



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Αναπληρωτής Καθηγητής **ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΔΑΠΟΝΤΕ**

Διδακτορική Διατριβή

**« Ο ρόλος ωοθηκικών παραγόντων στην έκκριση των
γοναδοτροφινών της υπόφυσης »**

ΥΠΟ

ΑΠΟΣΤΟΛΟΥ ΙΩΑΝΝΟΥ ΖΑΒΟΥ

ΙΑΤΡΟΥ

ΜΑΙΕΥΤΗΡΑ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΥ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα 2016

© 2016 Απόστολος Ζαβός

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Τριμελής Επιτροπή:

1^{ος} Εξεταστής: Ιωάννης Ε. Μεσσήνης
(Επιβλέπων) Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή
Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

2^{ος} Εξεταστής: Αθανάσιος Καλλιτσάρης
Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής: Κωνσταντίνος Νταφόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Επταμελής Επιτροπή

Τα μέλη της τριμελούς επιτροπής συμπληρούμενα από τα παρακάτω μέλη ΔΕΠ:

4^{ος} Εξεταστής Γεώργιος Συρογιαννόπουλος
Καθηγητής Παιδιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών
Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

5^{ος} Εξεταστής Αλέξανδρος Δαπόντε
Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

6^{ος} Εξεταστής Αλεξάνδρα Μπαριώτα
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας – Ενδοκρινολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

7^{ος} Εξεταστής Χριστίνα Μεσσήνη
Λέκτορας Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή
Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ – ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Αναμφισβήτητα ο τομέας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι από τους χώρους που γνώρισαν μεγάλες αλλαγές το διάστημα των τελευταίων δεκαετιών. Από το 1978, οπότε και γεννήθηκε το πρώτο “παιδί του σωλήνα” μέχρι σήμερα, το χρονικό διάστημα δεν είναι μεγάλο, ωστόσο η πρόοδος που έχει επιτευχθεί είναι τεράστια. Ανάλογα εκτενής είναι και η επιστημονική παραγωγή εργασιών, οι οποίες συμπεριλαμβάνουν πλέον όλους τους τομείς και τις τεχνικές, που αναπτύχθηκαν στο διάστημα αυτό, ενώ μεγάλο βάρος έχει δοθεί και στη διερεύνηση φαρμακευτικών ουσιών απαραίτητων για την επίτευξη της διαδικασίας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Ένας σταθερός, ωστόσο και ερευνητικά πάντοτε επίκαιρος τομέας είναι αυτός, που διερευνά τα πολύπλοκα και ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά του φυσιολογικού κύκλου των γυναικών. Υπάρχουν ακόμη αρκετά σημεία των μηχανισμών του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου που δεν έχουν διευκρινιστεί. Οι νέες πρακτικές στον τομέα της εξωσωματικής γονιμοποίησης έχουν τη βάση τους στη φυσιολογία του γεννητικού κύκλου. Η διερεύνηση και η αποσαφήνιση λοιπόν των μηχανισμών, που εμπλέκονται στην λειτουργία του υποθάλαμο - υπόφυσιο – ωθηθικού άξονα είναι καθοριστικής σημασίας για τη συνολική κατανόηση των φαινομένων και πολύ περισσότερο για την καλύτερη εφαρμογή πρωτοκόλλων ωθηθικής διέγερσης.

Από την πρώτη φορά, που ως φοιτητής άκουσα για την ύπαρξη και τα χαρακτηριστικά του φυσιολογικού κύκλου, έως και σήμερα, που έχω την τιμή να περατώσω αυτή τη διδακτορική διατριβή, θεωρώ τιμή και τύχη το γεγονός ότι καθοδηγητής και δάσκαλός μου ήταν ένας από τους πρωτοπόρους στον τομέα αυτό ο καθηγητής μου και Διευθυντής της Μαιευτικής και Γυναικολογικής κλινική κατά το διάστημα που πραγματοποιήθηκε η διατριβή κ. Ιωάννης Μεσσήνης. Η παρουσία του ήταν καθοριστική σε πολλές πτυχές της επιστημονικής, επαγγελματικής και όχι μόνο ζωής μου. Τον ευχαριστώ από καρδιάς χωρίς την στήριξή του η παρούσα διδακτορική διατριβή δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί. Είναι εξάλλου ο πλέον ειδικός να εξηγήσει τους μηχανισμούς του φυσιολογικού κύκλου και είναι εξαιρετικά σημαντικό που με την

παρουσία της, η διδακτορική αυτή διατριβή, βοηθά στο να διευκρινιστούν περαιτέρω ορισμένα από τα χαρακτηριστικά του γεννητικού κύκλου.

Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης διατριβής είναι ότι αποτελεί κλινική έρευνα με υλικό, γυναίκες, οι οποίες δέχτηκαν να υποβληθούν σε συνεχείς και επαναλαμβανόμενες αιμοληψίες. Η κάθε μία από αυτές ήταν απαραίτητη και σημαντική μέχρι την επίτευξη του τελικού αυτού αποτελέσματος. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ιατρούς της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας κ.κ. Α. Καλλιτσάρη, Α. Δαπόντε, Κ. Νταφόπουλο, Α. Γκαρά, Λ. Παπαστεριοπούλου, Ι. Μαδεμτζή, Γ. Λιάλιο, Χ. Σκέντου και Π. Βανακάρα, οι οποίοι συμμετείχαν στις χειρουργικές επεμβάσεις και στην περίθαλψη των ασθενών οι οποίοι μετεγχειρητικά αποτέλεσαν το υλικό της παρούσας μελέτης. Η συμμετοχή της κ. Βανακάρα ήταν ιδιαίτερα σημαντική και στο μέρος της εργασίας με τον ανταγωνιστή GnRH. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τους αναισθησιολόγους εκείνους, που χωρίς κανένα προσωπικό όφελος βοήθησαν να πραγματοποιηθούν, τη σωστή χρονική στιγμή, οι χειρουργικές επεμβάσεις. Θα ήταν παράληψη να μην ευχαριστήσω τις Μαίες και τις Νοσηλεύτριες της Κλινικής μας για τη βοήθεια που προσέφεραν, τις γραμματείς της Κλινικής κ.κ. Καρυώτου και Κόκκα καθώς και την μετέπειτα συνεργάτιδα κ. Τζιούστι για την πολύτιμη βοήθειά της.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τους γονείς μου για τη φροντίδα και την αγάπη τους. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη γυναίκα μου Χριστίνα Βερυκούκη όχι μόνο για την ατέλειωτη υπομονή και στήριξη την οποία έδειξε και δείχνει αλλά και για την ενεργή συμμετοχή της ιδιαίτερα στο μέρος της εργασίας με τον ανταγωνιστή GnRH.

Η παρούσα διατριβή αποτέλεσε υλικό για δύο δημοσιεύσεις σε περιοδικά διεθνούς κύρους και μια παρουσίαση σε διεθνές συνέδριο.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι αφιερωμένη στα παιδιά μου Γιάννη και Αλεξία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....	7
---------------	---

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ο φυσιολογικός γεννητικός κύκλος.....	10
1.1 Ανατομικά στοιχεία (υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες).....	11
1.2 Οι ορμονικές μεταβολές του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, η εξήγηση τους και η συσχέτιση τους με τις ωοθηκικές μεταβολές	15
1.3 Το μεσοκύκλιο κύμα της LH	20
2. Η εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροφινών (GnRH).....	23
2.1 Αγωνιστές GnRH.....	25
2.2 Ανταγωνιστές της GnRH.....	29
3. Η επίδραση των ωοθηκικών ορμονών στους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορύθμισης του υποθάλαμο-υποφυσιακού-ωοθηκικού άξονα στις διάφορες φάσεις του κύκλου	34
3.1 Διακυκλική φάση	36
3.2 Ωοθυλακική φάση	38

3.2.α Η ενεργοποίηση του αρνητικού μηχανισμού, λόγω δράσης ωθητικών στεροειδών.	38
3.2.β Ο ρόλος των μη στεροειδικών ορμονών στους αρνητικούς μηχανισμούς.	39
3.3 Μεσοκύκλιος περίοδος	41
3.3.α Η δράση των ωθητικών στεροειδών και η έναρξη του μεσοκύκλιου κύματος της LH.	42
3.3.β Το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο, ο ρόλος του στη δημιουργία του κύματος της LH και οι παράγοντες που το επηρεάζουν	45
3.3.γ Ο ρόλος του GnSAF στην άμβλυση του κύματος της LH	46
3.3.δ Τερματισμός του κύματος της LH	49
3.4 Ωχρινική φάση, επικράτηση του αρνητικού μηχανισμού	51

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. Σκοπός της μελέτης.....	52
5. Υλικό και μέθοδος.....	53
6. Αποτελέσματα.....	63
7. Συζήτηση.	79
7.1 Δράσεις προγεστερόνης στον θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης και στο κύμα της LH.	79
7.2 Η αδυναμία του ανταγωνιστή ganirelix να αποτρέψει την εμφάνιση κύματος της LH.	84
8. Συμπεράσματα.....	87
9. Περίληψη	88
10. Summary	91
11. Βιβλιογραφία.....	94
12. Βιογραφικό	121

Εισαγωγή

Ο εμμηνορρυσιακός γεννητικός κύκλος δηλώνει ένα σύνολο ορμονικών μεταβολών κυκλικά επαναλαμβανόμενων. Η βάση για τη λειτουργία αυτή είναι ο άξονας υποθαλάμου, υπόφυσης και ωθηκών. Οι σχέσεις μεταξύ ωθηκών και υποθάλαμο-υπόφυσιακού άξονα καθορίζονται από τους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορύθμισης. Χάρη στην ύπαρξη των μηχανισμών αλληλορρύθμισης, επιτυγχάνεται η αρμονική λειτουργία του άξονα, που οδηγεί στην εμφάνιση των φυσιολογικών ορμονολογικών φαινομένων, με αποτέλεσμα την ωοθυλακιορρηξία στις γυναίκες.

Ένα σταθερό και απαραίτητο φαινόμενο για την επίτευξη της ωοθυλακιορρηξίας είναι η μεσοκύκλια αιχμή της LH. Η στάθμη της LH στο πρώτο ήμισυ της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου είναι χαμηλή, ανερχόμενη στη συνέχεια σταθερά αλλά πολύ βραδέως. Η προοδευτικά αυξανόμενη LH εμφανίζει στη συνέχεια απότομη αύξηση (αιχμή- peak) μία περίπου ημέρα μετά την αιχμή των οιστρογόνων. Σύγχρονη αλλά μικρότερου μεγέθους αιχμή με την LH εμφανίζει και η FSH. Η εκκριτική αυτή αιχμή των γοναδοτροφινών, που συμβαίνει στο μέσον περίπου του κύκλου, λέγεται μεσοκύκλιο κύμα της LH (LH surge) ή μεσοκύκλιο κύμα των γοναδοτροφινών. Η διάρκεια του κύματος αυτού στο φυσιολογικό κύκλο είναι 48-72 ώρες. Και οι δύο γοναδοτροφίνες, μετά τη μεσοκύκλια εκκριτική τους αιχμή, ελαττώνονται και διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα καθ' όλη τη δεύτερη φάση του κύκλου.

Έχει βρεθεί ότι η οιστραδιόλη παίζει καθοριστικό ρυθμιστικό ρόλο στην εκδήλωση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των ωθηκών και την έκκριση της LH και της FSH (Hoff et al. 1983, Liu et al. 1983). Ωστόσο και η προγεστερόνη μπορεί να πυροδοτήσει το θετικό μηχανισμό αλλά αυτό έχει τεκμηριωθεί μόνο παρουσία οιστρογόνων. (Leyendecker et al. 1976, March et al. 1981). Έχει βρεθεί ότι προηγούμενη πριμοδότηση με συγκεντρώσεις οιστραδιόλης όψιμης ωοθυλακικής φάσης είναι απαραίτητη για τη δράση της προγεστερόνης (Chang et al. 1978, March et al. 1979). Η προγεστερόνη υπό αυτές τις προϋποθέσεις είναι σε θέση τόσο να προάγει την έναρξη όσο και να αυξήσει το πλάτος του προκαλούμενου από οιστρογόνα κύματος της LH (Liu et al. 1983).

Έως τώρα έχουν πραγματοποιηθεί πειράματα τόσο κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής

φάσης του φυσιολογικού κύκλου όσο και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Chang et al. 1978, Liu et al. 1983, March et al. 1979, Messinis et al. 1990). Ένας εναλλακτικός τρόπος, ωστόσο, για να εξεταστεί η δράση των ωθητικών ορμονών στην υπόφυση είναι η αφαίρεση των ωθηκών, οπότε και αίρετε η ενδογενής παραγωγή ωθητικών στεροειδών. Στο παρελθόν, πολλές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει ως μοντέλα γυναίκες μετά από ωθηκεκτομία. Σε αυτές τις μελέτες, οι βασικές τιμές όσο και η έκκριση της LH και της FSH ως απάντηση στη GnRH έχουν δείξει σημαντικές αλλαγές μετά την απομάκρυνση των ωθητικών στεροειδών από την κυκλοφορία, που συμβαίνει αμέσως μετά την ωθηκεκτομία (Alexandris et al. 1997, Chakravarti et al. 1977, Kamel et al. 1991, Monroe et al. 1972b, Yen et al. 1971). Την ίδια χρονική περίοδο, έχει φανεί ότι είναι δυνατή η πυροδότηση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης από τη δράση εξωγενώς χορηγούμενης οιστραδιόλης στην υπόφυση (Dafopoulos et al. 2006). Παρόλα αυτά, αν και έχει επιτευχθεί δημιουργία κύματος της LH μόνο με την εξωγενή χορήγηση οιστρογόνων στις γυναίκες αυτές, η δράση της προγεστερόνης κατά την άμεση περίοδο μετά την ωθηκεκτομία δεν έχει μελετηθεί.

Ενώ η εμφάνιση του κύματος της LH στα πλαίσια του φυσιολογικού κύκλου είναι απαραίτητη για την επίτευξη ωθυλακιορρηξίας, η ανεξέλεγκτη εμφάνιση αιχμών της LH αποτέλεσε ένα από τα βασικά προβλήματα κατά τα πρώτα στάδια εφαρμογής της πολλαπλής ωθυλακικής διέγερσης και της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Κατά τη διάρκεια των αρχικών μελετών με πολλαπλή ωθυλακική διέγερση με hMG για τη διενέργεια εξωσωματικής γονιμοποίησης, φάνηκε ότι πρώιμη αιχμή της LH συνέβαινε σε ποσοστό 20–25% των κύκλων λόγω ενεργοποίησης του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης από τις υψηλές συγκεντρώσεις οιστραδιόλης στη διάρκεια της μέσης ωθυλακικής φάσης του κύκλου διέγερσης (Macklon et al. 2006). Αυτή η έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις της LH συσχετίστηκε με πρώιμη ωχρινοποίηση των ωθυλακίων, με αποτέλεσμα είτε ακύρωση των κύκλων λόγω αναστολής της ωρίμανσης των ωθυλακίων, είτε σημαντικά επηρεασμένα αποτελέσματα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF). Η κλινική ανάπτυξη των GnRH αγωνιστών επέτρεψε την πλήρη καταστολή των υποφυσιακών γοναδοτροφινών στη διάρκεια της ωθητικής διέγερσης κατά την IVF (Fleming et al. 1986, Porter et al. 1984, Shaw et al. 1985, Wildt et al. 1986). Η προκαλούμενη υποφυσιακή καταστολή είχε ως

αποτέλεσμα σημαντική μείωση ακυρώσεων και βελτίωσε την αποτελεσματικότητα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Dal Prato et al. 2004, Janssens et al. 2000, Smitz et al. 1988).

Τα τελευταία χρόνια, οι GnRH-ανταγωνιστές εισήχθησαν για να απλοποιήσουν τα πρωτόκολλα και να μειώσουν το κόστος της θεραπείας της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Αν και αμφιλεγόμενο θέμα (Al-Inany et al. 2007), νεότερα δεδομένα δείχνουν παρόμοια αποτελεσματικότητα σε σχέση με τους αγωνιστές όσον αφορά στο ποσοστό γέννησης ζωντανών νεογνών (Al-Inany et al. 2011). Η παρουσία πρόωρης αιχμής της LH δεν είναι σπάνιο φαινόμενο κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ανταγωνιστές. Ένα ευρύ φάσμα των πρόωρων αιχμών της LH από 4% - 8% (Al-Inany et al. 2007) και (E.M.E.O.S.Group 2001) έως 28% και 35% (Engel et al. 2002, Messinis et al. 2005) έχουν αναφερθεί.

Τα δεδομένα αυτά θέτουν υπό αμφισβήτηση την ικανότητα των GnRH-ανταγωνιστών, που χρησιμοποιούνται σήμερα, για την πρόληψη της ενδογενούς αιχμής της LH, αν και παλαιότερης γενιάς ανταγωνιστές έχουν βρεθεί αποτελεσματικοί υπό πειραματικές συνθήκες στην πρόληψη του θετικού μηχανισμού της οιστραδιόλης και προγεστερόνης (Kolp et al. 1992).

