στο προωοθυλακιορρηκτικό στάδιο οπότε θα δώσουν ωάρια ώριμα για γονιμοποίηση. Επίσης είναι η αποφυγή της “ουράς” των ανώριμων ωοθυλακίων που η ύπαρξή της δεν έχει όφελος και μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στη διαδικασία. Οπότε η δημιουργία πρωτοκόλλων σύγχρονης ανάπτυξης των ωοθυλακίων στηρίζεται στη λογική του να παράγουμε “λίγα και καλά” ωοθυλάκια.

Πιθανά οφέλη του συγχρονισμού:

A) Η συλλογή περισσότερων «καλών» ωαρίων άρα και η βελτίωση του ποσοστού γονιμοποίησης και τελικά του ποσοστού κύησης.

B) Η μείωση του ποσοστού ακύρωσης κύκλου και συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών.

Γ) Η μείωση του κόστους των πρωτοκόλλων διέγερσης ωοθηκών.

**Σημεία κλειδιά στη φυσιολογία για την ανάπτυξη πρωτοκόλλων σύγχρονης πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης.**

A) Ο αριθμός, το μέγεθος και η ετερογένεια των ωοθυλακίων στο τέλος της ωχρινικής φάσης του προηγούμενου κύκλου.

B) Το κατώφλι και παράθυρο της FSH και ο τρόπος διέγερσης των ωοθηκών στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου.

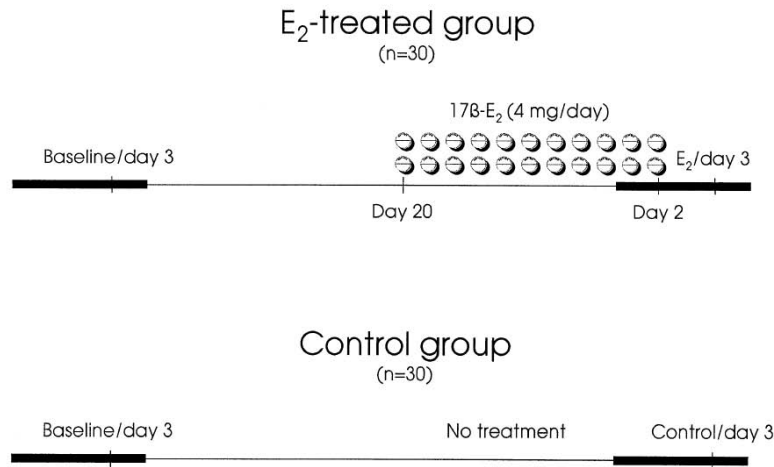
Γ) Η ανάπτυξη υποδοχέων της LH στα κοκκώδη κύτταρα από τη μέση προς το τέλος της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου και η εξαρτώμενη από την LH ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

### **A) Συγχρονισμός των ωοθυλακίων στο τέλος της ωχρινικής φάσης.**

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης τα ωοθυλάκια δεν έχουν ίδιο μέγεθος αλλά αυτό κυμαίνεται από 2-8mm. Αυτή η ετερογένεια θα μπορούσε να οφείλεται στη σταδιακή αύξηση της FSH στο τέλος της ωχρινικής φάσης λόγω της πτώσης της οιστραδιόλης όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Ακόμη αυτή η ετερογένεια θα μπορούσε να εξηγήσει την διαφορετική ανταπόκριση των ωοθυλακίων στην FSH και την ασύγχρονη ανάπτυξή τους. Για να εξεταστεί τα δύο σκέλη του ερωτήματος η ομάδα του Fanchin πραγματοποίησε μελέτες που πρώτον αποδεικνύουν ότι η χορήγηση οιστραδιόλης και GnRH ανταγωνιστή στο τέλος της ωχρινικής φάσης μειώνουν τις διαφορές στο μέγεθος των ωοθυλακίων την 3<sup>η</sup> ημέρα του κύκλου και δεύτερον ότι αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πιο συγχρονισμένη ανάπτυξη και σε καλύτερα αποτελέσματα σε πρωτόκολλο διέγερσης των ωοθηκών με GnRH ανταγωνιστή.

Στην πρώτη μελέτη (Fanchin et al, 2003a) σε ένα δείγμα 60 γυναικών μετρήθηκαν η FSH, η ινχιμίνη Β και η οιστραδιόλη στον ορό και έγινε υπερηχογραφικός έλεγχος των ωοθηκών την τρίτη μέρα του κύκλου (1<sup>ος</sup> κύκλος). Μετά οι γυναίκες χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες των 30 και στη μία ομάδα χορηγήθηκε οιστραδιόλη (4mg/day) από την 20<sup>η</sup> μέρα του πρώτου κύκλου ως τη 2<sup>η</sup> μέρα του δεύτερου και η άλλη ομάδα χρησιμοποιήθηκε ως control όπως παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα.

Study protocol. Horizontal *black bars* represent menstrual bleeding. On baseline/day 3, E<sub>2</sub>/day 3, and control/day 3, hormonal and ultrasound measurements were performed.



*Fanchin. Coordination of early antral follicles. Fertil Steril 2003.*

Εικόνα 6

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση στην ετερογένεια του μεγέθους των ωοθυλακίων στην ομάδα της E<sub>2</sub>. Επίσης ο αριθμός των ωοθυλακίων (>2mm) παρέμεινε ίδιος και στις δύο ομάδες αλλά τα ωοθυλάκια είχαν μικρότερο μέγεθος στην ομάδα της E<sub>2</sub>. Η μέση τιμή της ινχιμπίνης B και της FSH ήταν στατιστικά μικρότερη και η τιμή της E<sub>2</sub> μεγαλύτερη στην ομάδα της E<sub>2</sub>. Αυτά παρουσιάζονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα.

Ultrasound and hormonal results during two consecutive menstrual cycles in women receiving E<sub>2</sub> during the luteal phase and in controls.

	E <sub>2</sub> treated group			Control group		
	Baseline/day 3	E <sub>2</sub> /day 3	P	Baseline/day 3	Control/day 3	P
No. of follicles (range)	10.4 ± 4.3 (3–19)	10.3 ± 4.9 (2–20)	NS	10.6 ± 4.1 (3–20)	10.5 ± 3.9 (3–20)	NS
Mean follicular size (mm)	4.9 ± 1.0	3.7 ± 0.5	<.001	4.9 ± 0.8	5.0 ± 0.8	NS
SD/mean of follicular sizes	0.40	0.23	<.001	0.40	0.39	NS
Mean ovarian volume (cm <sup>3</sup> )	6.1 ± 3.0	5.1 ± 2.6	<.02	6.1 ± 2.3	6.2 ± 2.1	NS
Serum inhibin B (pg/mL)	71 ± 32	34 ± 28	<.001	77 ± 23	75 ± 21	NS
Serum E <sub>2</sub> (pg/mL)	47 ± 29	114 ± 57	<.001	43 ± 29	38 ± 22	NS
Serum FSH (mIU/mL)	7.3 ± 3.3	4.3 ± 1.9	<.001	6.9 ± 2.6	7.5 ± 2.7	NS

*Fanchin. Coordination of early antral follicles. Fertil Steril 2003.*

Εικόνα 7

Στην δεύτερη μελέτη (Fanchin et al, 2004) με την ίδια λογική ένα δείγμα 25 γυναικών μελετήθηκε σε δύο διαδοχικούς κύκλους και στον δεύτερο χωρίστηκε τυχαία σε δύο ομάδες και στη μία χορηγήθηκε GnRH ανταγωνιστής (cetorelix 3mg) την 25<sup>η</sup> ημέρα του και στην άλλη όχι. Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Parameter	Control/day 2	Premenstrual GnRH antagonist/day 2	P value
No. of follicles (range)	9.4 ± 2.9 (3–19)	9.3 ± 2.2 (2–20)	NS
Mean follicular size (mm)	5.5 ± 1.0	4.1 ± 0.9	<.001
CV of follicular sizes (%)	38	20	<.001
Serum Inhibin B (pg/mL)	76 ± 33	52 ± 30	<.01
Serum E <sub>2</sub> (pg/mL)	46 ± 26	23 ± 13	<.001
Serum FSH (mIU/mL)	6.7 ± 2.4	4.5 ± 1.9	<.001

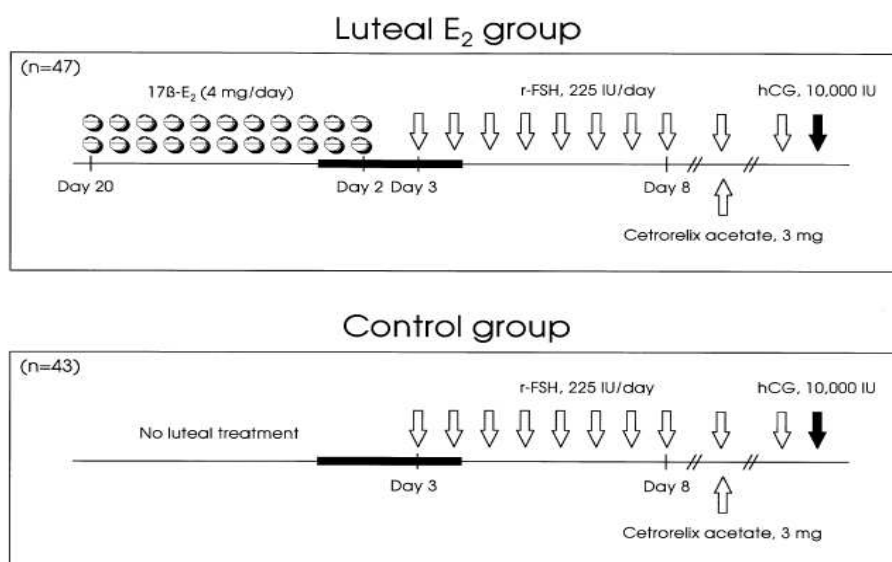
*Note:* NS = not significant.

*Fanchin. Premenstrual GnRH antagonist administration. Fertil Steril 2004.*

#### Εικόνα 8

Αυτές οι δύο μελέτες αποδεικνύουν ότι η χορήγηση οιστραδιόλης ή GnRH ανταγωνιστή μπορεί να μειώσει τις διαφορές στο μέγεθος των ωοθυλακίων στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης κι έτσι να τα «συγχρονίσει». Χρειάζεται όμως να αποδειχτεί ότι αυτός ο αρχικός συγχρονισμός διατηρείται και μετά τη χορήγηση γοναδοτροφινών ως το προωθυλακιωρρηκτικό στάδιο και αυτό προσπαθεί η ίδια ομάδα να αποδείξει στην τρίτη μελέτη (Fanchin et al, 2003b).

Σ' αυτή τη μελέτη συμμετείχαν 90 γυναίκες που τηρούσαν τα κριτήρια της έρευνας ( ηλικία <38 ετών, διάρκεια κύκλου 25-35 μέρες, BMI 18-27 χωρίς άλλα προβλήματα υγείας.) Για τη διέγερση των ωοθηκών χρησιμοποιήθηκε σε όλες το ευέλικτο πρωτόκολλο με ανταγωνιστή. Αυτές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες και στην πρώτη (n=47) χορηγήθηκε οιστραδιόλη (micronized 17β-E2 oral tablets 4mg/day) από την 20<sup>η</sup> μέρα του προηγούμενου κύκλου ως τη 2<sup>η</sup> μέρα του κύκλου και στις υπόλοιπες όχι όπως παρουσιάζεται στην εικόνα.



Εικόνα 9

Ο GnRH ανταγωνιστής (Cetorelix acetate) χορηγήθηκε όταν ένα ωοθυλάκιο έφτανε τα 13mm και η hCG όταν τουλάχιστον 5 ωοθυλάκια έφταναν τα 16mm.

Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

	Luteal E <sub>2</sub> group	Control group	P
No. of follicles >10 mm on day 8	16.4 ± 1.0	16.8 ± 0.9	NS
Mean follicular size on day 8 (mm)	9.9 ± 0.2	11.1 ± 0.3	<0.001
CV of follicular sizes on day 8	0.22	0.26	<0.02
Day of GnRH antagonist administration	9.1 ± 0.2	8.5 ± 0.2	<0.01
Day of HCG administration	11.9 ± 0.2	10.8 ± 0.2	<0.001
No. of follicles ≥ 16 mm on day of HCG	9.9 ± 0.5	7.9 ± 0.5	<0.01
No. of mature follicles	9.3 ± 0.7	7.3 ± 0.5	<0.03
No. of available embryos	6.4 ± 0.6	4.6 ± 0.3	<0.01
No. of embryos transferred	2.6 ± 0.1	2.7 ± 0.1	NS
Clinical pregnancy rates/cycle	34%	25%	NS

Εικόνα 10

Όπως φαίνεται στον πίνακα τα ωοθυλάκια αναπτύχθηκαν πιο συγχρονισμένα στην ομάδα της E2 αφού η διακύμανση του μεγέθους των ωοθυλακίων την 8<sup>η</sup> μέρα (3<sup>η</sup> γραμμή) ήταν στατιστικά μικρότερη σ' αυτήν την ομάδα. Ακόμη την ημέρα της hCG στην πρώτη ομάδα 2 περισσότερα ωοθυλάκια κατά μέσο όρο είχαν μέγεθος πάνω από 16mm (9,9 αντί για 7,9) και ήταν ώριμα (9,3 αντί για 7,3). Τέλος στην ομάδα της E2 τα διαθέσιμα έμβρυα ήταν στατιστικά σημαντικά περισσότερα (6,4

αντί για 4,6) και το ποσοστό επίτευξης κύησης μεγαλύτερο αλλά χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά. Παρόλα αυτά αυτή η μελέτη απέδειξε ότι η χορήγηση E2 πριν τη χορήγηση της FSH συγχρονίζει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων αφού μειώνει την ετερογένεια του μεγέθους κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και οδηγεί στη συλλογή περισσότερων ώριμων ωοθυλακίων. Αυτό μπορεί να φέρει καλύτερα αποτελέσματα στα πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών αλλά μένει να αποδειχτεί με μεγαλύτερες μελέτες που να μπορούν να οδηγήσουν σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. προϋπόθεση για τη χορήγηση της hCG.