Στα πλαίσια λοιπόν της διερεύνησης της έκκριση των γοναδοτροφινών της υπόφυσης κατά τη μεσοκύκλια φάση τόσο σε συνθήκες φυσιολογικού κύκλου όσο και σε συνθήκες εξωσωματικής γονιμοποίησης, εκπονήθηκε η παρούσα διδακτορική διατριβή με σκοπό: α) να μελετήσει τη δράση της προγεστερόνης στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης σε γυναίκες άμεσα μετά από ωθηκεκτομία και β) να διερευνήσει την εμφάνιση του μηχανισμού θετικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης από τη χορήγηση εξωγενών οιστρογόνων σε γυναίκες με μη διεγερμένες ωθήκες, όταν αυτές λαμβάνουν τον GnRH ανταγωνιστή.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ο φυσιολογικός γεννητικός κύκλος

Οι μεταβολές του εμμηνορρυσιακού ή γεννητικού κύκλου είναι αποτέλεσμα της αρμονικής συνεργασίας του υποθαλάμου, της υποφύσεως και των ωοθηκών μέσω των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Ονομάζεται εμμηνορρυσιακός κύκλος, αφού το κύριο χαρακτηριστικό του είναι η έμμηνος ρύση. Η διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου είναι περίπου 28 ημέρες (22-35 ημέρες). Ο γεννητικός κύκλος διαιρείται σε δύο φάσεις. Κατά την πρώτη φάση, που ονομάζεται ωοθυλακική, πραγματοποιείται η ωρίμανση του ωοθυλακίου από το μέγεθος των 5mm στο μέγεθος των 20 mm (ώριμο γραφιανό) μέσα σε διάστημα 14 ημερών περίπου. Το ώριμο γραφιανό ωοθυλάκιο στη συνέχεια θα υποστεί ρήξη, διαδικασία η οποία ονομάζεται ωοθυλακιορρηξία. Η ωοθυλακιορρηξία σε κύκλο 28 ημερών συμβαίνει περίπου τη 14^η μέρα. Από το χρονικό αυτό σημείο, αρχίζει η δεύτερη φάση του κύκλου, που ονομάζεται ωχρινική, στη διάρκεια της οποίας το ωχρό σωματίο, που σχηματίσθηκε από το ωοθυλάκιο, εμφανίζει μεταβολές στη λειτουργία του, δηλαδή ακμή και γήρανση με επακόλουθο την έμμηνο ρύση. Η πρώτη φάση του γεννητικού κύκλου λέγεται οιστρογονική, λόγω της έκκρισης οιστρογόνων από το ωριμάζον ωοθυλάκιο, η δε δεύτερη φάση λέγεται και οιστρογόνο- προγεστερονική, λόγω της έκκρισης προγεστερόνης μαζί με τα οιστρογόνα από το ωχρό σωματίο (Μεσσήνης 2010).

1.1 Ανατομικά στοιχεία (υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες)

ΥΠΟΘΑΛΑΜΟΣ

Ο υποθάλαμος βρίσκεται στη βάση του ανθρώπινου εγκεφάλου και παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του γεννητικού κύκλου μέσω της παραγωγής της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροφινών GnRH (Gonadotrophin releasing hormone). Η ύπαρξη μιας τέτοιας ουσίας προτάθηκε αρχικά στις αρχές της δεκαετίας του '60 (Speroff L. 2011). Η εμβρυική καταγωγή του είναι από την κοιλιακή μοίρα του εμβρυϊκού διεγκεφάλου και σχηματίζει τα πλάγια τοιχώματα της τρίτης κοιλίας. Βρίσκεται μεταξύ του πρόσθιου ορίου του οπτικού χιάσματος και του οπίσθιου ορίου των μαστίων.

Τα νευρικά κύτταρα του υποθαλάμου συγκεντρώνονται σε λειτουργικούς σχηματισμούς, οι οποίοι λέγονται πυρήνες. Η προέλευση των νευρικών κύτταρων, που εκκρίνουν GnRH, είναι από την οσφρητική πλάκα. Συγκεκριμένα, κύτταρα από το επιθήλιο του οσφρητικού κοιλώματος μεταναστεύουν στον εγκέφαλο. Γλυκοπρωτεϊνικής φύσεως μόρια προσκόλλησης, τα οποία υπάρχουν στις μεμβράνες των νευριτών και άλλων νευρικών κυττάρων, φαίνεται ότι συμμετέχουν στη διαδικασία διαφοροποίησης των GnRH κυττάρων και στη μετανάστευσή τους.

Τα κύτταρα του ανθρώπινου υποθαλάμου έχουν την ικανότητα να εκκρίνουν ορμόνες, ουσίες δηλαδή, οι οποίες μέσω της κυκλοφορίας του πυλαίου φλεβικού συστήματος δρουν στην υπόφυση και συγκεκριμένα στον πρόσθιο λοβό της. Ορισμένες περιοχές του εγκεφάλου έχουν ιδιαίτερη λειτουργική σημασία, όπως αυτά που περιβάλλουν την 3^η κοιλία και κυρίως η μέση προεξοχή, το αγγειώδες όργανο του τελικού πετάλου και το κωνάριο (Μεσσήνης 2010).

ΥΠΟΦΥΣΗ

Η υπόφυση είναι ο δεύτερος πυλώνας του υποθάλαμο-υπόφυσιο-ωθηκικού άξονα και συμμετέχει στις διαδικασίες ρύθμισης μέσω κυρίως του πρόσθιου λοβού, ο οποίος εκκρίνει (6) έξι διαφορετικές ορμόνες. Οι ορμόνες, που έχουν κυρίως σχέση με το γεννητικό άξονα είναι η θυλακιοτρόπος ορμόνη (Follicle stimulating hormone ή FSH), και η ωχρινοτρόπος ορμόνη (Luteinizing hormone ή LH). Ωστόσο, περισσότερο ή λιγότερο και οι υπόλοιπες ορμόνες μπορεί να εμπλέκονται στη φυσιολογία ή την παθολογία του άξονα και αυτές είναι η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (Thyroid stimulating hormone ή TSH), η προλακτίνη (Prolactin ή PRL), η αυξητική ορμόνη (Growth hormone ή GH) και η φλοιοεπινεφριδιοτρόπο ορμόνη (Adrenocorticotrophic hormone ή ACTH). Τόσο η FSH όσο και η LH είναι γλυκοπρωτεΐνες, όπως και η TSH, αποτελούνται δηλαδή από μια «α» υποομάδα, που είναι κοινή και για τις τρεις ορμόνες FSH, LH και TSH, καθώς και μια «β» υποομάδα, η οποία είναι διαφορετική και χαρακτηριστική για κάθε ορμόνη και καθορίζει τη διαφορετική βιολογική δράση της καθεμίας.

Τα κύτταρα, που παράγουν τις ορμόνες αυτές, βρίσκονται στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης ή αδενουπόφυσης, χωρίζονται δε σε ομάδες ανάλογα με την ορμόνη που παράγουν. Έτσι υπάρχουν τα σωματοτρόφα, τα γαλακτοτρόφα, τα γοναδοτρόφα και τα θυρεοτρόφα κύτταρα. Εκτός όμως από τον πρόσθιο λοβό, η υπόφυση έχει και έναν οπίσθιο λοβό ή νευροπόφυση. Η τελευταία αποτελείται από νευρικά κύτταρα και είναι η συνέχεια του υποθαλάμου, χρησιμεύει στη μεταφορά ωκυτοκίνης και βασσοπρεσίνης από πυρήνες του υποθαλάμου στο αίμα.

Η εμβρυική προέλευση της αδενουπόφυσης ή πρόσθιου λοβού της υποφύσεως είναι από το εξώδερμα. Τα γοναδοτρόφα κύτταρα περιέχουν κοκκία διαμέτρου 200 έως 500 nm, ενώ τα κοκκία των κυττάρων που παράγουν προλακτίνη είναι 30 έως 60 nm. Πολλά από τα κύτταρα έχουν κοινή προέλευση και η διαφοροποίησή τους πραγματοποιείται ανάλογα με τη φάση της ωθηκικής λειτουργίας (Speroff L. 2011, Μεσσήνης 2010).

ΩΟΘΗΚΕΣ

Στη γυναίκα, οι ωοθήκες είναι οι γεννητικοί αδένες που βρίσκονται δεξιά και αριστερά της μήτρας. Το μέγεθος της ωοθήκης μεταβάλλεται ανάλογα με τη φάση του κύκλου, όπως επίσης και από την ωοθυλακιορρηξία. Σε διατομή, η ωοθήκη εμφανίζει από έξω προς τα μέσα μια στιβάδα αποπλατυσμένου κυβοειδούς έως χαμηλού κυλινδρικού επιθηλίου, φλοιώδη μοίρα και μυελώδη μοίρα.

Η φλοιώδης μοίρα αποτελείται από εξειδικευμένο στρώμα και ωοθυλάκια σε διάφορα στάδια ανάπτυξης ή ατρησίας. Υπολογίζεται, μάλιστα, πως κατά τον τοκετό θήλεος νεογνού στην ωοθήκη υπάρχουν περίπου 200000 ωοθυλάκια σε κάθε ωοθήκη. Από τα ωοθυλάκια αυτά, μόνο τα 400 θα φθάσουν σε ωρίμανση και ονομάζονται ωοθυλάκια του Graaf (Γρααφιανά). Εσωτερικά της φλοιώδους μοίρα ο συνδετικός ιστός σχηματίζει το στρώμα της ωοθήκης, όπου υπάρχουν τα κοκκώδη κύτταρα. Η μυελώδης μοίρα καταλαμβάνει ένα μικρό τμήμα της ωοθήκης. Αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό, αγγεία, νεύρα και λεμφαγγεία που εισέρχονται εκεί από τον κρεμαστήρα σύνδεσμο, ο οποίος καταφύεται στο πάνω μέρος της ωοθήκης.

Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη, που εκκρίνονται από την ωοθήκη μετά την επίδραση των γοναδοτροφινών ορμονών της υποφύσεως, επηρεάζουν την έκκριση της GnRH με θετική ή αρνητική επίδραση (μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης – feedback mechanism) στον υποθάλαμο και στην υπόφυση.

Εκτός από τις στεροειδείς ορμόνες, οι ωοθήκες παράγουν και μη στεροειδείς παράγοντες που μετέχουν στη ρύθμιση της έκκρισης της LH και της FSH. Μεταξύ αυτών η ανασταλτίνη (inhibin), η ακτιβίνη (activin) και η θυλακιοστατίνη (follistatin) έχουν σχετιστεί κυρίως με τη ρύθμιση της έκκρισης της FSH. Σήμερα, υπάρχουν σαφείς πειραματικές ενδείξεις για την ύπαρξη και ενός άλλου, επίσης μη στεροειδούς παράγοντα που δρα στην υπόφυση ρυθμίζοντας τα επίπεδα της επαγόμενης από GnRH έκκρισης της LH. Ο παράγοντας αυτός ονομάστηκε παράγοντας αναστολής ή άμβλυνσης του κύματος των γοναδοτροφινών (Gonadotrophin surge inhibiting factor-GnSIF ή Gonadotrophin surge attenuating factor-GnSAF) (Messinis et al. 1989, Sopolak et al. 1984), αν και για τον άνθρωπο έχει προταθεί ο όρος GnSAF (Messinis et al. 1989). Αν και η μοριακή βιοχημική βάση του GnSAF δεν είναι γνωστή, η δραστηριότητα GnSAF

έχει συνδεθεί με μία σειρά πιθανών πολυπεπτιδικών παραγόντων, μεταξύ των οποίων είναι και το C-τελικό 95πεπτίδιο της ανθρώπινης αλβουμίνης (λευκωματίνης) ορού (Pappa et al. 1999).

1.2 Οι ορμονικές μεταβολές του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, η εξήγηση τους και η συσχέτιση τους με τις ωοθηκικές μεταβολές

Όπως αναφέρθηκε, οι ορμόνες που σχετίζονται με τον υποθάλαμο υπόφυσιο - ωοθηκικό άξονα εμφανίζουν διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του γεννητικού κύκλου. Οι αλλαγές που εμφανίζουν οι διάφορες ορμόνες, βρίσκονται σε μεταξύ τους αλληλεπίδραση μέσω θετικών και αρνητικών μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης.

Ένα από τα πρώτα φαινόμενα κατά την έναρξη του κύκλου, με έναρξη 2-3 ημέρες πριν την αναμενόμενη έμμηνο ρύση, είναι η διακυκλική αύξηση της FSH. Η αύξηση αυτή, η οποία ονομάζεται “παράθυρο της FSH” και είναι υπεύθυνη για την επιλογή και την ωρίμανση του επικρατούντος ωοθυλακίου. Η δράση της FSH ασκείται στην αρωματοποίηση των ανδρογόνων, που υπάρχουν στα κύτταρα της έσω θήκης, σε οιστρογόνα. Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα, το ωοθυλάκιο που θα επιτύχει τη γρηγορότερη και αποτελεσματικότερη αρωματοποίηση θα επικρατήσει, μια και η αύξηση των οιστρογόνων καθώς και η αύξηση της ανασταλίνης B, θα οδηγήσει σε μείωση FSH και έτσι σε κλείσιμο του παραθύρου της FSH, ώστε να μην επιτραπεί η επιλογή άλλου ωοθυλακίου.

Άλλοι παράγοντες, όπως π.χ. η ανασταλίνη, συμμετέχει στην επιλογή ωοθυλακίου μέσω ευόδωσης της δράσης της LH στα κύτταρα της έσω θήκης, ώστε να παραχθούν ανδρογόνα καθώς και η ακτιβίνη, η οποία ευνοεί τη δράση της FSH στην αρωματοποίηση. Εάν στην πορεία επιτευχθεί οιστρογονοποίηση, αυτή θα οδηγήσει το συγκεκριμένο ωοθυλάκιο σε επιλογή, ενώ εάν το περιβάλλον παραμείνει ανδρογονοποιημένο, τότε τα ωοθυλάκια αυτά θα μετατραπούν σε άτρητα.

Το επικρατούν ή κυρίαρχο ωοθυλάκιο είναι το ωοθυλάκιο το οποίο επιλέγεται σε κάθε κύκλο και συνεχίζει την ανάπτυξη του σε ώριμο γραφειανό ή προωθυλακιορρηκτικό. Η δράση της FSH και οι τοπικοί παράγοντες δρουν στην αύξηση του ωοθυλακίου, ενώ επιπλέον, η FSH ευοδώνει τη δημιουργία των υποδοχέων της LH στα κοκκώδη κύτταρα, ώστε αυτή να μπορέσει να δράσει στο δεύτερο μισό της ωοθυλακικής φάσης να συμβάλλει, τόσο στον πολλαπλασιασμό των κοκκωδών κυττάρων όσο και στην αρωματοποίηση των ανδρογόνων σε οιστρογόνα. Η LH μπορεί να βοηθήσει στην διάσωση των ωοθυλακίων από την ατρησία και να προκαλέσει το σχηματισμό της

κοιλότητας (antrum) σε προκοιλιακά ωοθυλάκια.

Με την επιλογή και ωρίμανση του ωοθυλακίου, παρατηρείται μείωση της τιμής της FSH, ενώ η οιστραδιόλη που παράγεται από το επικρατούν ωοθυλάκιο συνεχίζει να αυξάνει, αρχικά μεν βραδέως, στη συνέχεια ταχύτερα και φτάνει σε αιχμή "peak" δύο ημέρες πριν την ωοθυλακιορρηξία. Η συνεχιζόμενη αύξηση της οιστραδιόλης οφείλεται στο γεγονός, ότι παρά τη μείωση FSH αυξάνει η ευαισθησία του ωοθυλακίου στην FSH μέσω της δράσης των οιστρογόνων αλλά και από τη δράση της LH, καθώς και διάφορων αυξητικών παραγόντων στα κύτταρα της κοκκώδους στοιβάδας. Θα πρέπει, επίσης, να σημειωθεί, ότι παράλληλα με το παράθυρο της FSH, παρατηρείται και μια μικρότερη αύξηση της LH.

Η LH στο πρώτο μισό της ωοθυλακικής φάσης είναι χαμηλή, αλλά αυξάνει σταδιακά και βραδέως, έτσι ώστε όταν παρατηρηθεί η μείωση της FSH, τότε ο λόγος FSH/LH αντιστρέφεται. Η αύξηση αυτή της LH εμφανίζει στη συνέχεια μια εκκριτική αιχμή, η οποία συμβαίνει μια ημέρα μετά την αιχμή των οιστρογόνων. Αντίστοιχη χρονικά, αλλά σε πολύ μικρότερο βαθμό αιχμή εμφανίζει και η FSH, όπως προαναφέρθηκε η αιχμή αυτή των γοναδοτροφινών συμβαίνει κατά το μέσο του κύκλου και λέγεται μεσοκύκλιο κύμα της LH (LH surge) ή των γοναδοτροφινών. Η διάρκεια του κύματος αυτού στο φυσιολογικό κύκλο είναι 48-72 ώρες. Οι ορμόνες, τόσο η FSH όσο και η LH, ελαττώνονται και διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια του δεύτερου μισού του κύκλου, για να ακολουθήσει λίγο πριν την έμμηνο ρύση η διακυκλική αύξηση της FSH.

Η προηγηθείσα αύξηση της οιστραδιόλης (αιχμή) είναι ο παράγοντας που πυροδοτεί την εκκριτική αιχμή της LH μέσω του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Η θετική επίδραση των οιστρογόνων στην υπόφυση γίνεται μέσω αύξησης των υποδοχέων της GnRH στην υπόφυση δηλαδή, μέσω αύξησης της ευαισθησίας του γοναδοτρόφου κυττάρου στη GnRH. Εκτός από τη δράση τους στην υπόφυση πιθανολογείται και δράση των οιστρογόνων στον υποθάλαμο.

Η δράση της προγεστερόνης στη φάση αυτή του κύκλου έχει πιθανολογηθεί από παλαιά. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η προγεστερόνη συμμετέχει τόσο στην έναρξη του κύματος των γοναδοτροφινών όσο και στον μηχανισμό τερματισμού του κύματος. Όσον αφορά στον τερματισμό έχουν πιθανολογηθεί ωοθηκικοί παράγοντες και όχι η εξάντληση των

αποθεμάτων των γοναδοτροφινών στην υπόφυση.