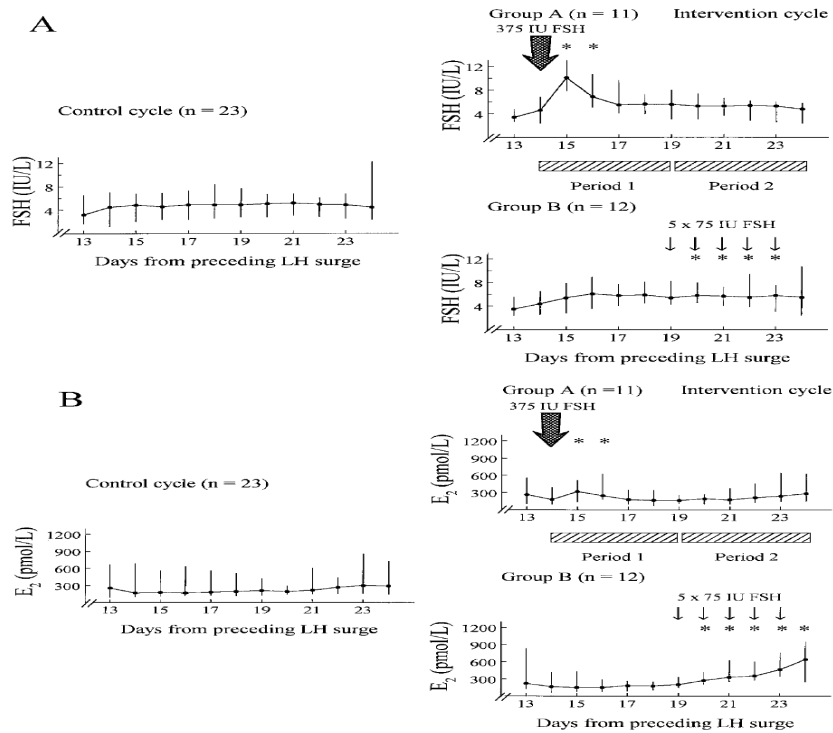
## **B) Διέγερση των ωοθηκών στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης.**

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιείται σήμερα περισσότερο για τη διέγερση των ωοθηκών είναι το μακρύ πρωτόκολλο με GnRH αγωνιστή με μεγάλες δόσεις FSH από 150 έως 450 iu/day. (Macklon et al, 2006). Η χορήγηση τέτοιων δόσεων FSH για αρκετές ημέρες οδηγεί σε αυξημένα ποσοστά συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών (Fauser et al, 1999; Delvigne and Rosemberg, 2002; Aboulgar and Mansour, 2003). Ακόμη οδηγεί στη παραγωγή πολλών ωοθυλακίων παρόλο που η τάση σε πολλά μέρη του κόσμου είναι να μεταφέρονται 1 ή 2 έμβρυα. Τέλος οδηγεί σε ασύγχρονη ανάπτυξη και σε μια ουρά ανώριμων ωοθυλακίων (Oehninger and Hodgen, 1990) όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Αυτά τα προβλήματα οδήγησαν κάποιους ερευνητές (κυρίως από την ομάδα του Fauser) να στραφούν σε ηπιότερα πρωτόκολλα διέγερσης σύμφωνα με τη θεωρία του κατωφλιού και του παραθύρου της FSH. Αυτές οι μελέτες είχαν ως αρχικό στόχο να δείξουν ότι ακόμη και με χαμηλές δόσεις FSH που παρατείνουν το παράθυρο της FSH μπορεί να προκληθεί πολλαπλή ωοθυλακική ωρίμανση. Σαν αποτέλεσμα όμως έδειξαν ακόμη ότι ήπια πρωτόκολλα διέγερσης μπορούν να οδηγήσουν σε μεγαλύτερο αριθμό ώριμων ωοθυλακίων (>15mm) και σε μικρότερο αριθμό ανώριμων (<15mm) άρα και σε καλύτερο συγχρονισμό.

Στην πρώτη μελέτη (Schipper et al, 1998) σε δείγμα 23 γυναικών, αφού μετρήθηκε η FSH και η E2 σε ένα κύκλο που λειτούργησε σαν control, χωρίστηκαν σε δύο ομάδες και στην πρώτη (n=11) χορηγήθηκαν 375 iu FSH (5 αμπούλες) την 14<sup>η</sup> μέρα μετά το προηγούμενο κύμα της LH (LH+14) και στη δεύτερη 75 iu FSH για 5 ημέρες από τη 19<sup>η</sup> (LH+19) ως την 24<sup>η</sup> ημέρα (LH+24) μετά το προηγούμενο κύμα

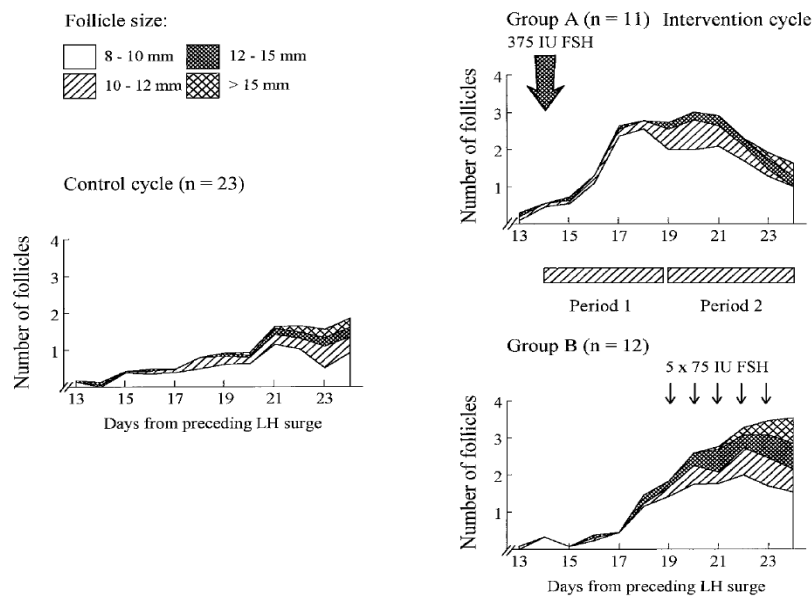
της LH. Αρχικά η μελέτη έδειξε ότι η αύξηση της E2 δηλαδή η διέγερση των ωοθηκών ήταν καλύτερη στη 2<sup>η</sup> ομάδα όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 11

Επίσης αυτή η μελέτη έδειξε ότι παρόλο που η χορήγηση υψηλής δόσης FSH την ημέρα LH+14 αύξησε τον αριθμό των ωοθυλακίων με μέγεθος >8mm τις πρώτες μέρες αυτή η ανάπτυξη δεν συνεχίστηκε οπότε δεν οδήγησε στην ανάπτυξη ώριμων ωοθυλακίων. Αντίθετα όταν χορηγήθηκε παρατεταμένα FSH αυτό οδήγησε αρχικά σε πιο αργή ανάπτυξη αλλά τελικά στην παραγωγή αρκετών ωοθυλακίων μεγαλύτερων από 15mm χωρίς να αυξάνει τον αριθμό των ωοθυλακίων μικρότερων των 10mm.