Σταθερό επακόλουθο περίπου 36 ώρες μετά την έναρξη του κύματος της εκκριτικής αιχμής της LH είναι η ωοθυλακιορρηξία, της οποίας ο μηχανισμός δεν είναι απόλυτα γνωστός. Φαίνεται ότι η LH ασκεί πρωτεολυτική δράση μέσω ενζύμων, τα οποία διαλύουν τα τοίχωμα του ωοθυλακίου στην περιοχή εκείνη, η οποία προβάλλει στην επιφάνεια της ωοθήκης. Μέσω της δράσης αυτής σχηματίζεται στο ωοθυλάκιο το στίγμα και σταδιακά προβάλλει η βασική μεμβράνη μέσω αυτού, ώστε τελικά να συμβεί ρήξη. Κατά τη ρήξη εξέρχεται το ωοκύτταρο περιβαλλόμενο από κύτταρα της κοκκώδους στοιβάδας.

Διάφορα πρωτεολυτικά ένζυμα συμμετέχουν στη διαδικασία ρήξεως του ωοθυλακίου, όπως π.χ. η πλασμίνη, ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου, καθώς και διάφορες κολλαγενάσες. Με τη δράση των ενζύμων αυτών, συμβαίνουν διάφορες μεταβολές στο τοίχωμα του ωοθυλακίου, όπως η υπεραιμία και οίδημα, λόγω αυξημένης ροής αίματος και τριχοειδικής διαπερατότητας. Άλλοι σημαντικοί παράγοντες, που συμβάλλουν στη ρήξη, φαίνεται να είναι οι προσταγλαδίνες οι οποίες δρουν τόσο στα αγγεία όσο και σε πρωτεϊνικές αλλαγές ως μεσολαβητές της δράσης των γοναδοτροφινών. Ωστόσο, κι άλλα συστήματα, όπως αυτό της ρενίνης-αγγειοτενσίνης, ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου φαίνεται πως παίζουν ρόλο στην όλη διαδικασία, ενώ πολλές παράμετροι δεν είναι ξεκάθαροι και βρίσκονται υπό διερεύνηση. Διάφοροι τοπικοί παράγοντες, τέλος, όπως οι αναστολείς των μεταλλοπρωτεασών τύπου 1 και ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου 1, έχουν αυξημένη δραστηριότητα. Πάντως, ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός, ότι η LH διεγείρει τόσο την παραγωγή των πρωτεολυτικών ενζύμων, όσο και των αναστολέων του, διατηρώντας έτσι, μια ισορροπία μέσω της ρύθμισης της οποίας επιτυγχάνεται τελικά η ωοθυλακιορρηξία.

Σημαντικό γεγονός μετά την ωοθυλακιορρηξία είναι η δημιουργία του ωχρού σωματίου. Υπό την επίδραση της LH τα κοκκώδη κύτταρα του ραγέντος ωοθυλακίου με τα κύτταρα της έσω θήκης τα περιβάλλοντα τριχοειδή αγγεία και συνδετικός ιστός, σχηματίζουν το ωχρό σωματίο. Η κύρια ορμονική παραγωγή του είναι η προγεστερόνη, ενώ σε πολύ μικρότερο βαθμό παράγεται οιστραδιόλη.

Εφόσον δεν προκύψει εγκυμοσύνη, το ωχρό σωματίο μετατρέπεται σε λευκό σωματίο,

που είναι μια ουλή χωρίς αγγεία. Η υποστροφή του ωχρού αρχίζει 7-8 ημέρες από τον σχηματισμό του, ενώ ολόκληρη η διάρκεια ζωής του είναι περίπου 14 ημέρες.

Η διαδικασία της ωχρινοποίησης των κοκκωδών κυττάρων αρχίζει πριν ακόμα από τη ρήξη του ωοθυλακίου, υπό την επίδραση του μεσοκύκλιου κύματος της LH. Λόγω αυτής της ωχρινοποίησης παρατηρείται αύξηση της προγεστερόνης στο αίμα, η οποία εμφανίζεται σταδιακά πριν την ωοθυλακιορρηξία και συνεχίζει αυξανόμενη μετά από αυτή. Αντίστοιχες μεταβολές, δηλαδή, αύξηση παρατηρείται και για την οιστραδιόλη στην ωχρινική φάση του κύκλου. Η δράση της LH κατά το μεσοκύκλιο κύμα έχει ως αποτέλεσμα τα κύτταρα της κοκκώδους στοιβάδας να αποκτήσουν ικανότητα παραγωγής προγεστερόνης και αυτό συμβαίνει μέσω μεταβολών στη μεταγραφή γονιδίων και σε μεταβολές σε ενζυμικό επίπεδο, όπως π.χ. η αύξηση του ενζυμικού συμπλέγματος διάσπασης της χοληστερόλης (P-450 scc) και ελάττωση του P-450 c 17 (17 α- υδροξυλάση) και του P-459 atom (αρωματάση). Τα ωχρινοποιημένα κύτταρα έχουν ικανότητα αυξημένης πρόληψης χοληστερόλης και μετατροπής στους σε προγεστερόνη. Η LH κατά το μεσοκύκλιο κύμα έχει δράση και σε αυτό το επίπεδο μέσω επαγωγής αγγειογένεσης, προμήθειας των ιστών με LDL και αύξησης εκφράσεως των υποδοχέων της LDL.

Οι τιμές της προγεστερόνης στο αίμα φτάνουν στο μέγιστο της αύξησης τους στη μέση ωχρινική φάση. Κλινικά, η μέτρηση της προγεστερόνης στη φάση αυτή του κύκλου είναι ένδειξη ότι προηγήθηκε ωοθυλακιορρηξία. Οι τιμές της προγεστερόνης είναι χαμηλές στην ωοθυλακική φάση του κύκλου. Αντίστοιχη αύξηση παρατηρείται και στην οιστραδιόλη κατά την ωχρινική φάση, ωστόσο η μέγιστη τιμή της στην ωχρινική φάση, είναι μικρότερη της αιχμής στην ωοθυλακική φάση του κύκλου. Μετά το peak στην ωχρινική φάση οι τιμές των ωοθηκικών στεροειδών αρχίζουν να ελαττώνονται. Η ελάττωση αυτή συμπίπτει με την υποστροφή του ωχρού σωματίου, διαδικασία που είναι γνωστή ως ωχρινόλυση, όταν δεν συμβεί κύηση. Τα αίτια της ωχρινόλυσης δεν έχουν διευκρινιστεί απολύτως, πάντως φαίνεται ότι διάφοροι ενδοκρινικοί και τοπικοί παράγοντες παίζουν ρόλο. Φαίνεται ότι η ελάττωση της ευαισθησίας του ωχρού σωματίου στην LH είναι πρωταρχικής σημασίας, μιας και η LH είναι ο κύριος υποστηρικτής της λειτουργίας του ωχρού σωματίου. Χωρίς να έχει αποδειχθεί στον άνθρωπο, σε διάφορα ζώα φαίνεται ότι διάφορες ουσίες που παράγονται από το ίδιο το

ωχρο σωματίο οδηγούν σε ωχρινόλυση. Από τους διάφορους παράγοντες φαίνεται ότι η προσταγλαδίνη F2a και τα οιστρογόνα δρουν στα ζώα ως ωχρινολυτικά. Λιγότερα ακόμη είναι γνωστά σχετικά με παράγοντες του ανοσολογικού συστήματος, που φαίνεται ότι υπεισέρχονται στη διαδικασία, καθώς και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Τελικά, αποτέλεσμα της ωχρινόλυσης φαίνεται ότι είναι η μείωση της οιστραδιόλης, της προγεστερόνης και της ανασταλτίνης A στο δεύτερο μισό της ωχρινικής φάσης με τελικό αποτέλεσμα την έμμηνο ρύση. Οι μειώσεις των τιμών των στεροειδών, οιστρογόνα και προγεστερόνη, καθώς και η δράση της ανασταλτίνης A, φαίνεται ότι δρουν μέσω άρσης του αρνητικού μηχανισμού και οδηγούν στην εμφάνιση της διακυκλικής αύξησης της FSH.

Θα πρέπει τέλος, να αναφερθεί και μια άλλη ορμόνη, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγική διαδικασία και είναι η προλακτίνη. Η προλακτίνη παράγεται από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης και εμφανίζει αύξηση στη διάρκεια του ύπνου. Δεν εμφανίζει ωστόσο διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του γεννητικού κύκλου. Αν και πιθανολογείται ότι συμμετέχει στη διαδικασία της στεροειδογένεσης και ιδιαίτερα της προγεστερόνης κάτι τέτοιο δεν έχει αποδειχθεί. Σε περιπτώσεις ωστόσο υπερπρολακτιναιμίας, όπως π.χ. παρουσία προλακτινωμάτων, διαταράσσεται η φυσιολογική αναπαραγωγική λειτουργία, με καταστολή της έκκρισης της GnRH και των γοναδοτροφινών, γεγονός που οδηγεί σε ανωοθυλακιορρηκτικούς κύκλους και υπογονιμότητα (Speroff L. 2011, Μεσσήνης 2010).

1.3 Το μεσοκύκλιο κύμα της LH

Οι ωθητικές ορμόνες καθώς και οι υποφυσιακές γοναδοτροφίνες εμφανίζουν διακυμάνσεις στη διάρκεια του γεννητικού κύκλου και βρίσκονται υπό συνεχή αλληλεπίδραση με διάφορους μηχανισμούς αλληλορρύθμισης. Αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων αυτών είναι η εκδήλωση του μεσοκύκλιου γοναδοτροφικού κύματος, το οποίο αποτελεί σταθερό εύρημα ενός φυσιολογικού γεννητικού κύκλου (Messinis et al. 1988b). Έχει εδραιωθεί ότι η οιστραδιόλη, η οποία είναι το κύριο εκκριτικό παράγωγο του ωθυλακίου, είναι ο κύριος παράγοντας του θετικού μηχανισμού feed-back, ο οποίος προάγει την ενδογενή μεσοκύκλια αιχμή της LH. Πολλές μελέτες έχουν αναπαραγάγει την πυροδότηση της LH έκκρισης από οιστραδιόλη σε πειράματα που διεξήχθησαν τόσο στην ωθητική φάση του γεννητικού κύκλου όσο και σε μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες (Tsai et al. 1971a). Η προκαλούμενη αιχμή της LH από εξωγενώς χορηγούμενη οιστραδιόλη είναι μικρότερου εύρους και διάρκειας στην αρχή παρά στη μέση ή στο τέλος της ωθυλακικής φάσης πιθανώς λόγω μικρότερης διάρκειας επίδρασης της οιστραδιόλης στην υπόφυση (Messinis et al. 1990). Επίσης, η οιστραδιόλη έχει την ικανότητα να ευαισθητοποιεί την υπόφυση στην GnRH, κάτι που διευκολύνει την εκδήλωση του γοναδοτροφικού κύματος (Lasley et al. 1975).

Η προγεστερόνη είναι, επίσης, πολύ σημαντική στεροειδική ορμόνη, η οποία επηρεάζει την έκκριση των γοναδοτροφινών. Ωστόσο από μόνη της δεν είναι ικανή να προκαλέσει θετικό μηχανισμό feed-back εκτός εάν, της χορηγηθεί οιστρογονική θεραπεία (Chang et al. 1978, March et al. 1979). Σε αυτήν την περίπτωση η προγεστερόνη προάγει την έναρξη και αυξάνει το πλάτος της προκαλούμενης από τα οιστρογόνα αιχμής της LH (Liu et al. 1983, Messinis et al. 1990). Είναι πιθανό η προγεστερόνη να ευαισθητοποιεί την υπόφυση στην GnRH, αφού η χορήγηση αντιοιστρογονικών παραγόντων, όπως η μιφεπριστόνη, σε φυσιολογικές γυναίκες στη διάρκεια της ωθητικής φάσης του κύκλου έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της απάντησης της υπόφυσης στην GnRH (Kazem et al. 1996). Επίσης οι παραγόμενες από τις ωθήκες μη στεροειδείς ορμόνες έχει βρεθεί ότι επηρεάζουν την έκκριση της FSH (Burger 1992). Οι ουσίες αυτές είναι οι δύο μορφές της ινχιμπίνης, καθώς και οι ακτιβίνες και φολιστατίνη, οι οποίες όμως δεν είναι γνωστό εάν παίζουν φυσιολογικό

ρόλο, δηλαδή αν παρεμβαίνουν στους μηχανισμούς feed-back στη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου.

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει επιβεβαιωθεί η υπόθεση της ύπαρξης ενός άλλου μη στεροειδούς παράγοντα ο οποίος παράγεται από τις ωοθήκες και ο οποίος παίζει ρόλο στην έκκριση των γοναδοτροφινών. Αυτός ο παράγοντας ονομάζεται παράγοντας άμβλυνσης του κύματος των γοναδοτροφινών, gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) ο οποίος φαίνεται ότι ανταγωνίζεται την ευαισθητοποιό δράση της οιστραδιόλης στα γοναδοτρόφα κύτταρα και μειώνει την έκκριση της LH (Messinis 2003). Ο παράγοντας αυτός, τουλάχιστον υπό συνθήκες πολλαπλής ωοθηκικής ωρίμανσης, προκαλούμενης από διέγερση των ωοθηκών με FSH, ελαττώνει την υποφυσιακή απάντηση στην GnRH (Messinis 2003, Messinis et al. 1994, Messinis et al. 1996b, Messinis et al. 1998, Messinis et al. 1989). Η δράση του παράγοντα αυτού στη διάρκεια ενός φυσιολογικού κύκλου έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της έκκρισης της LH την προκαλούμενη από GnRH. (Messinis et al. 1991b), (Messinis et al. 1994). Φαίνεται ότι ο GnSAF παράγεται από μικρά και μεσαίου μεγέθους ωοθυλάκια στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης ανταγωνιζόμενος την ευαισθησία της υπόφυσης στην GnRH, όσον αφορά στην έκκριση της LH (Messinis et al. 1994, Messinis et al. 1998). Αντίθετα στην καθυστερημένη ωοθυλακική φάση η συγκέντρωση του GnSAF ελαττώνεται, διευκολύνοντας την αυξανόμενη επίδραση της οιστραδιόλης στην έκκριση της LH, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία του κύματος της LH.

Ωστόσο, ο μηχανισμός ο οποίος είναι υπεύθυνος για τον τερματισμό της προκαλούμενης από την οιστραδιόλη αιχμής της LH δεν είναι γνωστός. Η εξάντληση των αποθεμάτων της υπόφυσης είναι μια πιθανότητα αλλά αυτό δεν έχει τεκμηριωθεί. Μια άλλη πιθανότητα είναι ότι η αύξηση των τιμών της προγεστερόνης, μετά την έναρξη της αιχμής της LH στο μέσο του κύκλου, ίσως να συμμετέχει στον τερματισμό της αιχμής της LH. Ωστόσο ο ακριβής ρόλος των ενδογενών στεροειδών δεν έχει αποσαφηνιστεί.

Σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη μεσοκύκλιο περίοδο και συγκεκριμένα για το ρόλο των ωοθηκών στο κύμα της LH, προέκυψαν από μία μελέτη στην οποία, μελετήθηκαν γυναίκες που υποβλήθηκαν σε υστερεκτομία μετά των εξαρτημάτων σε δύο κύκλους, πριν και μετά από την αφαίρεση των εξαρτημάτων Dafopoulos et al. (2006). Βρέθηκε ότι η χορήγηση οιστρογόνων στις γυναίκες αυτές προκαλεί γοναδοτροφικό

κύμα, το οποίο έχει τα ίδια χαρακτηριστικά όπως και σε γυναίκες που δεν έχουν υποβληθεί σε υστερεκτομία εκτός από τον τερματισμό του.

Τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την μελέτη ήταν σημαντικά. Συγκεκριμένα τεκμηριώθηκε ότι, τις 3 πρώτες ημέρες μετά από την ωθηκεκτομία η υπόφυση λειτουργεί ως επί ακέραιων ωθηκών. Εξαιτίας της συνέχισης λειτουργίας της υπόφυσης η χορήγηση οιστρογόνων στις γυναίκες αυτές προκάλεσε αρχικά μείωση της βασικής τιμής της FSH και της LH μέσω αρνητικού μηχανισμού αλληλορρύθμισης, ενώ η αυξανόμενη συγκέντρωση οιστραδιόλης λόγω της εξωγενούς χορήγησης είχε ως αποτέλεσμα θετικό μηχανισμό feedback και δημιουργία γοναδοτροφικού κύματος, με παρόμοια χαρακτηριστικά όπως του φυσιολογικού κύκλου. Ωστόσο, η απουσία ωθηκών φαίνεται να ευθύνεται για τον μη τερματισμό του κύματος, αφού η τιμή της LH μετά την αιχμή δεν παρουσίασε πτώση αλλά παρέμεινε στα ίδια υψηλά επίπεδα. Επειδή οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης μετά την έναρξη του γοναδοτροφικού κύματος ήταν χαμηλότερες στον κύκλο μετά την ωθηκεκτομία, πιθανολογείται ότι η αδυναμία του να επανέλθει η LH στα προ της αιχμής επίπεδα οφείλεται την απουσία προγεστερόνης. Τέλος, διαψεύστηκε η υπόθεση ότι ο τερματισμός του κύματος της LH οφείλεται σε εξάντληση των αποθεμάτων της υπόφυσης αφού διαπιστώθηκε, ότι οι τιμές της LH παρέμειναν σε υψηλά επίπεδα μετά από την ωθηκεκτομία καθώς και μετά την άρση της δράσης των οιστρογόνων.

2. Η εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροφινών (GnRH)

Η GnRH (gonadotrophin releasing hormone) εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροφινών (Schally et al., 1971; Matsuo et al., 1971; Burgus et al., 1972) είναι ένα δεκαπεπτιδίο και αποτελεί τον υποθαλαμικό παράγοντα, που ελέγχει τη βιοσύνθεση των γοναδοτροφινών στην υπόφυση. Μέσω της υποφυσιακής -πυλαίας κυκλοφορίας φθάνει στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης, όπου συνδέεται με τους ειδικούς υποδοχείς της και προκαλεί την έκκριση των γοναδοτροφινών. Ο κύριος έλεγχος της παραγωγής και της έκκρισης των υποφυσιακών γοναδοτροφινών γίνεται από τη GnRH. Φαίνεται όμως, ότι η έκκριση της FSH σε σύγκριση με της LH είναι λιγότερο εξαρτημένη από τη GnRH και πιθανόν να εμπλέκονται κάποιοι εκλυτικοί παράγοντες της FSH (Padmanabhan & McNeilly, 2001). Είναι γνωστό ότι για τη φυσιολογική έκκριση των γοναδοτροφινών απαιτείται η κατά ώσεις έκκριση της GnRH με συγκεκριμένη διακύμανση τιμών συχνότητας και εύρους (Knobil, 1980). Σε γυναίκες με υποθαλαμική αμηνόρροια η συνεχής ενδοφλέβια έγχυση GnRH δεν μπορεί να διεγείρει τη συνεχή έκκριση γοναδοτροφινών, αλλά η διακεκομμένη χορήγηση της με συχνότητα μία ώση ανά 90 min, επαναφέρει τα επίπεδα των γοναδοτροφινών στο φυσιολογικό (Southworth et al., 1991). Οι γοναδοτροφίνες εκκρίνονται κατά ώσεις, όπως η GnRH και θεωρείται ότι η μορφή έκκρισης τους αντικατοπτρίζει την αντίστοιχη της GnRH.

Η έκκριση της GnRH εξαρτάται από περίπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του δεκαπεπτιδίου με άλλες νευροορμόνες, τις γοναδοτροφίνες και τις ορμόνες των ωοθηκών. Ο τρόπος αλληλεπίδρασης τους γίνεται με μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (feedback), τόσο θετικών (διεγερτικών) όσο και αρνητικών (ανασταλτικών), οι οποίοι δρουν στη σύνθεση και στην έκκριση της GnRH. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι: α) ο μακρύς μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (long feedback loop), που αναφέρεται στην επίδραση των κυοφορούμενων ορμονών, που παράγονται από τους αδένες στόχους και αφορά τόσο στον υποθάλαμο όσο και στην υπόφυση, β) ο βραχύς μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (short feedback loop), που υποδηλώνει την αρνητική επίδραση των υποφυσιακών ορμονών πάνω στην έκκριση τους, κυρίως μέσω αρνητικών επιδράσεων στην έκκριση της εκλυτικής υποθαλαμικής ορμόνης και ο υπερβραχύς μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης

(ultrashort feedback) που αναφέρεται στην αναστολή της σύνθεσης της GnRH από αυτή την ίδια ορμόνη. Συνοπτικά και στα δύο φύλα των θηλαστικών, τα στεροειδή των γονάδων ασκούν καθοριστικές επιδράσεις στη βιοσύνθεση και την έκκριση της GnRH με μηχανισμούς, που περιλαμβάνουν διάφορους νευρομεταβιβαστές και νευροπεπτίδια, αν και ο ρόλος πολλών από αυτά δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινιστεί (Kalra, 1993; Herbison, 1998).

Η απομόνωση της GnRH και η σύνθεση ουσιών με δράση GnRH έδωσε τη δυνατότητα χρήσης της σε πολλές γυναικολογικές παθήσεις και κυρίως στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Αργότερα χρησιμοποιήθηκαν και ουσίες γνωστές ως ανταγωνιστές της GnRH, οι οποίοι προκαλούν άμεση καταστολή της υπόφυσης και οι οποίοι εμφανίζουν συνεχώς αυξανόμενη χρήση σε πρωτόκολλα εξωσωματικής γονιμοποίησης.

2.1 Αγωνιστές GnRH

Από τα μέσα της δεκαετίας του 1980, η πλειονότητα των κέντρων Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής χρησιμοποιεί τους GnRH-αγωνιστές στα πρωτόκολλα πολλαπλής ωοθυλακικής ανάπτυξης για πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας ή για εξωσωματική γονιμοποίηση. Η χρήση των GnRH-αγωνιστών συνετέλεσε στην αύξηση του ποσοστού επιτυχίας των μεθόδων Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής και στον καλύτερο προγραμματισμό των ωοληψιών. Το σημαντικότερο μειονέκτημά τους είναι η αρχική μαζική έκλυση γοναδοτροφινών από την υπόφυση (flare-up φαινόμενο), γεγονός το οποίο επιβάλλει τη χρήση τους για τουλάχιστον 2 εβδομάδες πριν επιτευχθεί η επιθυμητή απευαισθητοποίηση της υπόφυσης.

Το 1971, το μικρό δεκαπεπτίδιο GnRH απομονώθηκε, και η δομή του διευκρινίστηκε (Guillemin et al. 1971, Schally et al. 1971). Πειραματικές δοκιμασίες με αντικαταστάσεις αμινοπεπτιδίων αποκάλυψαν τη σημασία συγκεκριμένων περιοχών για τη σταθερότητα του, την ικανότητα σύνδεσης με υποδοχείς και την διέγερση υποφυσιακών κυττάρων για έκκριση γοναδοτροφινών (Schally 1999). Επιπρόσθετα, στην από παλαιά γνωστή κεντρική δράση, νεότερες μελέτες έδειξαν ότι ο GnRH δρα στις ανθρώπινες ωοθήκες, ρυθμίζοντας τη στεροειδογένεση (Kang et al. 2000) τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Volker et al. 2002) και την απόπτωσή τους (Grundker et al. 2000). Παρόλα αυτά, οι σύγχρονες θεραπευτικές δράσεις των GnRH αναλόγων προέρχονται από την αποδεδειγμένη δράση τους στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών. Κλινικά ασφαλείς GnRH αγωνιστές αναπτύχθηκαν με αντικατάσταση ενός ή δύο αμινοξέων. Αυξημένη δραστηριότητα του μορίου μπορεί να προκύψει από αντικατάσταση της γλυκίνης στη θέση 6 και της Gly-NH₂ στη θέση 10 (Filicori 1994). Μια τέτοια απλή δομική αλλαγή κάνει το μόριο πιο υδρόφοβο και πιο ανθεκτικό σε ενζυματική αποσύνθεση. Το 1978, διαπιστώθηκε ότι επαναλαμβανόμενη χορήγηση GnRH αγωνιστή οδηγούσε σε μια παροδική αύξηση της γοναδικής λειτουργίας, την οποία ακολουθούσε μια μείωση της λειτουργίας και μια σημαντική μείωση της παραγωγής των φυλετικών στεροειδών ορμονών (Labrie et al. 1979, Leyendecker et al. 1980). Αν και η αρχική σύνδεση με τους υποδοχείς της GnRH οδηγεί σε ενεργοποίηση, η συνεχής κατάληψή τους έχει ως αποτέλεσμα την απευαισθητοποίηση τους λόγω δημιουργίας συμπλέγματος, με

αποτέλεσμα την πτώση των επιπέδων της LH και της FSH στο αίμα (Conn et al. 1994). Εάν οι αγωνιστές χορηγηθούν για μια περίοδο αρκετών μηνών, τα επίπεδα της LH παραμένουν κατεσταλμένα, αλλά τα επίπεδα της FSH επανέρχονται στο φυσιολογικό και τελικά αυξάνουν σε υψηλότερα του φυσιολογικού επίπεδα (Santen et al. 1986).

Η ρυθμική χορήγηση GnRH αποδείχθηκε αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση για ασθενείς με υπογοναδοτροφική υπογοναδική ανωθυλακιορρηξία (Leyendecker et al. 1980). Οι πρώτες αναφορές όσον αφορά τη χρήση τους στην πρόληψη της πρώιμης αιχμής της LH κατά την ωθηκική διέγερση εμφανίστηκαν στις αρχές της δεκαετίας του '80 (Fleming et al. 1982, Porter et al. 1984). Κατά τη διάρκεια των αρχικών μελετών με πολλαπλή ωθυλακική διέγερση με hMG για τη διενέργεια εξωσωματικής γονιμοποίησης, φάνηκε ότι πρώιμη αιχμή της LH συνέβαινε σε ποσοστό 20–25% των κύκλων λόγω ενεργοποίηση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης από τις υψηλές συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης στη διάρκεια της μέσης ωθυλακικής φάσης του κύκλου διέγερσης. Αυτή η έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις LH συσχετίστηκε με πρώιμη ωχρινοποίηση των ωθυλακίων, με αποτέλεσμα είτε την ακύρωση των κύκλων λόγω αναστολής της ωρίμανσης των ωθυλακίων είτε σημαντικά επηρεασμένα αρνητικά αποτελέσματα κατά την εξωσωματική γονιμοποίηση. Η κλινική ανάπτυξη των GnRH αγωνιστών (Filicori 1994, Huirne et al. 2001) επέτρεψε την πλήρη καταστολή των υποφυσιακών γοναδοτροφινών στη διάρκεια της ωθηκικής διέγερσης κατά την IVF (Porter et al. 1984, Shaw et al. 1985). Η προκαλούμενη υποφυσιακή καταστολή είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της ακυρώσεων κύκλων και βελτίωσε την αποτελεσματικότητα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Smitz et al. 1988). Επιπλέον η χρήση των GnRH αγωνιστών διευκόλυνε στον προγραμματισμό της διαδικασίας και το χρόνο διενέργειας της ωοληψίας.

Η χρήση των GnRH αγωνιστών για την πρόληψη της πρώιμης αιχμής της LH, την πρώιμη ωρίμανση του ωθυλακίου και την ωχρινοποίηση είχαν σημαντικό αντίκτυπο στην βελτίωση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου. Παρόλα αυτά, ενώ χρησιμοποιούνται για περίπου 30 χρόνια, υπάρχουν λίγες μελέτες που να αξιολογούν τη δοσολογία (Janssens et al. 2000), και λιγότερες τυχαίοποιημένες που να συγκρίνουν διαφορετικά είδη αγωνιστών (Macklon et al. 2006). Ωστόσο, ιδιαίτερη σημασία έχει δοθεί στη διεκρίνιση του καλύτερου πρωτοκόλλου για τη χρήση τους.

Κατά τη διάρκεια της ωθηκικής διέγερσης με το μακρύ πρωτόκολλο, η χορήγηση GnRH αγωνιστών συνήθως ξεκινάει στην ωχρινική φάση του προηγούμενου κύκλου και συνεχίζεται μέχρι τη χορήγηση hCG. Εξ' αιτίας της βασικής αγωνιστικής δράσης του αγωνιστή, πριν από την εκδήλωση της κατασταλτικής δράσης στην υπόφυση προηγείται μια αρχική διεγερτική δράση, η οποία περιγράφεται ως «flare-up effect». Αυτό το φαινόμενο κάνει την προσέγγιση με GnRH αγωνιστή χρονοβόρα, γιατί η ωθηκική διέγερση θα πρέπει να ξεκινήσει μετά την ολοκλήρωση της καταστολής, συνήθως 2 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας (Barbieri et al. 1999). Είναι αβέβαιο εάν η ωθηκική απάντηση στην εξωγενή διέγερση επηρεάζεται από την συγχορήγηση GnRH αγωνιστή (Hugues et al. 1998) και μερικές γυναίκες εκδηλώνουν σοβαρές υποοιστρογονικές παρενέργειες, όπως αλλαγές στη διάθεση, εφίδρωση και εξάψεις. Το βραχύ πρωτόκολλο ή “flare-up” πρωτόκολλο συνδυάζει την αγωνιστική δράση της θεραπείας με GnRH αγωνιστή, που ξεκινάει την 2^η μέρα του κύκλου με λήψη γοναδοτροφινών μία μέρα αργότερα (Huirne et al. 2004). Η άμεση διεγερτική δράση του GnRH αγωνιστή εξυπηρετεί σαν παράγοντας πυροδότησης για στρατολόγηση ωθυλακίων. Επαρκής ωθυλακική ωρίμανση επιτυγχάνεται κατά μέσο όρο την 12^η μέρα, παρέχοντας έτσι επαρκή χρόνο για καταστολή της υπόφυσης, έτσι ώστε να αποφευχθεί η πρόωμη αιχμή της LH (Smitz et al. 1990). Πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να μειώσουν τη διάρκεια χορήγησης του GnRH αγωνιστή με πρόωρη διακοπή, μια και η επαναδραστηριοποίηση της υπόφυσης χρειάζεται περίπου 14 ημέρες (Donderwinkel et al. 1993). Οι GnRH αγωνιστές ξεκινούν στην μέση ωχρινική φάση του προηγούμενου κύκλου και διακόπτονται κατά τη διάρκεια ή ακόμη και πριν την έναρξη θεραπείας με την FSH. Πολλές προοπτικές τυχαioποιημένες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί συγκρίνοντας αυτές τις προσεγγίσεις με το μακρύ πρωτόκολλο (Beckers et al. 2000, Smitz et al. 1992). Αν και δεν συνέβη πρόωμη αύξηση της LH, επιβεβαιώνοντας καθυστερημένη υποφυσιακή επάνοδο από την καταστολή, δεν υπήρξε κανένα κλινικό όφελος από τη συγκεκριμένη προσέγγιση. Μια μετα-ανάλυση που συνέκρινε το μακρύ με το βραχύ πρωτόκολλο έδειξε μεγαλύτερο αριθμό ωκυττάρων που αναρροφήθηκαν και υψηλότερα ποσοστά κυήσεων στο μακρύ πρωτόκολλο, αν και ο αριθμός μονάδων γοναδοτροφινών που χρειάστηκαν ήταν μεγαλύτερος (Daya 2000). Όσον αφορά στην καταστολή των γοναδοτροφινών και τον αριθμό των ωκυττάρων που αναρροφήθηκαν,

η μέση ωχρινική φάση του προηγούμενου κύκλου είναι η καλύτερη στιγμή για την έναρξη του GnRH αγωνιστή σε σχέση με τη πρόωμη ή καθυστερημένη ωχρινική φάση (Pellicer et al. 1989, San Roman et al. 1992). Ένα μεγάλο κλινικό πλεονέκτημα του μακρού πρωτοκόλλου είναι ο καλύτερος σχεδιασμός για την λήψη των ωοκυττάρων, εξαιτίας της δυνατότητας καθυστερημένης έναρξης της χορήγησης γοναδοτροφινών μια και η υπόφυση είναι κατασταλαμένη, χωρίς αρνητικές συνέπειες στα αποτελέσματα της εξωσωματικής (Chang et al. 1993, Dimitry et al. 1991). Ένα πιθανό μειονέκτημα της χορήγησης GnRH αγωνιστή στην ωχρινική φάση είναι ότι εκείνη τη χρονική στιγμή μια αυτόματη κύηση δεν μπορεί να αποκλειστεί με βεβαιότητα. Τα σαφή πλεονεκτήματα της χρήσης του μακρού πρωτοκόλλου έχουν οδηγήσει στην χρήση του στην καθημερινή κλινική πράξη (Daya 2000). Ωστόσο η έναρξη της χρήσης των GnRH αγωνιστών έχει οδηγήσει σε αλλαγές στην καθιερωμένη πρακτική της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

2.2 Ανταγωνιστές GnRH

Η άμεση καταστολή και επάνοδος της υποφυσιακής λειτουργίας που προσφέρουν οι GnRH ανταγωνιστές τους κάνει ιδιαίτερα ελκυστικούς για χρήση στην διαδικασία της IVF. Παρόλα αυτά, χρειάστηκαν περισσότερο από τρεις δεκαετίες για να αναπτυχθούν ουσίες, που να είναι ασφαλείς και με κατάλληλα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά για να χρησιμοποιηθούν. Η πρώτη γενιά ανταγωνιστών αναπτύχθηκε με την αντικατάσταση του αμινοξέος “his” στη θέση 2 και “trp” στη θέση 3, αλλά η δραστηριότητα τους ήταν πολύ περιορισμένη. Στους ανταγωνιστές 2^{ης} γενιάς, η δραστηριότητα αυξήθηκε με την ενσωμάτωση ενός αμινοξέος στην θέση 6. Παρόλα αυτά, η κλινική χρήση των ουσιών αυτών είχε ως αποτέλεσμα συχνά αναφυλακτικά επεισόδια λόγω της απελευθέρωσης ισταμίνης. Με την περαιτέρω αντικατάσταση στη θέση 10 αναπτύχθηκαν οι 3^{ης} γενιάς ανταγωνιστές (Huirne et al. 2001). Στη συνέχεια, τα δύο φαρμακευτικά σκευάσματα που αναπτύχθηκαν, το ganirelix (Syntex Research, Palo Alto, CA) και το cetrorelix (Asta Medica, Frankfurt, Germany) αποδείχθηκαν ασφαλή και αποτελεσματικά για χρήση στην IVF. Αυτοί οι τρίτης γενιάς GnRH ανταγωνιστές, εγκρίθηκαν για χρήση στην εξωσωματική γονιμοποίηση το 2001 (Fauser et al. 2005). Οι αναφορές για έκφραση GnRH και GnRH υποδοχέων σε αναπτυσσόμενα έμβρυα ποντικών σε επίπεδο mRNA και πρωτεϊνών δημιούργησε θέμα για τη ασφάλεια χρήσης τους στα έμβρυα. Σε μία μελέτη η επώαση εμβρύων ποντικών με GnRH αγωνιστή ενίσχυσε την προεμφυτευτική εμβρυονική ανάπτυξη δόσοεξαρτώμενα, ενώ, οι GnRH ανταγωνιστές ανέστειλαν την ανάπτυξη (Raga et al. 1999). Επιπλέον, GnRH mRNA και GnRH πρωτεΐνες παράγονται στις ανθρώπινες σάλπιγγες στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου (Casan et al. 2000). Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ασφάλεια από τη χρήση τους στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Σε μία από τις πρώτες μελέτες με 227 παιδιά που γεννήθηκαν μετά από IVF ή ICSI κύκλους, στους οποίους χρησιμοποιήθηκε cetrorelix, αυτό φάνηκε ασφαλές σε σχέση με τα πρωτόκολλα, στα οποία χρησιμοποιήθηκε GnRH αγωνιστής. Σε μια μελέτη σχετικά με τη μορφολογική και ψυχοσωματική έκβαση των νεογνών, που γεννήθηκαν μετά από χορήγηση GnRH-ανταγωνιστών, μετά από παρακολούθηση 2 ετών, παρατηρήθηκε μια συνολική

συχνότητα συγγενών ανωμαλιών 3,4%, η οποία δεν διαφέρει από την αναμενόμενη στο γενικό πληθυσμό (9=246) (Ludwig et al. 2001).