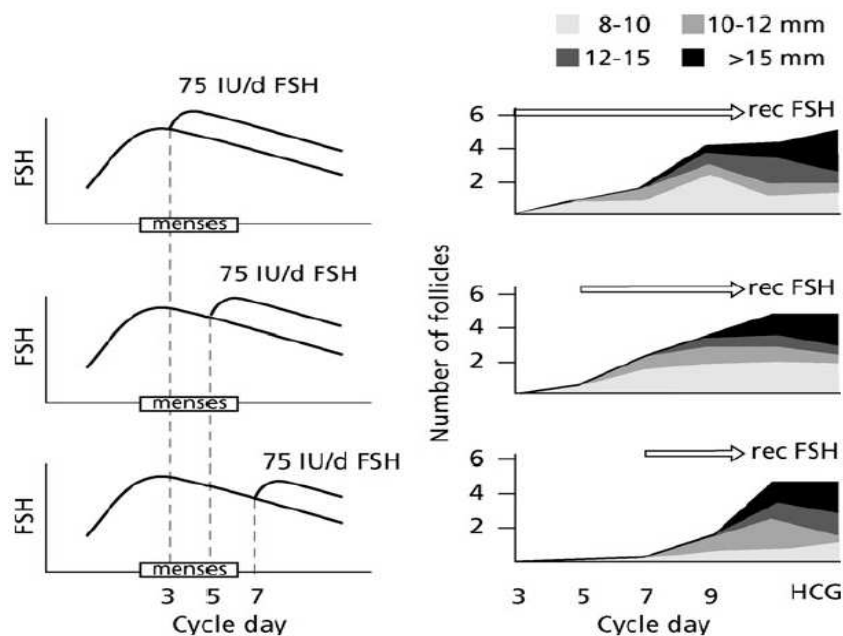




Εικόνα 12

Στην δεύτερη μελέτη (Hohmann et al, 2001) 40 γυναίκες χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες. Στην πρώτη (n=13) χορηγήθηκαν 75iu FSH από την 3<sup>η</sup> μέρα του κύκλου ως την ημέρα χορήγησης της hCG (όταν το μεγαλύτερο ωοθυλάκιο ξεπερνούσε τα 18mm), στη δεύτερη (n=13) χορηγήθηκε FSH παρομοίως αλλά ξεκινώντας από την 5<sup>η</sup> μέρα και στην τρίτη (n=14) από την 7<sup>η</sup> μέρα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι πολλαπλή ωοθυλακική ανάπτυξη υπήρξε και στις τρεις ομάδες. Τα ποσοστά έδειξαν ότι δεν υπήρξε διαφορά στα ποσοστά πολλαπλής ωοθυλακικής ανάπτυξης (2 τουλάχιστον ωοθυλάκια >10mm) ούτε στην ανάπτυξη προωθυλακιόρρηκτων ωοθυλακίων (1 τουλάχιστον ωοθυλάκιο >15mm) αλλά στην CD7 ομάδα το ποσοστό ανάπτυξης πολλαπλών προωθυλακιόρρηκτων ωαρίων ήταν στατιστικά μικρότερο (36 vs 73%: P=0,02). Αυτό σημαίνει ότι όσο αργότερα ξεκινάει η διέγερση τόσο πιο δύσκολο είναι να φτάσουν πολλά ωοθυλάκια στο τελικό στάδιο ωρίμανσης παρόλο που αυτό δεν αποκλείεται. Παρόλα αυτά στα άτομα που αναπτύχθηκαν πολλαπλά ωοθυλάκια δεν υπήρχαν διαφορές στον αριθμό ή στην κατανομή του μεγέθους των ωοθυλακίων όπως θα μπορούσε να αναμένεται. Το πρωτόκολλο και τα αποτελέσματα της διέγερσης μόνο των γυναικών που ανέπτυξαν πολλαπλά ωοθυλάκια >10mm (n1=9, n2=10, n3=5) παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 13

Απ' αυτές τις δύο μελέτες συμπεραίνουμε ότι το βασικό ρόλο στην ανάπτυξη πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης τον παίζει η παράταση του παραθύρου της FSH και όχι η δόση της FSH. Παρόλα αυτά αν θέλουμε να προκαλέσουμε ανάπτυξη σε μεγάλο αριθμό ωοθυλακίων (μεγαλύτερο απ' αυτόν που παίρνουμε με τα πρωτόκολλα ήπιας διέγερσης) πρέπει να δώσουμε μεγαλύτερη δόση FSH όπως φαίνεται στην εικόνα από τη γρήγορη αύξηση των ωοθυλακίων 8-10mm μετά από χορήγηση 375iu FSH και να τη διατηρήσουμε για αρκετές μέρες (όπως γίνεται στα κλασσικά πρωτόκολλα). Το πρόβλημα όμως που πρέπει να λύσουμε είναι να η συνεχής ανάπτυξη νέων μικρών ωοθυλακίων τις τελευταίες μέρες της ωοθυλακικής φάσης και να συνεχίσουμε επιλεκτικά τη διέγερση μόνο στα ωοθυλάκια μεγαλύτερου μεγέθους που μπορούν να φτάσουν στο προωοθυλακιωρηκτικό στάδιο κατά την ημέρα της χορήγησης της hCG. Αυτό θα αναλυθεί στο επόμενο κεφάλαιο.

Άλλες μελέτες που έγιναν για να μελετήσουν διαφορετικά πρωτόκολλα διέγερσης όπως τη χορήγηση FSH κάθε 3 μέρες αντί για καθημερινά (Scholtes et al, 2004) ή τη χρήση νέων ισομορφών rFSH με παρατεταμένη δράση (corifoliotropin) (Devroey, Fauser 2009).

### **Γ) Η LH εξαρτώμενη ανάπτυξη από τη μέση της ωοθυλακικής φάσης.**

Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή στη μέση περίπου της ωοθυλακικής φάσης τα κοκκώδη κύτταρα του κυρίαρχου ωοθυλακίου εμφανίζουν υποδοχείς της LH και αυτή αναλαμβάνει τη δράση της αρωματάσης και τη συνέχεια της ανάπτυξης του ωοθυλακίου. Για να διαπιστωθεί αν η LH μπορεί να συνεχίσει τη δράση της εξωγενούς FSH στα πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών η ομάδα του Filicori (Filicori et al, 2002 JCEM) έκανε πρώτη μία μελέτη όπου από τη μέση της ωοθυλακικής φάσης αντικαθιστούσε την FSH με hCG η οποία συνδέεται στους ίδιους υποδοχείς με την LH και έχει παρατεταμένο χρόνο ημιζωής οπότε και μεγαλύτερη διάρκεια δράσης.

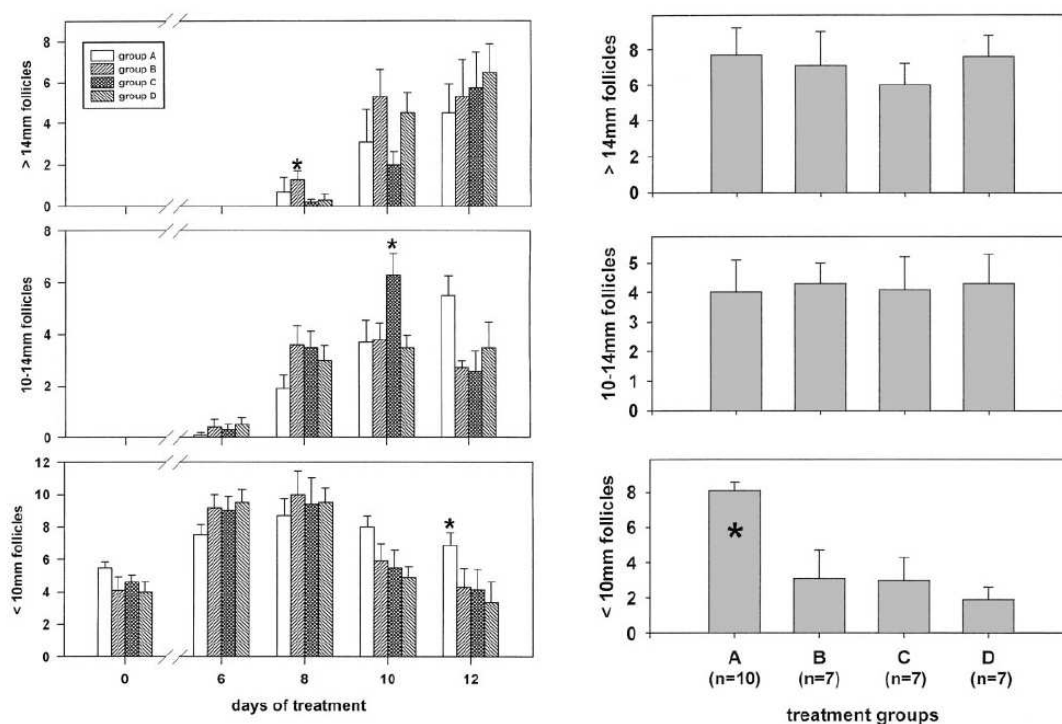
Σ' αυτή τη μελέτη 40 γυναίκες χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες των 10 ατόμων. Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το μακρύ με GnRH αγωνιστή και σε όλες χορηγήθηκαν για 7 μέρες 150iu r-hFSH. Στη συνέχεια στην πρώτη ομάδα (A) χορηγήθηκαν 150 iu r-hFSH μόνο. Στην ομάδα B χορηγήθηκαν 50iu r-hFSH συν 50 iu hCG, στην ομάδα Γ 25 iu r-hFSH συν 100 iu hCG και στην ομάδα Δ 200 iu hCG μόνο όπως φαίνεται στον πίνακα.

		Day 1-7	Day 8 to day of ovulation trigger
Group A	Daily r-hFSH dose (IU)	150	150
	Daily hCG dose (IU)	0	0
Group B	Daily r-hFSH dose (IU)	150	50
	Daily hCG dose (IU)	0	50
Group C	Daily r-hFSH dose (IU)	150	25
	Daily hCG dose (IU)	0	100
Group D	Daily r-hFSH dose (IU)	150	0
	Daily hCG dose (IU)	0	200

Εικόνα 14

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο αριθμός των μεγάλων (>14mm) και μεσαίων ωοθυλακίων (10-14mm) δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων πράγμα που σημαίνει ότι η χορήγηση χαμηλής δόσης hCG μπορεί να συντηρήσει ακόμη και μόνη της την ανάπτυξη από τη μέση προς το τέλος της ωοθυλακικής φάσης. Ακόμη η μελέτη έδειξε ότι ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στην ομάδα A σε σχέση με όλες τις άλλες ομάδες πράγμα που σημαίνει ότι η χορήγηση hCG μπορεί να μειώσει τον αριθμό των μικρών ωοθυλακίων επομένως να οδηγήσει σε καλύτερο συγχρονισμό των προωοθυλακιωρρηκτικών ωοθυλακίων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην εικόνα.

Αυτή η μελέτη οδήγησε τον ίδιο (Filicori, Cognigni 2005) και αρκετούς άλλους ερευνητές (Mendes et al, 2005; Koichi et al, 2006; Serafini et al, 2006; Gomez et al, 2007; Berkkanoglu et al 2007, Dzik et al, 2006) να κάνουν προοπτικές διπλές τυχαιοποιημένες μελέτες για να επιβεβαιώσουν την παραπάνω διαπίστωση. Αυτές παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω όπως και κάποια σημαντικά στοιχεία από μία μετανάλυση που περιλαμβάνει όλες αυτές τις μελέτες (Kosmas et al, 2009).



Εικόνα 15

Στη μελέτη του Filicori (2005) 48 υπογόνιμες γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες και η ομάδα A διεγέρθηκε σε όλη τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης με r-FSH ή hMG και η δεύτερη ομάδα αρχικά παρόμοια με την A και στη συνέχεια η FSH αντικαταστάθηκε με 200 iu hCG. Τα αποτελέσματα όσον αφορά το μέγεθος των ωοθυλακίων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Number of preovulatory follicles in group A and B patients.			
Ovarian follicles	Group A	Group B	
	Preovulatory	Day of recombinant FSH/hMG discontinuation	Preovulatory
Small (<10 mm)	3.2 ± 0.5	4.7 ± 0.7	1.9 ± 0.5 <sup>a,b</sup>
Intermediate (10–14 mm)	5.4 ± 0.6	9.7 ± 0.9 <sup>a</sup>	7.2 ± 0.8
Large (>14 mm)	11.4 ± 1.2	4.8 ± 0.8	12.2 ± 0.9 <sup>b</sup>

Note: Data are expressed as mean ± standard error. Pelvic ultrasound was performed before preovulatory hCG administration.  
<sup>a</sup> P<.05 vs. group A.  
<sup>b</sup> P<.05 vs. day of recombinant FSH/hMG discontinuation.

Filicori. Low-dose hCG in COS. Fertil Steril 2005

Εικόνα 16

Σ' αυτόν τον πίνακα βλέπουμε αρχικά ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των μικρών ωοθυλακίων στην προωοθυλακιόρρηκτηκή φάση μεταξύ των δύο ομάδων. Βλέπουμε όμως ακόμη ότι στην ομάδα B ο αριθμός των μεγάλων ωαρίων είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης σε σχέση με τον αριθμό την ημέρα της διακοπής της FSH πράγμα που σημαίνει ότι η hCG αρκεί για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Τέλος αυτό που κάνει εντύπωση είναι ότι ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων πριν την ωορρηξία είναι σημαντικά μικρότερος ακόμη και από τον αριθμό των μικρών ωοθυλακίων τη μέρα της διακοπής της FSH οπότε συμπεραίνουμε ότι η hCG αντίθετα με την FSH δε διεγείρει νέα ωοθυλάκια στο τέλος του κύκλου αλλά αντίθετα προκαλεί την υποστροφή τους. Αυτό που αξίζει ακόμη να σημειωθεί είναι ότι τα ποσοστά καλής ποιότητας εμβρύων και επίτευξης κύησης είναι παρόμοια και στις δύο ομάδες και ότι κανένας ασθενής δεν ανέπτυξε σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών.

Στη μελέτη του Koichi συγκρίθηκαν 3 ομάδες όπου στην πρώτη (n=66) η διέγερση έγινε με βάση το πρωτόκολλο του αγωνιστή, στη δεύτερη (n=63) με του ανταγωνιστή χωρίς προσθήκη hCG και στην τρίτη (n=63) με του ανταγωνιστή με την προσθήκη χαμηλής δόσης hCG. Τα αποτελέσματα που αφορούν τη κατανομή του μεγέθους του ωοθυλακίου συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Variable	LP	NhCGP	hCGP
Large follicle	8.3 ± 3.8	6.9 ± 3.8	6.9 ± 4.3
Medium follicle	11.1 ± 7.2	8.2 ± 6.5	10.1 ± 6.8
Small follicle <sup>‡</sup>	5.0 ± 4.1	5.2 ± 4.6	3.2 ± 2.9

Note. *P* = 0.001 by *t*-test, for comparison of LP and hCGP;  
*P* = 0.001 by *t*-test, for comparison of hCGP and NhCGP.  
<sup>‡</sup>*P* = 0.0079 by *F*-test for one-way ANOVA.

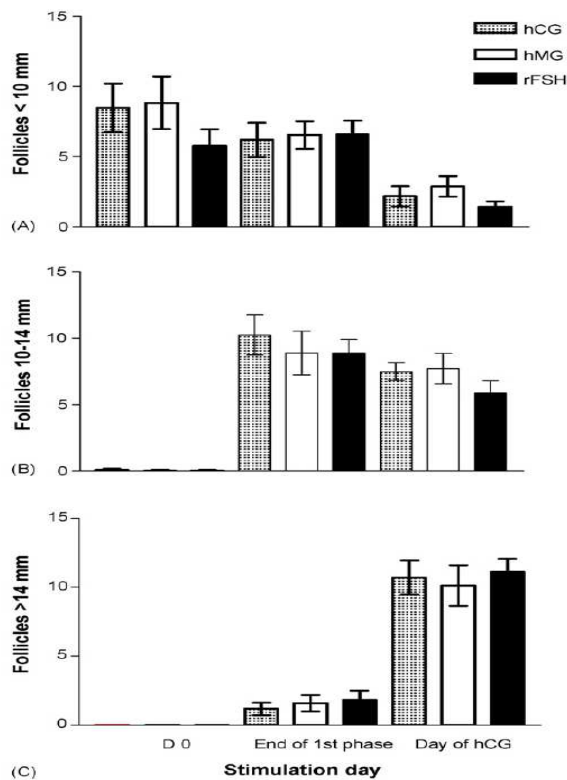
Εικόνα 17

Όπως φαίνεται κι εδώ ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων στην ομάδα της hCG είναι στατιστικά μικρότερος στην ομάδα της hCG. Ακόμη σ' αυτή τη μελέτη τα ποσοστά γονιμοποίησης, κύησης και συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών είναι ίδια αλλά στην ομάδα της hCG το ποσοστό ωρίμανσης των ωαρίων ήταν σημαντικά ψηλότερο στην σε σχέση με την ομάδα του ανταγωνιστή και των πολύ καλών εμβρύων την τρίτη μέρα είναι σημαντικά ψηλότερο από την ομάδα του αγωνιστή παρόλο που συλλέχθηκαν λιγότερα ωάρια σε σχέση και με τις δύο άλλες ομάδες. (Τα στοιχεία δεν περιλαμβάνονται σ' αυτή την εργασία).