Οι GnRH ανταγωνιστές μπορούν να χορηγηθούν σε οποιαδήποτε στιγμή στη διάρκεια της πρώιμης ή μέσης ωοθυλακικής φάσης του κύκλου, με σκοπό να αποτρέψουν την πρώιμη αιχμή της LH. Πολλές μελέτες πραγματοποιήθηκαν με σκοπό να καθορίσουν την ελάχιστη αποτελεσματική και θεραπευτική δόση για ασθενείς που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση (Albano et al. 1997, "A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group" 1998). Δύο κύριες προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί. Στο πρωτόκολλο της μίας δόσης, μία ένεση 3 mg cetrorelix (το ganirelix δεν υπάρχει σε αυτή την depot μορφή) χορηγείται στην όψιμη ωοθυλακική φάση, τις ημέρες 8 ή 9 του κύκλου της διέγερσης. Αυτό είναι ικανό να αποτρέψει την εκδήλωση αιχμής της LH στο 80% των γυναικών (Olivennes et al. 1998). Στο πρωτόκολλο με χορήγηση πολλαπλών δόσεων GnRH ανταγωνιστή, 0.25 mg cetrorelix ή ganirelix χορηγείται καθημερινά από την 6^η ημέρα της διέγερσης με γοναδοτροφίνες (Albano et al. 1997, "A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group" 1998). Η λογική της έναρξης GnRH ανταγωνιστή τουλάχιστον 5 ημέρες μετά την έναρξη της διέγερσης βασίζεται στις μικρές πιθανότητες να παρατηρηθεί πρώιμη αιχμή της LH στην πρώιμη ωοθυλακική φάση (Diedrich et al. 1994).

Τέσσερις μεγάλες, προοπτικές πολυκεντρικές μελέτες επιχορηγούμενες από τις φαρμακευτικές εταιρίες έχουν πραγματοποιηθεί, συγκρίνοντας την καθημερινή χορήγηση GnRH ανταγωνιστή με μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε διέγερση ωοθηκών (Albano et al. 2000, E.M.E.O.S.Group 2001). Ο κύκλος θεραπείας είχε μικρότερη διάρκεια όταν χρησιμοποιήθηκε ανταγωνιστής GnRH κατά 1-2 ημέρες, και αναπτύχθηκε ελαφρώς μικρότερος αριθμός ωοκυττάρων κατά τη στιγμή της χορήγησης hCG σε σχέση με τη χορήγηση αγωνιστή GnRH. Ως αποτέλεσμα

ο αριθμός των αναρροφηθέντων ωοκυττάρων είχε την τάση να είναι μικρότερος. Σε αυτές τις μελέτες δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά όσον αφορά στο ποσοστό των ωοκυττάρων στην μετάφαση II, ποσοστά γονιμοποίησης και στον αριθμό των εμβρύων καλής ποιότητας. Τα ποσοστά κύησης ήταν ικανοποιητικά και στις δύο ομάδες και στις τέσσερις μελέτες, αλλά σε κάθε μελέτη ο απόλυτος αριθμός σε όλα τα αποτελέσματα ήταν χαμηλότερος στην ομάδα του GnRH ανταγωνιστή. Μια μετά-ανάλυση από πέντε μεγάλες τυχαίοποιημένες μελέτες έδειξε μια συνολική μείωση στο ποσοστό των κυήσεων κατά 5% (OR 0.75; 95% CI, 0.62– 0.97) (Al-Inany et al. 2002). Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι για τα μικρότερα ποσοστά κύησης ίσως να ευθύνονται τα χρησιμοποιούμενα σκευάσματα. Επίσης ότι ο μεγαλύτερος αριθμός ωοκυττάρων και εμβρύων με την χρήση του αγωνιστή επιτρέπει καλύτερη επιλογή αν και ο αριθμός των καλής ποιότητας εμβρύων δεν διαφέρει. Ο GnRH ανταγωνιστής χορηγούνταν την 6^η μέρα της διέγερσης σε αυτές τις μελέτες, γεγονός το οποίο μπορεί να οδήγησε σε μείωση του αριθμού και της ποιότητας των ωοκυττάρων. Σε μελέτες, στις οποίες συγκρίθηκε το σταθερό πρωτόκολλο ανταγωνιστή με το ευέλικτο, κατά το οποίο η καθημερινή χρήση του ανταγωνιστή ξεκίνησε όταν τουλάχιστον ένα ωοθυλάκιο είχε διαστάσεις 14 mm, δεν έδειξε καμία διαφορά στα αποτελέσματα της εξωσωματική εκτός από τη δόση του GnRH ανταγωνιστή η οποία ήταν μειωμένη στο ευέλικτο πρωτόκολλο (Mansour et al. 2003). Όταν αρχίζει η χορήγηση του GnRH ανταγωνιστή, δεν φαίνεται να χρειάζεται αύξηση της δόσης της FSH (Aboulghar et al. 2004, Out et al. 2004, Wikland et al. 2001) ή επιπλέον χορήγηση LH (Cedrin-Durnerin et al. 2004). Το γεγονός ότι η έναρξη του GnRH ανταγωνιστή στην όψιμη ωοθυλακική φάση ενεργοποιεί την ενδογενή αύξηση της FSH μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί στην έναρξη της ωοθηκικής διέγερσης και στη συνέχεια με υποβοήθηση της διέγερσης από εξωγενώς χορηγούμενες γοναδοτροφίνες μετά τη μέση ωοθυλακική φάση μπορεί να βοηθήσει στην επίτευξη πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης (Hohmann et al. 2003). Μια τέτοια προσέγγιση υπόσχεται μια οικονομική και περισσότερο φιλική προς τον ασθενή εναλλακτική στη συνηθισμένη προσέγγιση. Μία υπόθεση, η οποία επίσης διατυπώθηκε ήταν ότι πιθανά η χρήση ανταγωνιστή είχε αρνητικά αποτελέσματα στα ανθρώπινα έμβρυα, μια και υπήρχαν μικρότερα ποσοστά εμφύτευσης στην ομάδα όπου χρησιμοποιήθηκαν υψηλές δόσεις ganirelix (Chian et al. 2000). Παρόλα αυτά, ανεπιθύμητες ενέργειες δεν παρατηρήθηκαν

στα έμβρυα τα οποία καταψύχθηκαν από τους κύκλους αυτούς (Koi et al. 1999). Επιπλέον, μία αναδρομική μελέτη των ποσοστών εγκυμοσύνης μετά από εμβρυομεταφορά κατεψυγμένων τόσο από κύκλους με μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστή ή με ανταγωνιστή δεν έδειξε διαφορές στην εμφύτευση, στις κυήσεις ή στα ποσοστά αποβολών (Seelig et al. 2002).

Η υποστήριξη της ωχρινικής φάσης του κύκλου με hCG ή με προγεστερόνη θεωρείται απαραίτητη σε όλους τους κύκλους, που χρησιμοποιείται ο συνδυασμός γοναδοτροφινών και GnRH-αγωνιστών, γιατί αυτός ο συνδυασμός τεκμηριωμένα οδηγεί σε ωχρινική ανεπάρκεια. Ανεπάρκεια του ωχρού σωματίου παρατηρήθηκε σε μελέτη φάσης II με χρήση GnRH-ανταγωνιστών, στην οποία δεν χρησιμοποιήθηκε υποστήριξη της ωχρινικής φάσης (Albano et al. 1999). Πιθανά λόγω ενεργοποίησης του μηχανισμού αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης η χορήγηση της hCG προκαλεί μέσω της αύξησης της προγεστερόνης, ελάττωση της LH κατά την ωχρινική φάση. Η χρήση ανασυνδυασμένης LH ή με GnRH-αγωνιστή αντί για hCG, που είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί σε κύκλους που χορηγείται GnRH-ανταγωνιστής, θα μπορούσε να επιτρέψει την αποφυγή υποστήριξης της ωχρινικής φάσης. Ωστόσο νεότερα δεδομένα έδειξαν ότι σε κύκλους με ανταγωνιστή και αγωνιστή για πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας, παρόλο που το κύμα της LH που επιτυγχάνεται είναι περισσότερο συμβατό με αυτό του φυσιολογικού κύκλου και ελαττώνει τα ποσοστά του κλινικού συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS), ωστόσο είχε ως αποτέλεσμα ανεπάρκεια της ωχρινικής φάσης λόγω της προκαλούμενης ωχρινόλυσης (Fatemi et al. 2015). Εξ' αιτίας των χαρακτηριστικών αυτών θεωρείται ιδανικό πρωτόκολλο για διέγερση σε γυναίκες δότριες καθώς και σε γυναίκες υψηλού κινδύνου, που δεν υποβάλλονται σε εμβρυομεταφορά στο συγκεκριμένο κύκλο (freeze them all), που εκμηδενίζει και την πιθανότητα OHSS (Leth-Moller et al. 2014).

Η χρήση των ανταγωνιστών θεωρείται ασφαλής τόσο για τις ίδιες τις γυναίκες όσο και για τα νεογνά. Με βάση τα δεδομένα από όλες τις μέχρι σήμερα διαθέσιμες μελέτες, προκύπτει σημαντική μείωση της συχνότητας εμφάνισης του OHSS και μάλιστα μέτριας και βαρείας μορφής (Ron-El et al. 2000). Η ψυχοσωματική ανάπτυξη των νεογνών, που γεννήθηκαν μετά από χορήγηση GnRH-ανταγωνιστών, μετά από παρακολούθηση 2 ετών, ήταν φυσιολογική, ενώ η συχνότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών δεν διαφέρει

από την αναμενόμενη στον γενικό πληθυσμό (Ludwig et al. 2001).

Μια άλλη τέλος εφαρμογή των GnRH-ανταγωνιστών εκτός από τις μέχρι τώρα αναφερθείσες στην εξωσωματική γονιμοποίηση, είναι η εφαρμογή τους σε πρωτόκολλα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας, που συνδυάζονται με προγραμματισμένη επαφή ή σπερματέγχυση. Επίσης, οι GnRH-ανταγωνιστές μπορεί να τύχουν εφαρμογής σε καταστάσεις καλοήθεις και κακοήθεις όπως: σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, ενδομητρίωση, ινομυώματα, καρκίνος του μαστού, καρκίνος του προστάτη (Bouchard et al. 2000, Devroey 2000).

3. Η επίδραση των ωθητικών ορμονών στους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης του υποθάλαμο-υποφυσιακού-ωθητικού άξονα στις διάφορες φάσεις του κύκλου.

Οι ορμόνες που συμμετέχουν στον γεννητικό κύκλο των γυναικών δεν εκκρίνονται σε σταθερά ποσά στη διάρκεια του, αλλά με διαφορετικό ρυθμό στις διάφορες φάσεις του. Οι διακυμάνσεις αυτές, που έχουν ήδη περιγραφεί αναλυτικά σε άλλο σημείο, δείχνουν τη μεγάλη εξάρτηση που υπάρχει μεταξύ των ορμονών αυτών αλλά και την πολυπλοκότητα των μηχανισμών, που ρυθμίζουν τις μεταξύ τους σχέσεις (πίνακας 1).

Σταθερός συνδετικός κρίκος στη λειτουργία είναι οι μηχανισμοί παλίνδρομης αλληλορρύθμισης ο θετικός και ο αρνητικός. Η αναπαραγωγική φάση χρειάζεται πλήρη ανάπτυξη των μηχανισμών αυτών, ώστε να επιτευχθεί ωοθυλακιορρηξία και κατ' επέκταση η επίτευξη της εγκυμοσύνης. Στις ακραίες ηλικιακές φάσεις εφηβείας και εμμηνόπαυσης η λειτουργία των μηχανισμών αυτών μεταβάλλεται. Πριν την εφηβεία η λειτουργία μόνο του αρνητικού μηχανισμού είναι υπεύθυνη για τη μη εμφάνιση των κυκλικών φαινομένων της εμμήνου ρύσεως ενώ κατά την εμμηνόπαυση η αμηνόρροια φαίνεται να οφείλεται σε έκπτωση της λειτουργίας του συνόλου των μηχανισμών.

Follicular phase		Luteal phase		Luteal-follicular transition (intercycle rise of FSH)	
FSH	LH	FSH	LH	Onset	Termination
	Estradiol	Estradiol	Estradiol	Removal of negative action of: Estradiol Inhibin A	Estradiol
Inhibin B	Progesterone	Progesterone	Progesterone		Positive action of: Activin A

Πίνακας 1. Ωθητικές ορμόνες οι οποίες ρυθμίζουν το μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης στην FSH και στην LH στις γυναίκες (Messinis 2006).

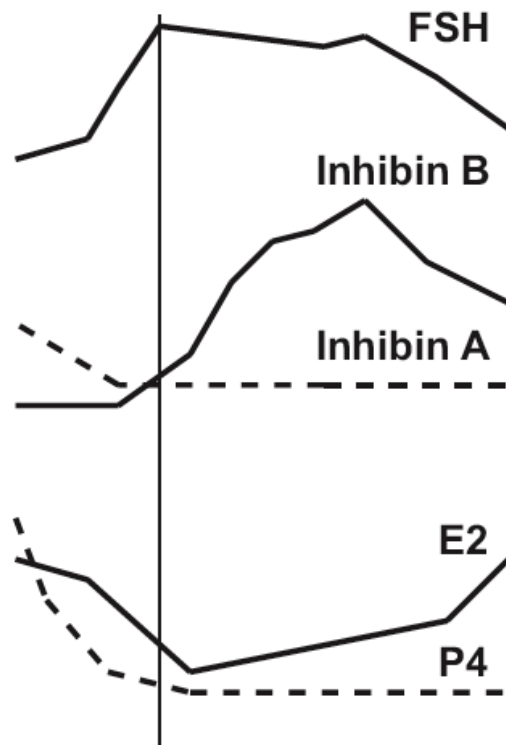
Στο μεγαλύτερο μέρος του φυσιολογικού κύκλου ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης κυριαρχεί, ρυθμίζοντας την έκκριση των ορμονών από την υπόφυση. Το μοτίβο των αλλαγών στα επίπεδα των FSH και LH μπορεί να εξηγηθεί εύκολα από τις αλλαγές στην κυκλοφορία της στάθμης των στεροειδών ορμονών (Roseff et al. 1989, Ross et al. 1970). Αν και τα οιστρογόνα στην ωοθυλακική φάση και η προγεστερόνη στην ωχρινική φάση κυριαρχούν, πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η όλη διαδικασία δεν είναι τόσο απλή. Κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης η προγεστερόνη όπως και οι μη στεροειδείς ουσίες (ανασταλτίνες), που επίσης παράγονται από τις ωοθήκες, επιδρούν περισσότερο ή λιγότερο στην εμφάνιση των μεταβολών του κύκλου.

Ενώ ο αρνητικός μηχανισμός λειτουργίας είναι σχετικά απλός στην κατανόησή του, ο θετικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης προϋποθέτει πιο πολύπλοκες συνεργικές διαδικασίες. Είναι από παλαιά γνωστό ότι η οιστραδιόλη είναι η βασική ορμόνη του θετικού μηχανισμού δράσης των ωοθηκών στον υποθάλαμο-υποφυσιακό άξονα (Ferin et al. 1974). Η οιστραδιόλη ευαισθητοποιεί την υπόφυση στη GnRH και αυξάνει την αυτό-πριμοδότηση της GnRH στα γοναδοτρόφα κύτταρα (Lasley et al. 1975). Η αλληλεπίδραση μεταξύ οιστραδιόλης και GnRH είναι σημαντική για την έκφραση της ενδογενούς αιχμής των γοναδοτροφινών στα μέσα του κύκλου (Hoff et al. 1977).

3.1 Διακυκλική φάση

Οι φυσιολογικοί κύκλοι αποτελούν αλληλένδετα γεγονότα με τον προηγούμενο να ετοιμάζει ορμονικά για τον επόμενο. Η φάση αυτή της μετάβασης από την ωχρινική στην επόμενη ωοθυλακική φάση χαρακτηρίζεται από μία αύξηση της FSH η οποία ονομάζεται “διακυκλική” και φαίνεται ότι ελέγχεται από ωοθηκικές ορμόνες (Εικόνα 1). Η αύξηση ξεκινάει 2–4 ημέρες πριν την έναρξη της εμμήνου ρύσεως, (Miro et al. 2005) και στη διάρκεια της, που ονομάζεται επίσης και «παράθυρο της FSH», πραγματοποιείται η επιλογή του επικρατούντος ωοθυλακίου.