Στη μελέτη του Gomes (2007) 51 γυναίκες χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες των 17 και η μελέτη περιελάμβανε δύο φάσεις. Στην πρώτη φάση χορηγήθηκε σε όλες τις γυναίκες r-FSH (Puregon) μέχρι τα μεγαλύτερα ωοθυλάκια να φτάσουν τα 12-13mm. Έπειτα στην πρώτη ομάδα η διέγερση συνεχίστηκε με 200 iu hCG, στη δεύτερη με 225 iv hMG (Menogon) και στην τρίτη με 200 iu r FSH έως τη ανάπτυξη ωοθυλακίων 18-19mm.

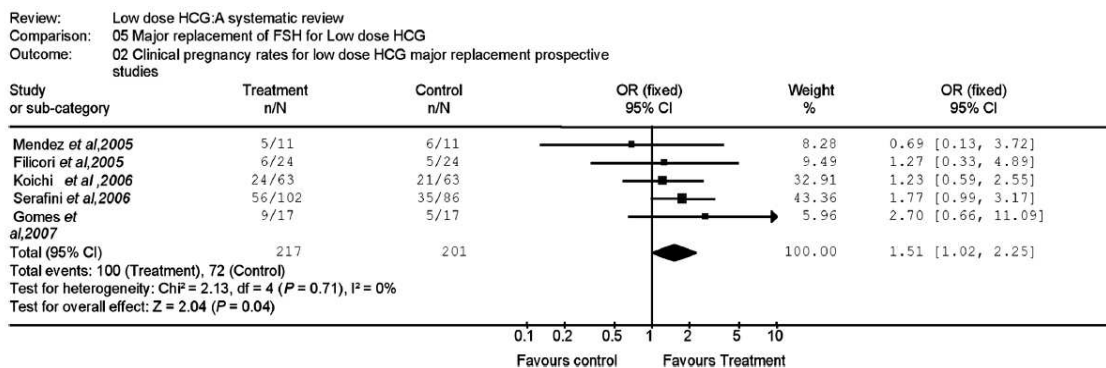
Σ' αυτή τη μελέτη δεν επιβεβαιώνεται ότι ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων προωοθυλακιορρηκτικά είναι μικρότερος στη ομάδα της hCG. Παρόλα αυτά επιβεβαιώνεται ότι η συνέχιση της διέγερσης με hCG έχει τα ίδια αποτελέσματα με την διέγερση με rFSH ή hMG. Από το παρακάτω διάγραμμα βγάζουμε το συμπέρασμα ότι όταν άρχισε η δεύτερη φάση με τη χορήγηση hCG περίπου 9 ωοθυλάκια είχαν μέγεθος 10-14mm. Μετά την hCG περισσότερα από 10 ωοθυλάκια

ήταν μεγαλύτερα από 14mm άρα και πιθανότατα ώριμα. Οπότε όταν θέλουμε να συλλέξουμε περίπου 10 ώριμα ωοθυλάκια το κριτήριο του να αρχίσουμε την hCG όταν έχουμε περίπου 10 ωοθυλάκια πάνω από 10mm είναι αποτελεσματικό.



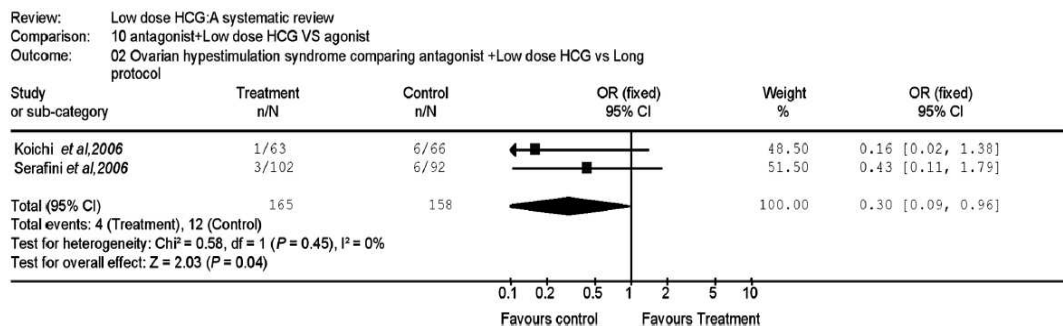
Εικόνα 18

Τα ποσοστά κύησης και πρόκλησης συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών των παραπάνω μελετών συνοψίζονται σε μία μετανάλυση (Kosmas et al, 2009) Σύμφωνα με τα παρακάτω στοιχεία τα ποσοστά επίτευξης κλινικής κύησης υπερτερούν σημαντικά όταν χορηγείται hCG



Εικόνα 19

Παρομοίως και τα ποσοστά συνδρόμου υπερδιέγερσης ωθηκών τείνουν να είναι μικρότερα στις γυναίκες που χορηγείται hCG. Παρόλα αυτά και στις δύο περιπτώσεις τα όρια του odds ratio είναι οριακά πάνω ή κάτω από τη μονάδα αντίστοιχα και καμία μελέτη ξεχωριστά δε δίνει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



Εικόνα 20



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### Ιδανικό πρωτόκολλο

- A) Όλα τα ωοθυλάκια να ξεκινούν από το ίδιο ‘σημείο εκκίνησης’ στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης.
- B) Με ήπια διέγερση να παράγονται μέχρι την 7-8η μέρα 2-3 ωοθυλάκια μεγαλύτερα των 10mm
- Γ) Η διέγερση να συνεχίζεται με χαμηλές δόσεις hCG (200iu) όλα τα ωοθυλάκια φτάσουν ταυτόχρονα σε μέγεθος μεγαλύτερο από 18mm και σ’ εκείνο το σημείο να χορηγούμε την hCG
- Δ) Όλα τα ωοθυλάκια να δίνουν ώριμα ωάρια και στο εργαστήριο να παράγονται 2 καλά έμβρυα για μεταφορά

### Προβλήματα

- A) Η διέγερση με μικρές δόσεις FSH (75iu) στην αρχή της ωοθυλακικής πολλές φορές δεν οδηγεί σε πολλαπλή ωοθυλακική ωρίμανση αλλά στην ανάπτυξη ενός μόνο ωοθυλακίου.
- B) Οπότε η επιλογή για χαμηλό αριθμό ωοθυλακίων(2-3) >10 mm την 7-8η μέρα είναι ρίσκο που μπορεί να μην οδηγήσει στη συλλογή έστω 2-3 ώριμων ωοθυλακίων που να δώσουν καλά έμβρυα για μεταφορά.
- Γ) Γι’ αυτό για την διατήρηση υψηλών ποσοστών κύησης ο στόχος πρέπει να είναι τα 5-6 ωοθυλάκια >10mm την 7-8η μέρα ώστε τουλάχιστον 3-4 να είναι ώριμα τη μέρα της hCG και να παράγουμε τουλάχιστον 2-3 καλά έμβρυα στο εργαστήριο.

### Προτεινόμενο πρωτόκολλο

Το πρώτο πράγμα που πρέπει να έχουμε στο μυαλό μας όταν επιλέγουμε ένα πρωτόκολλο διέγερσης είναι το πόσα ωοθυλάκια θέλουμε να πάρουμε. (Αυτό εξαρτάται άμεσα από τις δυνατότητες του εργαστηρίου και το πόσα έμβρυα θέλουμε να μεταφέρουμε). Ο στόχος στο δικό μου πρωτόκολλο είναι περίπου τα 5-6 ωοθυλάκια ώστε να αυξηθούν οι πιθανότητες για 2-3 καλής ποιότητας έμβρυα χωρίς να υπάρχει περίσσεια αυτών. Με βάση τα τρία σημεία κλειδιά στη φυσιολογία και τις μελέτες που αναπτύχθηκαν παραπάνω το πρωτόκολλο για τον ιδανικό συγχρονισμό και πιθανώς καλύτερα ποσοστά κύησης θα πρέπει να αποτελείται από τρία βήματα.

- 1) Για τον καλύτερο συγχρονισμό στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης θα πρέπει να χρησιμοποιείται το μακρύ πρωτόκολλο GnRH αγωνιστή ή πρωτόκολλο με GnRH ανταγωνιστή αφού πρώτα έχει χορηγηθεί στο τέλος της ωχρινικής φάσης του προηγούμενου κύκλου οιστραδιόλη. Μέχρι στιγμής δεν έχει γίνει συστηματική μελέτη που να συγκρίνει αυτά τα δύο πρωτόκολλα και είναι μία πρόταση για περαιτέρω μελέτη.
- 2) Για τη διέγερση της ανάπτυξης στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης θα πρέπει να χρησιμοποιήσουμε δόσεις FSH αρχικά 150 iu και να το ρυθμίσουμε ανάλογα με την ανταπόκριση της γυναίκας. Αν στο πρώτο βήμα επιλέξουμε αγωνιστή η διέγερση γίνεται όπως στα κλασικά πρωτόκολλα. Αν επιλέξουμε ανταγωνιστή η χορήγηση της FSH μπορεί να αρχίσει την 5<sup>η</sup> μέρα. Αυτό θα πρέπει να συνεχιστεί έως ότου 5-6 ωοθυλάκια ξεπεράσουν τα 10mm.
- 3) Στο σημείο αυτό η διέγερση θα πρέπει να συνεχιστεί με 200 iu hCG μέχρι να φτάσουν 2-3 ωοθυλάκια στα 18-19mm οπότε να χορηγήσουμε 5000 iu hCG για την πρόκληση της ωοθυλακιορρηξίας. Αν όλα λειτουργούσαν ιδανικά αυτά 5-6 ωοθυλάκια θα έφταναν ταυτόχρονα στο προωθυλακιορρηκτικό στάδιο και ο αριθμός των μικρών ωοθυλακίων θα ήταν πολύ μικρός .

### **Το μέλλον και ο ρόλος του συγχρονισμού.**

Από τη στιγμή που η ωρίμανση των ωαρίων σε συνθήκες εργαστηρίου (in vitro maturation) είναι ακόμη σε αρχικά στάδια ο στόχος όλων των πρωτοκόλλων διέγερσης είναι η συλλογή ώριμων ωαρίων ικανών για γονιμοποίηση. Η τάση τουλάχιστον στις Ευρωπαϊκές χώρες είναι η μεταφορά το πολύ δύο εμβρύων με σταδιακή μείωση προς το ένα ωάριο. Ταυτόχρονα όμως οι τεχνικές κατάψυξης έχουν βελτιωθεί με αποτέλεσμα τα καλής ποιότητας έμβρυα που περισσεύουν να μην πάνε χαμένα αλλά να συντηρούνται για μελλοντική μεταφορά χωρίς να είναι απαραίτητη ξανά η διέγερση των ωοθηκών της γυναίκας. Ακόμη ο στόχος για τη μείωση και ίσως για την εξαφάνιση του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών μας οδηγεί σε ηπιότερα πρωτόκολλα διέγερσης. Σ' αυτό σημαντικό ρόλο παίζει ο συγχρονισμός της πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης αφού θα μπορούσε να βοηθήσει ώστε με ηπιότερα πρωτόκολλα διέγερσης να παράγουμε το μεγαλύτερο αριθμό ώριμων ωοθυλακίων και άρα μεγαλύτερο αριθμό ποιοτικών εμβρύων. Τέλος ένας από τους στόχους των μονάδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής διεθνώς είναι να μειώσουν το κόστος της θεραπείας ώστε να γίνει πιο προσιτή σε όλους. Ο συγχρονισμός θα μπορούσε να συμβάλει σε αυτό μέσω της μείωσης των δόσεων της εξωγενούς χορήγησης γοναδοτροφινών που σπαταλούνται για την ανάπτυξη ωοθυλακίων που δε θα προλάβουν να φτάσουν στο επιθυμητό επίπεδο ωρίμανσης.

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Aboulghar MA, Mansour RT. Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update* 2003;9:275–289.
- Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1963;158:417–433.
- Berkkanoglu M, Isikoglu M, Aydin D et al. 2007 Clinical effects of ovulation induction with recombinant follicle-stimulating hormone supplemented with recombinant luteinizing hormone or low-dose recombinant human chorionic gonadotropin in the midfollicular phase in microdose cycles in poor responders. *Fertility and Sterility* 3, 665–669.
- Brown JB 1978 Pituitary control of ovarian function: concepts derived from gonadotrophin therapy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 18:47–54
- Chikazawa K, Araki S, Tamada T 1986 Morphological and endocrinological studies on follicular development during the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 62:305–313
- De Jong D, Macklon NS, Fauser BC 2000 A pilot study involving minimal ovarian stimulation for in vitro fertilization: extending the “follicle-stimulating hormone window” combined with the gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix. *Fertil Steril* 73: 1051–1054
- Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update* 2002;8:559–577
- Devroey P, Boostanfar R, Koper NP, Mannaerts BM, Ijzerman-Boon PC, Fauser BC; ENGAGE Investigators A double-blind, non-inferiority RCT comparing corifollitropin alfa and recombinant FSH during the first seven days of ovarian stimulation using a GnRH antagonist protocol. *Hum Reprod.* 2009 Dec;24(12):3063-72. Epub 2009 Aug 14.
- Dorrington, J.H. and Armstrong, D.T. (1979) Effects of FSH on gonadal functions. *Recent Prog. Horm. Res.* 35, 301–342
- Dzik A, Freitas GC, De Pauwn K et al. 2006 Efficacy of low-dose HCG alone following Recombinant FSH for controlled ovarian stimulation. *Fertility and Sterility* 3(suppl. 1), S427
- Fauser BC, Donderwinkel P, Schoot DC 1993 The step-down principle in gonadotrophin treatment and the role of GnRH analogues. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 7:309–330
- Fauser BCJM 1994 Step down FSH regimens in PCOS. In: Filicori M, Flamigni C(eds) *Ovulation Induction: Basic Science and Clinical Advances*. Excerpta Medica International Congress Series, 1064. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp 153–162
- Fauser BC, Van Heusden AM 1997 Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences. *Endocr Rev* 18:71–106