Σημαντικός φαίνεται να είναι ο ρόλος μη στεροειδών ορμονών και συγκεκριμένα των ινχιμπινών στη ρύθμιση του ορμονικού αυτού φαινομένου, ωστόσο τα οιστρογόνα είναι αυτά που καθορίζουν την εμφάνισή του (le Nestour et al. 1993, van Santbrink et al. 1995, Welt et al. 2003). Πριν από την έναρξη της διακυκλικής αύξησης της FSH παρατηρείται μια σταδιακή αλλά σημαντική μείωση της ινχιμπίνης A, των οιστρογόνων και της προγεστερόνης (Groome et al. 1996, Roseff et al. 1989). Έτσι, συμπεραίνεται ότι η διακυκλική αύξηση της FSH ξεκινάει στην όψιμη ωχρινική φάση σαν αποτέλεσμα άρσης του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, ο οποίος καταστέλλει την έκκριση της FSH στη διάρκεια της πρώιμης και μέσης ωχρινικής φάσης. Η ινχιμπίνη B δεν συμμετέχει στον μηχανισμό αυτό, παρόλα αυτά, τα επίπεδα της αυξάνουν σταδιακά και σημαντικά τη στιγμή της αιχμής της FSH και φαίνεται ότι πιθανά καταστέλλει την έκκριση της FSH, περιορίζοντας έτσι το παράθυρο της (Groome et al. 1996, Welt et al. 1997) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Ορμονικές μεταβολές κατά την μετάβαση από την ωχρινική στην νεα ωοθυλακική φάση. (Messinis 2006)

Πιθανή συσχέτιση έχει και η ακτιβίνη A η οποία αυξάνει από τη μέση ωχρινική φάση και προηγείται της διακυκλικής αύξησης της FSH (Baccarelli et al. 2001, Muttukrishna et al. 2000, Muttukrishna et al. 1996), ενώ για τις άλλες μορφές της ακτιβίνης δεν υπάρχουν δεδομένα.

3.2 Ωοθυλακική φάση

3.2.α Η ενεργοποίηση του αρνητικού μηχανισμού, λόγω δράσης ωοθηκικών στεροειδών.

Στην ωοθυλακική φάση του κύκλου, όπως έχει φανεί σε πολλές μελέτες, υπάρχει δυνατότητα καταστολής των κυκλοφορούντων επιπέδων της FSH και της LH μέσω εξωγενώς χορηγούμενων οιστρογόνων (Messinis et al. 1990, Monroe et al. 1972a, Tsai et al. 1971b, Young et al. 1976). Ενώ αρχικά διατυπώθηκε η άποψη ότι και οι δύο γοναδοτροφίνες καταστέλλονται το ίδιο από την έκκριση των οιστρογόνων (Messinis et al. 1990) μετέπειτα έρευνες έδειξαν ότι η έκκριση της FSH και της LH ρυθμίζονται διαφορετικά από τις ωοθήκες (Daforoulos et al. 2004). Σε μια σειρά πειραμάτων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Daforoulos et al. 2004) η χορήγηση οιστρογόνων και προγεστερόνης, ενώ επαναφέρουν σε φυσιολογικά επίπεδα την LH, μόνο κατά ένα μέρος επηρεάζουν την έκκριση της FSH και ότι άλλες ήδη γνωστές ωοθηκικές μη στεροειδείς ορμόνες μπορεί να είναι απαραίτητες για τη ρύθμισή της. Τέτοιες μη στεροειδείς ουσίες είναι π.χ. οι ινχιμπίνες (Bicsak et al. 1986, Roberts et al. 1993) οι οποίες εξ ορισμού αναστέλλουν μόνο τη βασική έκκριση της FSH από την υπόφυση. Αν και «in vitro» δεδομένα έχουν δείξει ότι κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες η έκκριση της LH μπορεί επίσης να επηρεάζεται (Farnworth et al. 1988), η ορμόνη αυτή είναι πολύ λιγότερο ευαίσθητη σε καταστολή απ' ό,τι η FSH (Attardi et al. 1991). Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι στη διάρκεια της επιλογής του ωοθυλακίου, το ωοθυλάκιο το οποίο μεγαλώνει προκειμένου να γίνει κυρίαρχο παράγει ινχιμπίνη Β (de Kretser et al. 2002), της οποίας τα επίπεδα είναι υψηλά στην πρώιμη και μέση ωοθυλακική φάση και είναι πολύ χαμηλά στην όψιμη ωοθυλακική και ωχρινική φάση (Groome et al. 1996). Σε αντίθεση, τα επίπεδα της ινχιμπίνης Α είναι πολύ χαμηλά στην ωοθυλακική φάση και αυξάνουν αξιοσημείωτα στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης, δείχνοντας ότι αυτή η μορφή παράγεται κυρίως από το ωχρό σωματίο (Groome et al. 1996). Στην μελέτη που αναφέρθηκε (Daforoulos et al. 2004), κατά τη δεύτερη προκληθείσα ωοθυλακική φάση, οι ήδη κατεσταλμένες τιμές της FSH παρέμειναν

σταθερές, παρά τις συνεχώς αυξανόμενες τιμές των οιστρογόνων. Με βάση τα δεδομένα αυτά φαίνεται ότι η οιστραδιόλη ρυθμίζει διαφορετικά την έκκριση της FSH και της LH στις γυναίκες σε συνεργασία με τις υπόλοιπες μη στεροειδείς ωοθηκικές ορμόνες. Η αδυναμία, επίσης, της οιστραδιόλης σε τιμές ωοθυλακικής φάσης να διατηρήσει χαμηλές τις τιμές της LH σε γυναίκες με παρουσία μη λειτουργικών ωοθηκών υποδεικνύει ότι στη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου η οιστραδιόλη δεν είναι ο μόνος παράγων από τον οποίο εξαρτάται ο αρνητικός μηχανισμός αλληλορρύθμισης, για την έκκριση της LH. Είναι πιθανό ότι η ενδογενής έκκριση προγεστερόνης, επίσης συμβάλει στον αρνητικό μηχανισμό μια και στην παραπάνω εργασία οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης ήταν χαμηλότερες από ότι στην ωοθυλακική φάση του φυσιολογικού κύκλου (Daforoulos et al. 2004). Η πιθανή δράση αυτή της προγεστερόνης προκύπτει και μέσω πειραματικών διαδικασιών με τελείως διαφορετικό μηχανισμό όπως π.χ. με χορήγηση εκλεκτικών αναστολέων των οιστρογονικών υποδοχέων ή αναστολέων αρωματάσης. Υπήρξε αρκετός προβληματισμός σχετικά με την πηγή της προγεστερόνης στη φάση αυτή του κύκλου. Αν και μια μελέτη υπέδειξε τα επινεφρίδια ως πηγή παραγωγής της (Judd et al. 1992) από άλλες μελέτες έχει φανεί ότι οι ωοθήκες παράγουν προγεστερόνη ακόμη και στην ωοθυλακική φάση του κύκλου (Alexandris, Milingos et al. 1997).

3.2.β Ο ρόλος των μη στεροειδικών ορμονών στους αρνητικούς μηχανισμούς.

Τεκμηριωμένη συσχέτιση μεταξύ ινχιμπινών και γοναδοτροφινών έχει φανεί από πειράματα σε ζώα όπου η αδρανοποίηση της ινχιμπίνης οδήγησε σε αύξηση της FSH (Attardi et al. 1992, Kishi et al. 1996, Rivier et al. 1986) ενώ χορήγησή ινχιμπίνης Α μπλόκαρε την αιχμή της FSH και κατέστειλε τα επίπεδα πλάσματος της FSH αντίστοιχα (Molskness et al. 1996, Rivier et al. 1991b, Stouffer et al. 1994, Tilbrook et al. 1993). Τα δεδομένα που υπάρχουν σε ανθρώπους μόνο έμμεσα υποδεικνύουν ότι η ινχιμπίνη συμμετέχει στον έλεγχο της έκκρισης της FSH (Daforoulos et al. 2004, Lind et al. 1978, Messinis et al. 1988a). Μελέτες σε

προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο έχουν δείξει σημαντική μείωση της ινχιμπίνης, της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης αμέσως μετά την ωθηκεκτομία (Alexandris et al. 1997, Muttukrishna et al. 2002) αλλά με διαφορά στον τύπο της ινχιμπίνης ανάλογα με το εάν η επέμβαση γινόταν στην ωθυλακική ή στην ωχρινική φάση (Muttukrishna et al. 2002). Αυτά τα δεδομένα επιβεβαιώνουν ότι η ινχιμπίνη Β κυρίως παράγεται στην ωθυλακική φάση του κύκλου και η ινχιμπίνη Α στην ωχρινική φάση. Η συσχέτιση ωστόσο των ορμονών αυτών με την FSH προκύπτουν από σύγκριση περιεμμηνοπαυσιακών και νεότερων γυναικών (Burger et al. 1998, Kishi et al. 1996, Klein et al. 2004) και μετρήσεις σε γυναίκες με επικείμενη πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια (Welt et al. 2005).

Ο ρόλος άλλων μη στεροειδών ουσιών, όπως η ακτιβίνη και η φολιστατίνη, είναι λιγότερα ξεκάθαρη. Δεδομένα σε ζώα έχουν δείξει ότι η ακτιβίνη διεγείρει την έκκριση της FSH (Ling et al. 1986, McLachlan et al. 1989, Muttukrishna et al. 2004, Rivier et al. 1991a, Stouffer et al. 1993, Vale et al. 1986). Σε γυναίκες, λόγω δυσκολιών στη μεθοδολογία, μόνο η ακτιβίνη Α έχει μετρηθεί και έχει διαπιστωθεί ότι έχει διακυμάνσεις στη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου (Muttukrishna et al. 1996). Η φολιστατίνη αρχικά θεωρήθηκε αγωνιστής της ινχιμπίνης (Robertson et al. 1987, Ueno et al. 1987), αλλά στη συνέχεια βρέθηκε ότι είναι μια δεσμευτική πρωτεΐνη για την ακτιβίνη, η οποία μπορεί να μην έχει κανένα άλλο βιολογικό ρόλο (Nakamura et al. 1990) αν και μετέπειτα μελέτες έδειξαν πιθανή συσχέτιση (Tilbrook et al. 1995).

Ο ρόλος μιας άλλης μη στεροειδούς ουσίας που εκφράζεται στα κοκκώδη κύτταρα (Weenen et al. 2004), της αντιμυλλέριας ορμόνης anti-Mullerian hormone (AMH) δεν είναι ξεκάθαρος και έχει βρεθεί αρνητική συσχέτιση με την ηλικία, την FSH και τις ωθηκικές εφεδρείες (de Vet et al. 2002) (van Rooij et al. 2002).

3.3 Μεσοκύκλιος περίοδος

Η εντονότερη εκδήλωση των ορμονικών αλληλεπιδράσεων κατά το μέσον του κύκλου έχουν ως αποτέλεσμα την πυροδότηση του μεσοκύκλιου γοναδοτροφικού κύματος, η παρουσία του οποίου είναι σταθερό εύρημα ενός φυσιολογικού γεννητικού κύκλου και απαραίτητο προκειμένου να επιτευχθεί ωοθυλακιορρηξία. Για την δημιουργία του κύματος απαραίτητη είναι η ενεργοποίηση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, του οποίου η οιστραδιόλη είναι ο κύριος παράγοντας πυροδότησης. Ιδιαίτερη είναι η σημασία και των υπολοίπων στεροειδών και μη στεροειδών ορμονών. Η προγεστερόνη θεωρείται ως ένας από τους παράγοντες, που ευνοούν και διευρύνουν το κύμα των γοναδοτροφινών.

Η ενεργοποίηση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης αποτελεί, ωστόσο, πολύπλοκη διαδικασία, της οποίας αναπόσπαστο τμήμα είναι η ενεργοποίηση του αυτοεπαγωγικού φαινομένου 'self-priming effect' της GnRH στην υπόφυση (Hoff et al. 1979, Lasley et al. 1975, Wang et al. 1976). Αυτό οφείλεται στον αυξημένο αριθμό υποδοχέων GnRH στα γοναδοτρόφα κύτταρα (Laws et al. 1990), ενώ μπορεί επίσης να σχετίζεται με αυξημένη διαθεσιμότητα της GnRH στην υπόφυση. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η GnRH μπορεί να μεταβάλει σύνθεση της LH, ενώ η οιστραδιόλη επηρεάζει την LH μέσω της GnRH. Ένα διφασικό πρότυπο απάντησης της LH στη GnRH έχει επίσης διαπιστωθεί «in vitro». Η ενδοφλέβια χορήγηση συνεχόμενων παλμών GnRH, έχουν βοηθήσει στη διάκριση αυτών των δύο λειτουργικών δεξαμενών. (Hoff et al. 1977, Lasley et al. 1975, Wang et al. 1976, Yen et al. 1976).

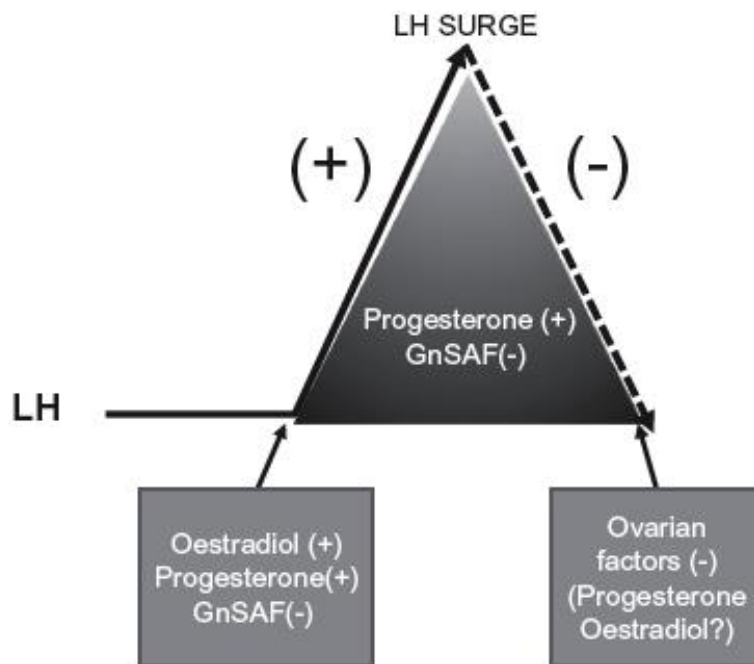
Μεγάλη, τέλος συμβολή στην κατανόηση και επεξήγηση των φαινομένων του φυσιολογικού κύκλου αλλά και των κύκλων διέγερσης αποτέλεσε η διαπίστωση της ύπαρξης του παράγοντα άμβλυνσης του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF), ο οποίος είναι μια μη στεροειδής ωθητική ουσία, για την οποία υπάρχουν ενδείξεις ότι αμβλύνει το ενδογενές κύμα της LH και μειώνει την υποφυσιακή απάντηση στη GnRH σε γυναίκες υπό συνθήκες πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης (Messinis et al. 1985, Messinis et al. 1986, Messinis et al. 1989).

Η μεσοκύκλια αιχμή της LH έχει διάρκεια 48–72 ώρες (Hoff et al. 1983, Messinis et al. 1988c, Shoham et al. 1995). Οι παράγοντες, ωστόσο, οι οποίοι ρυθμίζουν τον τερματισμό του κύματος της LH κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου δεν είναι ξεκάθαροι.

3.3.α Η δράση των ωοθηκικών στεροειδών και η έναρξη του μεσοκύκλιου κύματος της LH.

Όπως έχει φανεί από πολλές μελέτες η οιστραδιόλη είναι ο κύριος παράγοντας που πυροδοτεί το ενδογενές κύμα της LH στη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου γυναικών όταν ξεπεράσει ένα όριο για συγκεκριμένη χρονική περίοδο (Karande et al. 1990, Karsch et al. 1973, Keye et al. 1975, Liu et al. 1983, March et al. 1979, Young et al. 1976). Έχει δειχθεί ότι το όριο αυτό είναι περί τα 200 pg/ml και ο απαιτούμενος χρόνος είναι τουλάχιστον 48 ώρες (Karande et al. 1990, Simon et al. 1987, Young et al. 1976). Ακόμη και υπέρφυσιολογικές τιμές οιστραδιόλης, λόγω εξωγενούς χορήγησης της, μπορούν να πυροδοτήσουν ενδογενές κύμα της LH (Messinis et al. 1992). Η αλληλεπίδραση μεταξύ οιστραδιόλης και GnRH είναι σημαντική για την επίτευξη του κύματος της LH (Hoff et al. 1977).

Εικόνα 2.



Εικόνα 2. Ο θετικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Οι παράγοντες οι οποίοι συμμετέχουν στην έναρξη, ενίσχυση και τερματισμό του κύματος της LH (Messinis et al. 2014).