- Fauser BC, Devroey P, Yen SS, Gosden R, Crowley Jr WF, Baird DT, Bouchard P 1999 Minimal ovarian stimulation for IVF: appraisal of potential benefits and drawbacks. *Hum Reprod* 14:2681–2686
- Fanchin R, Cunha-Filho JS, Schonäuer LM, Kadoch IJ, Cohen-Bacrie P, Frydman R. 2003a Coordination of early antral follicles by luteal estradiol administration provides a basis for alternative controlled ovarian hyperstimulation regimens. *Fertil Steril* 79:316–21.
- Fanchin R, Salomon L, Castelo-Branco A, Olivennes F, Frydman N, Frydman R. 2003b Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. *Hum Reprod*.18:2698–703
- Fanchin R, Castelo Branco A, Kadoch IJ, Hosny G, Bagirova M, Frydman R Premenstrual administration of gonadotropin-releasing hormone antagonist coordinates early antral follicle sizes and sets up the basis for an innovative concept of controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril*. 2004 Jun;81(6):1554-9
- Fanchin R, Schonäuer LM, Cunha-Filho JS, Méndez Lozano DH, Frydman R Coordination of antral follicle growth: basis for innovative concepts of controlled ovarian hyperstimulation. *Semin Reprod Med*. 2005 Nov;23(4):354-62
- Fanchin R, Méndez Lozano DH, Schonäuer LM, Cunha-Filho JS, Frydman R.Hormonal manipulations in the luteal phase to coordinate subsequent antral follicle growth during ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2005 Jun;10(6):721-8. Review.
- Filicori M.The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. *Fertil Steril*. 1999 Mar;71(3):405-14. Review.
- Filicori M, Cognigni GE, Gamberini E et al. 2005a Efficacy of lowdose human chorionic gonadotropin alone to complete controlled ovarian stimulation. *Fertility and Sterility* 2, 394–401.
- Filicori M, Cognigni GE, Tabarelli C et al. 2002 Stimulation and growth of antral ovarian follicles by selective LH activity administration in women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 3, 1156–1161.
- Filicori M, Cognigni GE, Pocognoli P, Ciampaglia W, Bernardi S Current concepts and novel applications of LH activity in ovarian stimulation. *Trends Endocrinol Metab*. 2003 Aug;14(6):267-73. Review.
- Filicori M, Cognigni GE, Samara A, Melappioni S, Perri T, Cantelli B, Parmegiani L, Pelusi G, DeAloysio D The use of LH activity to drive folliculogenesis: exploring uncharted territories in ovulation induction..*Hum Reprod Update*. 2002 Nov-Dec;8(6):543-57. Review
- Hall JE, Schoenfeld DA, Martin KA, Crowley WF 1992 Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion and folliclestimulating hormone dynamics during the luteal-follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 74:600–607

- Gomes MK, Vieira CS, Moura MD et al. 2007 Controlled ovarian stimulation with exclusive FSH followed by stimulation with hCG alone, FSH alone or hMG. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology* 1, 99–106.
- Gougeon A 1996 Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 17:121–155
- Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP, McNeilly AS. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1401–1405.
- Hall JE, Schoenfeld DA, Martin KA, Crowley WF Jr. Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion and follicle-stimulating hormone dynamics during the luteal-follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 Mar;74(3):600-7.
- Hillier SG 2001 Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 179, 39–46.
- Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994;9:188–191.
- Hodgen GD. The dominant ovarian follicle. *Fertil Steril* 1982;38:281–300.
- Hohmann FP, Laven JS, de Jong FH, Eijkemans MJ, Fauser BC. Low-dose exogenous FSH initiated during the early, mid or late follicular phase can induce multiple dominant follicle development. *Hum Reprod* 2001;16:846–854.
- Koichi K, Yukiko N, Shima K et al. 2006 Efficacy of low-dose human chorionic gonadotropin (hCG) in a GnRH antagonist protocol. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 5, 223–228.
- Kosmas IP, Zikopoulos K, Georgiou I, Paraskevaidis E, Blockeel C, Tournaye H, Van Der Elst J, Devroey P Low-dose HCG may improve pregnancy rates and lower OHSS in antagonist cycles: a meta-analysis.. *Reprod Biomed Online.* 2009 Nov;19(5):619-30.
- Le Nestour E, Marraoui J, Lahlou N, Roger M, de Ziegler D, Bouchard P 1993 Role of estradiol in the rise in follicle-stimulating hormone levels during the luteal-follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 77:439–442
- Lolis DE, Tsolas O, Messinis IE 1995 The follicle-stimulating hormone threshold level for follicle maturation in superovulated cycles. *Fertil Steril* 63:1272–1277
- Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev.* 2006 Apr;27(2):170-207. Epub 2006 Jan 24. Review
- McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev* 2000;21:200–214.

- McNatty KP, Hillier SG, van den Boogaard AM, Trimbos-Kemper TC, Reichert LEJ, Van Hall EV 1983 Follicular development during the luteal phase of the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 56:1022–1031
- Mendes IR, Kotecki JA, Caldeira G et al. 2005 Will the administration of low-dose hCG for ovulation induction in association with bromocriptine aid in the prevention of OHSS? *Fertility and Sterility* 84(suppl. 1), S313.
- Messinis IE, Templeton AA 1990 The importance of follicle-stimulating hormone increase for folliculogenesis. *Hum Reprod* 5:153–156
- Messinis IE. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. *Hum Reprod Update*. 2006 Sep-Oct;12(5):557-71. Epub 2006 May 3. Review.
- Oehninger S, Hodgen GD 1990 Induction of ovulation for assisted reproduction programmes. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 4:541–573
- Pache TD, Wladimiroff JW, de Jong FH, Hop WC, Fauser BC. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril* 1990;54:638–642.
- Roseff SJ, Bangah ML, Kettel LM, Vale W, Rivier J, Burger HG, Yen SS 1989 Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 69:1033–1039
- Schipper I, Hop WC, Fauser BC. The follicle-stimulating hormone (FSH) threshold/window concept examined by different interventions with exogenous FSH during the follicular phase of the normal menstrual cycle: duration, rather than magnitude, of FSH increase affects follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1292–1298.
- Scholtes MC, Schnittert B, van Hoogstraten D, Verhoeven HC, Zrener A, Warne DW A comparison of 3-day and daily follicle-stimulating hormone injections on stimulation days 1-6 in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril*. 2004 Apr;81(4):996-1001.
- Schoot DC, Coelingh Bennink HJ, Mannaerts BM, Lamberts SW, Bouchard P, Fauser BC. Human recombinant follicle-stimulating hormone induces growth of preovulatory follicles without concomitant increase in androgen and estrogen biosynthesis in a woman with isolated gonadotropin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1471–1473.
- Serafini P, Yadid I, Motta EL, Alegretti JR, Fioravanti J, Coslovsky M. Ovarian stimulation with daily late follicular phase administration of low-dose human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization: a prospective, randomized trial. *Fertil Steril* 2006;86:830–838.
- Scheele F, Schoemaker J The role of follicle-stimulating hormone in the selection of follicles in human ovaries: a survey of the literature and a proposed model. *Gynecol Endocrinol*. 1996 Feb;10(1):55-66. Review

- Shima, K. et al. (1987) Gonadotropin binding sites in human ovarian follicles and corpora lutea during the menstrual cycle. *Obstet. Gynecol.* 69, 800–806
- Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest* 1998;101:2622–2629.
- Verberg MF, Macklon NS, Nargund G, Frydman R, Devroey P, Broekmans FJ, Fauser BC. Mild ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod Update.* 2009 Jan-Feb;15(1):13-29. Review.
- Welt CK, Martin KA, Taylor AE, Lambert-Messerlian GM, Crowley WF Jr, Smith JA, Schoenfeld DA, Hall JE Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Aug;82(8):2645-52.
- Zelevnik AJ, Hutchison JS, Schuler HM. Interference with the gonadotropin-suppressing actions of estradiol in macaques overrides the selection of a single preovulatory follicle. *Endocrinology* 1985; 117:991–999.
- Zelevnik AJ, Hillier SG 1984 The role of gonadotropins in the selection of the preovulatory follicle. *Clin Obstet Gynecol* 27:927–940