Ο βαθμός στον οποίο άλλες ορμόνες, όπως για παράδειγμα η προγεστερόνη, συμμετέχουν στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης στα μέσα του κύκλου δεν είναι ξεκάθαρο. Πειράματα σε γυναίκες έχει δείχθει ότι η προγεστερόνη μπορεί να πυροδοτήσει το θετικό μηχανισμό μόνο εάν έχει προηγηθεί η χορήγηση οιστρογόνων, ακόμη και εάν ο κατάλληλος ουδός οιστρογόνων δεν έχει επιτευχθεί (Chang et al. 1978, March et al. 1979). Υπάρχει ωστόσο διαφωνία στην βιβλιογραφία για το κατά πόσο η έκκριση προγεστερόνης και έτσι η συγκέντρωσή της στο αίμα αυξάνει λίγο πριν την έναρξη της μεσοκύκλιας αιχμής της LH (Djahanbakhch et al. 1984, Johansson et al. 1969, Laborde et al. 1976, Landgren et al. 1977, Thorneycroft et al. 1974). Σε μία μελέτη, στην οποία δείγματα αίματος ελήφθησαν από γυναίκες κάθε 2 ώρες για 5 ημέρες περί την ωοθυλακιορρηξία,

παρατηρήθηκε σαφής αύξηση της προγεστερόνης πριν από την έναρξη της αιχμής της LH (Hoff et al. 1983). Είναι λοιπόν πιθανό να υπάρχει ευοδωτικός ρόλος της προγεστερόνης στα μέσα του κύκλου. Σε πειράματα σε γυναίκες, η χορήγηση προγεστερόνης προήγαγε την έναρξη της πυροδοτούμενης από οιστρογόνα αιχμής της LH (Chang et al. 1978, Liu et al. 1983, Messinis et al. 1990). Επίσης, σε ποντίκια η προγεστερόνη ενίσχυσε την προκαλούμενη από οιστρογόνα έκκριση της GnRH από το μέσο βασικό υποθάλαμο (Miyake et al. 1982), ενώ το αντιπρογεστιρινοειδές μίφεπριστόνη “μπλόκαρε” την μεσοκύκλια αιχμή των γοναδοτροφινών μετά την ανάπτυξη του επικρατούντος ωοθυλακίου (Batista et al. 1992). Αν και ο ρόλος της κυκλοφορούσας προγεστερόνης στο θετικό μηχανισμό γυναικών απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση, δεδομένα από ωοθηκεκτομηθέντες ποντικούς υπό οιστραδιόλη αλλά με κατεσταλμένους τους προγεστερινικούς υποδοχείς, έδειξαν ότι για την για την ενεργοποίηση της αυτοπριμοδότησης της GnRH και τη δημιουργία κύματος των γοναδοτροφινών ήταν απαραίτητη η ενεργοποίηση των υποδοχέων της προγεστερόνης (Chappell et al. 1999). Επιπλέον, πληροφορίες από ωοθηκεκτομηθέντες και επινεφριδεκτομηθέντες αρουραίους δείχνουν ότι η σύνθεση νευροπρογεστερόνης στον υποθάλαμο κάτω από την επίδραση οιστραδιόλης είναι απαραίτητη για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού της ορμόνης αυτής (Micevych et al. 2003). Επίσης, δεδομένα σε αρουραίους έχουν δείξει ότι τα οιστρογόνα προάγουν την «de novo» σύνθεση προγεστερόνης από χοληστερόλη στον υποθάλαμο, το οποίο παίζει ρόλο στην έναρξη του κύματος της LH (Soma et al. 2005). Είναι πιθανό, λοιπόν, ότι προγεστερινικοί μηχανισμοί συμπεριλαμβανομένων των προγεστερινικών υποδοχέων συμμετέχουν στον προκαλούμενο από οιστρογόνα θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης, ρυθμίζοντας έτσι την έναρξη της αιχμής της LH.

Τα σημεία δράσης της οιστραδιόλης για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού είναι τόσο ο υποθάλαμος όσο και η υπόφυση (Xia et al. 1992). Προωοθυλακιορρηκτική αιχμή της GnRH έχει ανιχνευθεί σε προβατίνες (Moenter et al. 1991). Παρόλα αυτά, αιχμή της LH έχει επιτευχθεί με οιστρογόνα σε πιθήκους χωρίς παραγωγή GnRH (Ferin et al. 1979). Σε γυναίκες, αν και τα δεδομένα είναι ελλιπή, μια μελέτη έδειξε αύξηση στην ανοσοενεργή GnRH του πλάσματος, ως

αποτέλεσμα χορήγησης οιστρογόνων, η οποία προηγήθηκε της αύξησης της LH και της FSH (Miyake et al. 1983). Είναι πιθανό, λοιπόν, ότι το αρχικό σημείο της έναρξης του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης να είναι η υπόφυση, με τη συμμετοχή όμως και της GnRH (Knobil 1988). Μια μελέτη έδειξε ότι σε αρουραίους η άμεση δράση της οιστραδιόλης στην πρόσθια υπόφυση είναι απαραίτητη για το θετικό παλίνδρομο μηχανισμό της έκκρισης της LH (Yin et al. 2002). Η προγεστερόνη επίσης, φαίνεται ότι ασκεί δράση για εκδήλωση του θετικού μηχανισμού μέσω του υποθαλάμου (Terasawa et al. 1982). Ο θετικός μηχανισμός της οιστραδιόλης στην έκκριση των γοναδοτροφινών πραγματοποιείται μέσω οιστρογονικών υποδοχέων (ER). Το εάν αυτό περιλαμβάνει ERα ή ERβ ή και τους δύο δεν είναι ξεκάθαρο. Και οι δύο τύποι υποδοχέων υπάρχουν στα γοναδοτρόφα κύτταρα (Mitchner et al. 1998), ενώ δεδομένα σε αρουραίους έχουν δείξει ότι τα οιστρογόνα μπορεί να ρυθμίζουν τους υποδοχείς τους καθώς και την ανταπόκριση της υπόφυσης σε αυτούς (Schreihofner et al. 2000). Η δράση της οιστραδιόλης επίσης πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση αλλαγών σε νευροδιαβιβαστές στον υποθάλαμο, όπως η β-ενδορφίνη, της οποίας οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα αρχίζουν να αυξάνουν 2 ημέρες πριν από την αιχμή της LH (Laatikainen et al. 1985).

3.3.β Το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο, ο ρόλος του στη δημιουργία του κύματος της LH και οι παράγοντες που το επηρεάζουν.

Το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο της GnRH αποτελεί εξαιρετικά σημαντικό χαρακτηριστικό στη λειτουργία του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου και συγκεκριμένα στην επίτευξη του κύματος της LH. Αποτελεί τη διαδικασία της αυτό-πριμοδότησης της GnRH, μια διαδικασία με την οποία η ίδια η ορμόνη προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας της, με τελικό αποτέλεσμα την αυξανόμενη απάντηση της υπόφυσης στην έκκριση LH (Aiyer et al. 1974, Bremner et al. 1974). Πράγματι έχει διαπιστωθεί διαφορετική απάντηση σε μεμονωμένη διέγερση με GnRH απ' ότι σε επανελάμβανόμενη παλμική διέγερση (Evans et al. 1983, Hoff et al. 1977,

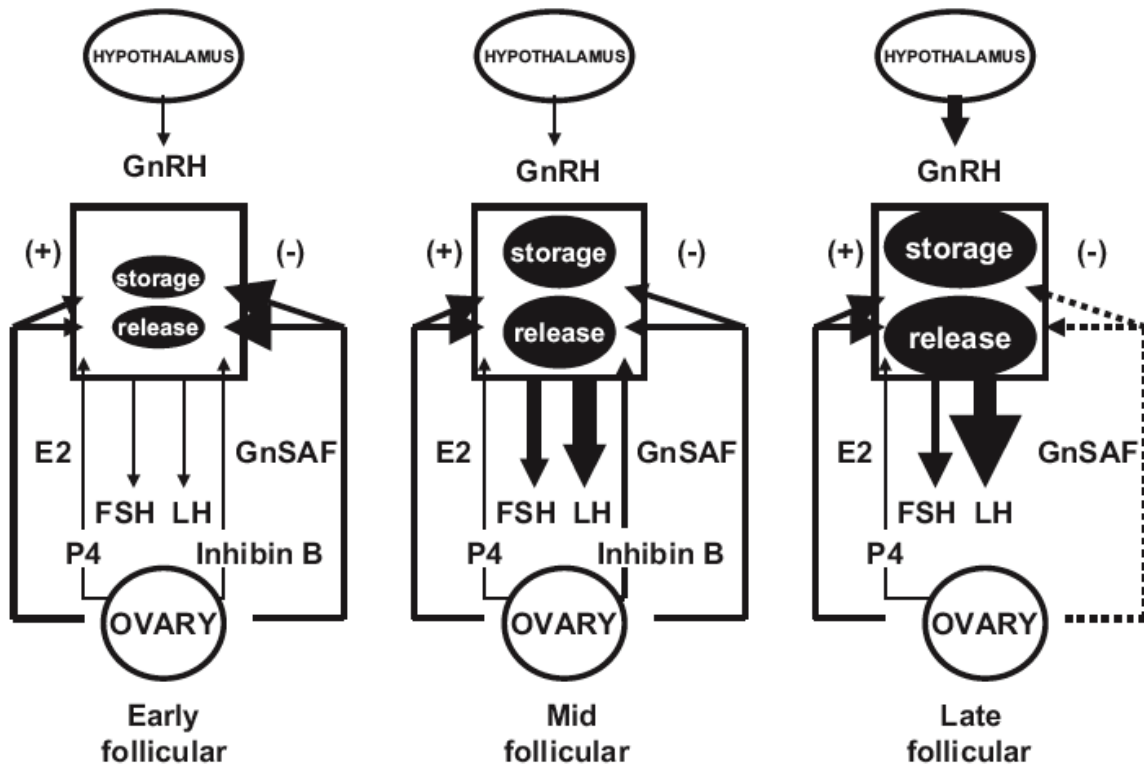
Loughlin et al. 1984, Wang et al. 1976). Είναι πλέον τεκμηριωμένη η διάκριση δύο λειτουργικών δεξαμενών έκκρισης γοναδοτροφινών στα γοναδοτρόφα κύτταρα (Hoff et al. 1977, Lasley et al. 1975, Wang et al. 1976, Yen et al. 1976). Το πρότυπο απάντησης κατά το οποίο στη δεύτερη δόση της GnRH παρατηρείται μεγαλύτερη απάντηση σε έκκριση LH απ' ό,τι στην πρώτη, παρατηρείται σε παρουσία οιστρογόνων και ονομάζεται αυτοεπαγωγικό φαινόμενο 'the self-priming effect' της GnRH στην υπόφυση (Hoff et al. 1979, Lasley et al. 1975, Wang et al. 1976). Η ευαισθητοποιός δράση της οιστραδιόλης φαίνεται ότι πραγματοποιείται με διάφορους μηχανισμούς, ωστόσο αναστέλλεται στη διάρκεια της πρώιμης και μέσης ωοθυλακικής φάσης και ευοδώνεται στην όψιμη ωοθυλακική φάση του φυσιολογικού κύκλου. (Messinis et al. 1994, Messinis et al. 1998).

Εναλλακτικά, έχει προταθεί ότι οι ωοθήκες στη διάρκεια της πρώιμης-μέσης ωοθυλακικής φάσης παράγουν μια ουσία η οποία είναι ικανή να ανταγωνίζεται την ευαισθητοποιώ δράση της οιστραδιόλης στα υποφυσιακά γοναδοτρόφα. Μια τέτοια ουσία θα μπορούσε να είναι ο παράγοντας άμβλυνσης του κύματος των γοναδοτροφινών gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF) ο οποίος σε γυναίκες με διέγερση ωοθηκών ελαττώνει την απάντηση στην GnRH και and εξασθενεί το ενδογενές κύμα της LH (Messinis et al., 1985; Messinis and Templeton, 1989). Η προγεστερόνη δεν είναι πιθανό να έχει αντίστοιχη δράση και η δράση της στην ωοθυλακική φάση, αν και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, πιθανά είναι να ευαισθητοποιεί την υπόφυση στην GnRH και διευκολύνει την θετική δράση της οιστραδιόλης.

3.3.γ Ο ρόλος του GnSAF στην άμβλυνση του κύματος της LH

Ένας παράγοντας που έχει θεωρηθεί σημαντικός, για τον ρόλο του στο κύμα της LH, είναι ο παράγοντας άμβλυνσης του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF), ο οποίος είναι μια μη στεροειδής ωοθηκική ουσία, της οποίας η παρουσία φάνηκε σε καταστάσεις πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης λόγω υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Messinis et al. 1985, Messinis et al. 1986, Messinis et al. 1989). Παρόμοιος αλλά με σημαντικές διαφορές (Fowler et al. 1996) είναι ο ο παράγοντα

αναστολής του γοναδοτροφικού κύματος (GnSIF) που περιγράφηκε σε πιθήκους και αρουραίους (Geiger et al. 1980, Koppelaar et al. 1992, Sopolak et al. 1984). Το μοριακό βάρος του GnSAF κυμαίνεται από 12.5 έως 69 kDa (Danforth et al. 1995, Fowler et al. 2002, Pappa et al. 1999, Tio et al. 1994) και εμφανίζει ομοιότητα στο καρβοξυτελικό άκρο με την ανθρώπινη αλβουμίνη (HSA). Πολλές μελέτες επίσης έχουν δείξει την «in vivo» βιοδραστικότητα του GnSAF στη διάρκεια διέγερσης γυναικών με FSH (Messinis et al. 1991a, Messinis et al. 1996a, Messinis et al. 1994, Messinis et al. 1993c). Έχει θεωρηθεί ότι η FSH διεγείρει την παραγωγή GnSAF από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια αλλά όχι από το ωχρό σωμάτιο (Messinis et al. 1996a). Τέλος αν και η βιοδραστικότητα του GnSAF έχει δείξει κατά τη διέγερση ωοθηκών, είναι πιθανό να παίζει ρόλο και κατά το φυσιολογικό καταμήνιο κύκλο επηρεάζοντας την έκκριση των γοναδοτροφινών (Fowler et al. 1990, Fowler et al. 2003, Fowler et al. 2001, Messinis 2003, Messinis et al. 1991a, Messinis et al. 1993b, Messinis et al. 1994, Messinis et al. 2002) (Εικόνα 3). Η δραστηριότητά του μειώνεται στην όψιμη ωοθυλακική φάση και και στο μέσο του κύκλου, διευκολύνοντας την ευαισθητοποιό δράση της οιστραδιόλης στην υπόφυση και την πλήρη έκφραση του ενδογενούς κύματος της LH. Φαίνεται ότι ο ρόλος του GnSAF στους ανθρώπους είναι να αμβλύνει το κύμα της LH και όχι να αποτρέπει την εμφάνισή του (Messinis et al. 2001, Taylor et al. 1995).



Εικόνα 3. Ο γεννητικός άξονας στη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου (Messinis 2006).

3.3.δ Τερματισμός του κύματος της LH

Η λιγότερο ίσως μελετημένη φάση του φυσιολογικού κύκλου είναι αυτή του τερματισμού του κύματος της LH. Η μεσοκύκλια αιχμή της LH έχει διάρκεια 48–72 ώρες (Hoff et al. 1983, Messinis et al. 1988c, Shoham et al. 1995). Μετά από την αιχμή παρατηρείται μια περίοδος πτώσης της τιμής της LH μέχρι τον τερματισμό του κύματος. Οι παράγοντες, ωστόσο, οι οποίοι εμπλέκονται στον τερματισμό δεν είναι ξεκάθαροι. Για πολλά χρόνια θεωρήθηκε ότι ο τερματισμός οφειλόταν στη μείωση των τιμών των οιστρογόνων. Πράγματι, έχει παρατηρηθεί ότι μετά την έναρξη του κύματος της LH, οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης στο αίμα μειώνονται. Εν τούτοις, τερματισμός έχει παρατηρηθεί ακόμη και σε περιπτώσεις όπου υψηλά επίπεδα οιστρογόνων διατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια του κύματος της LH (Liu et al. 1983). Επιπρόσθετα, μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι η οιστραδιόλη είναι σημαντική για την πυροδότηση του κύματος αλλά δεν είναι απαραίτητη μετά την έναρξή του (Evans et al. 1997). Παρόλα αυτά, δεδομένα σε αρουραίους έδειξαν ότι τα οιστρογόνα μπορούν να μειώσουν τους πρωτεϊνικούς υποδοχείς ERα και ERβ και να αυξήσουν ένα κερματισμένο μόριο του υποδοχέα (ER product-1) το οποίο καταστέλλει τη δραστικότητα και των δύο τύπων υποδοχέων « in vivo» και σε κυτταρικές σειρές, υποδεικνύοντας ότι αυτός μπορεί να είναι ένας μηχανισμός μέσω του οποίου αυτά τα στεροειδή περιορίζουν το θετικό παλίνδρομο μηχανισμό (Schreihofner et al. 2002, Schreihofner et al. 2000). Πιο πρόσφατα δεδομένα ωστόσο, έχουν δείξει τη μη εμφάνιση του κύματος της LH σε ωθηκεκτομημένους αρουραίους στη διάρκεια χρόνιας θεραπείας με οιστραδιόλη χωρίς καμία αλλαγή στο ποσοστό των κυττάρων GnRH τα οποία εκφράζουν υποδοχείς ERα ή ERβ (Legan et al. 2003).

Μια άλλη ορμόνη που πιθανά εμπλέκεται είναι η προγεστερόνη, τα επίπεδα της οποίας στον ορό στις γυναίκες αυξάνουν σταδιακά από την έναρξη έως το τέλος του κύματος της LH και συνεχίζουν να παραμένουν αυξημένα στην ωχρινική φάση του κύκλου (Hoff et al. 1983). Είναι πιθανό η αύξηση της προγεστερόνης να συνεισφέρει στον τερματισμό του κύματος της LH μέσω ενός αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Πειραματικά δεδομένα σε γυναίκες

έχουν δείξει ότι όταν κύμα της LH πυροδοτήθηκε από εξωγενή χορήγηση οιστραδιόλης, οι τιμές της LH ελαττώθηκαν μετά την αιχμή σε τιμές πριν από το κύμα μόνο μετά από χορήγηση προγεστερόνης (Messinis et al. 1990). Μια νεότερη μελέτη έδωσε περαιτέρω στοιχεία για το μηχανισμό, ο οποίος είναι υπεύθυνος για τον τερματισμό του κύματος της LH σε γυναίκες (Daforoulos et al. 2006). Συγκεκριμένα, ο θετικός παλίνδρομος μηχανισμός με εξωγενή χορήγηση οιστραδιόλης μελετήθηκε σε δύο κύκλους, σε γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο, οι οποίες υποβλήθηκαν σε ωθηκεκτομία την 3^η μέρα του δευτέρου κύκλου. Ενδογενές κύμα της LH επιτεύχθηκε με χορήγηση οιστραδιόλης τις ημέρες 3 έως 5 του κύκλου και αυτό ήταν συγκρίσιμο στους δύο κύκλους μέχρι την επίτευξη του κύματος. Καθοδικό σκέλος, ωστόσο παρατηρήθηκε μόνο στον πρώτο κύκλο μελέτης των γυναικών, όταν δηλαδή οι ωθήκες ήταν άθικτες. Σε αντίθεση, στο δεύτερο κύκλο, κατά τον οποίο οι ωθήκες είχαν αφαιρεθεί τα επίπεδα της LH και της FSH δεν μειώθηκαν αλλά κυμάνθηκαν γύρω από τις τιμές, που είχαν κατά την αιχμή του κύματος για όλη την πειραματική περίοδο (Daforoulos et al. 2006). Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι ο τερματισμός του κύματος της LH, που δημιουργείται από χορήγηση οιστρογόνων, δεν οφείλεται σε εξάντληση των αποθηκών της υπόφυσης αλλά ελέγχεται από ωθητικούς παράγοντες. Καθώς οι τιμές της προγεστερόνης ελαττώθηκαν μετά την ωθηκεκτομία και ήταν χαμηλότερες, απ' ότι στις αντίστοιχες μέρες του πρώτου πειραματικού κύκλου, κατά τον οποίο υπήρχαν οι ωθήκες, πιθανόν αυτή η στεροειδής ορμόνη να συμμετέχει στο μηχανισμό τερματισμού του κύματος. Μια μείωση στη συχνότητα παλμών της GnRH στην όψιμη σε σχέση με την πρώιμη ή μέση ωθυλακική φάση (Adams et al. 1994) μπορεί να είναι μέρος του μηχανισμού δράσης της προγεστερόνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών.

3.4 Ωχρινική φάση, επικράτηση του αρνητικού μηχανισμού.

Σε όλη την ωχρινική φάση του κύκλου παρατηρούνται χαμηλές τιμές τόσο της FSH όσο και της LH λόγω της ενεργοποίησης των αρνητικών μηχανισμών από τις αυξημένες τιμές της οιστραδιόλης αλλά κυρίως της προγεστερόνης (Πίνακας 1). Από δεδομένα, που έχουν προκύψει από γυναίκες που υποβλήθηκαν σε ωθηκεκτομία στην ωχρινική φάση του κύκλου, φάνηκε η απουσία των δύο αυτών στεροειδών ορμονών οδηγεί σε αύξηση της FSH και της LH (Alexandris et al. 1997), με την χορήγηση μόνο οιστραδιόλης να καθυστερεί την αναμενόμενη αύξηση των συγκεντρώσεων της FSH και της LH κατά περίπου 3 ημέρες (Messinis et al. 2002) ενώ πλήρη αποτροπή της αύξησης να επιτυγχάνεται με τη συγχορήγηση οιστραδιόλης προγεστερόνης (Messinis et al. 2002).

Στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης, η συχνότητα των παλμών της GnRH μειώνεται, ενώ το εύρος αυξάνεται (Filicori et al. 1986). Αν και αυτό μπορεί να οφείλεται στις υψηλές συγκεντρώσεις της προγεστερόνης (Soules et al. 1984), φαίνεται ότι τόσο η οιστραδιόλη όσο και η προγεστερόνη είναι απαραίτητα για να διατηρηθεί η κατασταλτική δράση τους τους (Nippoldt et al. 1989). Η κατασταλτική δράση των δύο αυτών ορμονών στην έκκριση των γοναδοτροφινών πιθανά πραγματοποιείται μέσω αύξησης της δραστηριότητας β-ενδορφινών στον υποθάλαμο (Wehrenberg et al. 1982).

Όσον αφορά άλλες μη στεροειδής ορμόνες, φαίνεται ότι οι δύο μορφές της ινχιμπίνης συμμετέχουν στον έλεγχο έκκρισης της FSH με την ινχιμπίνη A να επηρεάζει κυρίως στην ωχρινική φάση, ενώ την ινχιμπίνη B στην ωοθυλακική φάση του κύκλου (Danforth et al. 1998, Muttukrishna et al. 2000, Santoro et al. 1999, Welt et al. 1999).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. Σκοπός της μελέτης

Ο σκοπός της παρούσης μελέτης ήταν η περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών, που ρυθμίζουν την εμφάνιση και τα επιμέρους χαρακτηριστικά του κύματος της LH. Μελετήθηκαν οι δράσεις των ωθητικών στεροειδών ορμονών (οιστρογόνα και προγεστερόνη) καθώς και άλλων χορηγούμενων ουσιών (ανταγωνιστές της GnRH) στα χαρακτηριστικά του προκαλούμενου από εξωγενώς χορηγούμενα οιστρογόνα, ενδογενούς κύματος της LH στις γυναίκες. Ειδικότερα, η μελέτη είχε σκοπό:

α) να διερευνήσει τους μηχανισμούς, μέσω των οποίων οι ωθήκες επηρεάζουν την έκκριση των γοναδοτροφινών και πιο συγκεκριμένα, να μελετήσει το θετικό μηχανισμό επίδρασης της προγεστερόνης στην εκδήλωση και την πιθανή δράση της στον τερματισμό του, σε γυναίκες αμέσως μετά από ωθηκεκτομία, καθώς επίσης β) να διερευνήσει τη δυνατότητα εξωγενώς χορηγούμενων οιστρογόνων να προκαλέσουν θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης σε γυναίκες με μη διεγερμένες ωθήκες, που λαμβάνουν πολλαπλές δόσεις του GnRH ανταγωνιστή, ganirelix.

5. Υλικό και μέθοδοι

Προκειμένου να επιτευχθούν οι στόχοι της εργασίας, 20 γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες και μελετήθηκαν σε έναν ή περισσότερους κύκλους, ανάλογα με το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε. Πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, στις συγκεκριμένες γυναίκες, των οποίων τα αποτελέσματα αναφέρονται, προηγήθηκε μια σειρά πειραματικών χορηγήσεων των φαρμακευτικών σκευασμάτων (πιλοτικές διαδικασίες), προκειμένου να καθοριστεί η δόση των χορηγούμενων ουσιών. Τέλος ορισμένες γυναίκες, οι οποίες απέσυραν τη συγκατάθεση τους ή στις οποίες δεν ολοκληρώθηκε η συγκέντρωση όλων των δειγμάτων, αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Για τις ανάγκες της εργασίας, οι γυναίκες χωρίστηκαν σε μια ομάδα γυναικών, που υποβλήθηκαν σε χειρουργική γυναικολογική επέμβαση (ΟΜΑΔΑ Α) και μια ομάδα (ΟΜΑΔΑ Β) που δεν υποβλήθηκαν σε επέμβαση.

ΟΜΑΔΑ Α

Για το τμήμα της εργασίας, που απαιτούνταν χειρουργείο, μελετήθηκαν 12 γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο, ηλικίας 39-49 ετών μετά από ολική κοιλιακή υστερεκτομία μετά των εξαρτημάτων. Για την επιλογή αυτών των γυναικών, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω κριτήρια:

- 1) Ηλικία άνω των 39 ετών
- 2) Φυσιολογικός γεννητικός κύκλος
- 3) Επίπεδα FSH στο αίμα στην αρχή του κύκλου <12 mIU/ml
- 4) Ένδειξη για ολική υστερεκτομία, λόγω καλοήθων παθήσεων του γεννητικού συστήματος (π.χ. ινομυώματα, μηνορραγία, κύστες των ωοθηκών)
- 5) Απουσία αντένδειξης για χορήγηση οιστρογόνων
- 6) Να μην έχει χορηγηθεί στις γυναίκες ορμονική θεραπεία τουλάχιστον τους τελευταίους τρεις μήνες
- 7) Οι γυναίκες να είναι σε καλή γενική κατάσταση, χωρίς δηλαδή παθολογικά προβλήματα από άλλα συστήματα.

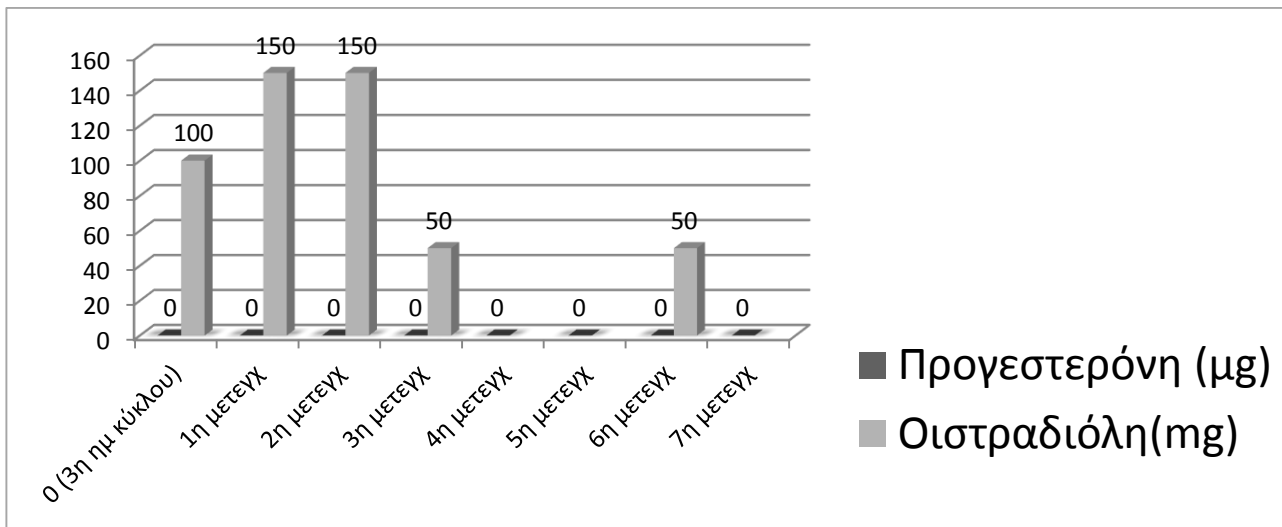
Όλες οι γυναίκες συμμετείχαν οικειοθελώς και υπέγραψαν δήλωση συγκατάθεσης. Η ύπαρξη φυσιολογικού κύκλου των γυναικών αυτών τεκμηριώθηκε με μέτρηση σε προηγούμενους κύκλους της προγεστερόνης και με υπερηχογραφική παρακολούθηση της ωοθυλακιορρηξίας. Όλες οι γυναίκες ήταν υγιείς και δεν είχαν λάβει κατά το διάστημα των τελευταίων 6 μηνών προ της μελέτης κανένα είδος ορμονικής (θεραπεία για θυρεοειδοπάθεια, αντισυλληπτικά, στεροειδή) ή άλλης φαρμακευτικής αγωγής που θα μπορούσε να επηρεάσει τη λειτουργία του

φυσιολογικού κύκλου ή την έκκριση ορμονών (αντιψυχωσικά, αντιπηκτικά, αναβολικά). Οι 12 γυναίκες χωρίστηκαν σε 2 επιμέρους ομάδες και έλαβαν αγωγή, ανάλογα με την ομάδα στην οποία ανήκαν. Τα χαρακτηριστικά των γυναικών των δύο επιμέρους ομάδων αυτών, όπως φαίνονται στον Πίνακα 1 ήταν παρόμοια όσον αφορά στην ηλικία των ασθενών, το BMI και τις βασικές ορμονικές μετρήσεις, χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

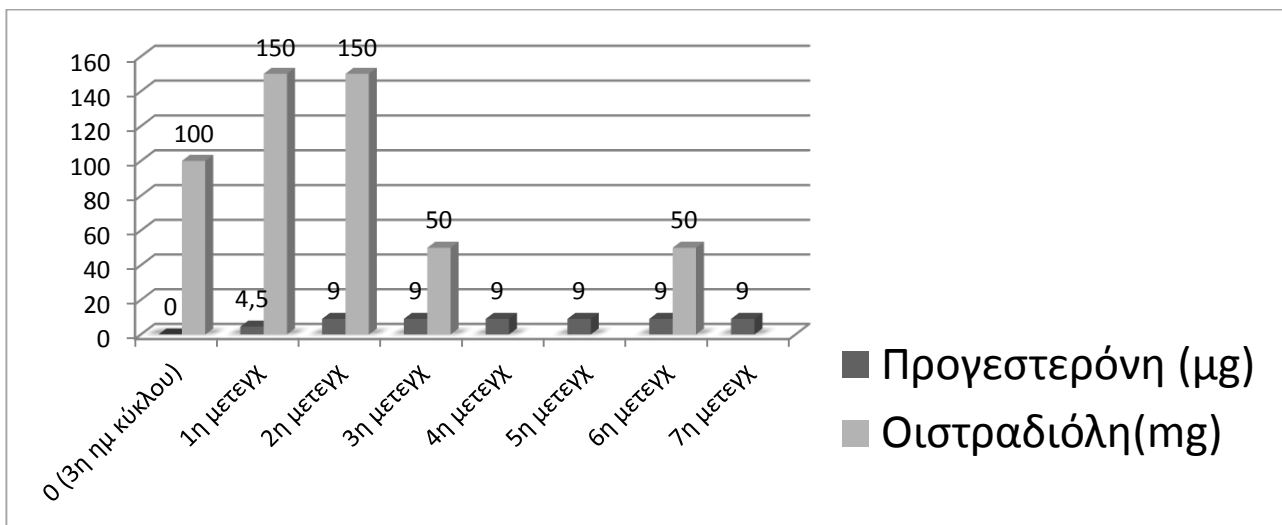
Η χειρουργική επέμβαση πραγματοποιήθηκε την 3η ημέρα του κύκλου (09.00 ώρα), η οποία θεωρήθηκε ως η ημέρα 0. Μετά το τέλος της επέμβασης, 6 από τις 12 γυναίκες (Ομάδα 1) έλαβαν οιστραδιόλη, ενώ οι υπόλοιπες 6 (Ομάδα 2) έλαβαν οιστραδιόλη και προγεστερόνη. Και στις δύο ομάδες, η οιστραδιόλη χορηγήθηκε μέσω διαδερμικών αυτοκόλλητων σε δόσεις 100 µg αμέσως μετά την επέμβαση την ημέρα 3 του κύκλου (ημέρα 0), 150 µg τις επόμενες δύο ημέρες (μετεγχειρητικές ημέρες 1 και 2) και 50 µg ημερησίως τις μετεγχειρητικές ημέρες 3 έως και 7 (TTS Dermestril FARAN, Athens, Greece). Στην Ομάδα 2, οι γυναίκες έλαβαν επιπρόσθετα των οιστρογόνων, προγεστερόνη σε μορφή γέλης σε δόση 4.5 mg την 1η μετεγχειρητική ημέρα και 9 mg από την ημέρα 2 ως και 7 (Crinone 8% SERONO, Athens, Greece). Στη διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου, γινόταν καθημερινά αιμοληψίες (Εικόνα 4).

Εικόνα 4.

ΟΜΑΔΑ Α



ΟΜΑΔΑ Β



Εικόνα 4. Η δοσολογία των χορηγηθέντων στεροειδών ορμονών ορίστηκε μετά από μια σειρά προκαταρκτικών πειραματικών διαδικασιών χορηγήσεως των φαρμακευτικών σκευασμάτων. Η Ομάδα 1 έλαβε μόνο οιστρογόνα, ενώ η Ομάδα 2 οιστρογόνα και προγεστερόνη.

Το πρώτο δείγμα αίματος ελήφθη το πρωί της 3ης ημέρας του κύκλου, πριν από την έναρξη της αναισθησίας. Στη συνέχεια, δείγματα αίματος συλλεγόταν ανά 12 ώρες κατά τις ημέρες 0 και 1, ανά 6 ώρες κατά τις μετεγχειρητικές ημέρες 2 έως και 6 και κατόπιν ανά 12 ώρες μέχρι και την ημέρα 8. Οι δόσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης χορηγήθηκαν βάσει των πιλοτικών πειραμάτων, τα οποία πραγματοποιήθηκαν σε 2 εθελόντριες γυναίκες. Ο σκοπός ήταν να επιτευχθούν τιμές για αυτές τις δύο στεροειδείς ορμόνες παρόμοιες με αυτές της πρώιμης ωοθυλακικής φάσης ενός φυσιολογικού κύκλου, αν και με βάση τα χορηγούμενα φάρμακα, αναμενόταν οι τιμές της οιστραδιόλης να αυξηθούν στην αρχή.

Όλα τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 1000 x g για 15 λεπτά, απομονώθηκε ο ορός και αποθηκεύτηκε στους -20 C μέχρι την μέτρησή των ορμονών σε αυτόν. Σε όλα τα δείγματα αίματος, μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις της FSH, LH, της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης.

Πριν από την επέμβαση, όλες οι γυναίκες ήταν σε καλή γενική κατάσταση, όπως διαπιστώθηκε με τον προεγχειρητικό έλεγχο. Δεν υπήρχαν επιπλοκές στη διάρκεια της επέμβασης και δεν υπήρξε ανάγκη για μετάγγιση αίματος. Η μετεγχειρητική περίοδος ήταν επίσης χωρίς επιπλοκές και οι γυναίκες έλαβαν εξιτήριο μετά την ολοκλήρωση των ημερών, που απαιτήθηκαν για την συλλογή των δειγμάτων αίματος, δηλαδή την 8^η μετεγχειρητική ημέρα.

ΟΜΑΔΑ Β

Για το τμήμα της εργασίας, κατά το οποίο δεν πραγματοποιήθηκε χειρουργική επέμβαση, μελετήθηκαν 8 γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας σε δύο κύκλους. Η επιλογή των γυναικών έγινε με βάση τα παρακάτω κριτήρια:

- 1) Φυσιολογικός γεννητικός κύκλος
- 2) Επίπεδα FSH στο αίμα στην αρχή του κύκλου <12 mIU/ml
- 3) Να μην επιθυμούν εγκυμοσύνη
- 4) Απουσία αντένδειξης για χορήγηση οιστρογόνων
- 5) Να μην έχει χορηγηθεί στις γυναίκες ορμονική θεραπεία τουλάχιστον τους τελευταίους τρεις μήνες
- 6) Να υπάρχει καλή γενική υγεία των γυναικών, χωρίς δηλαδή παθολογικές καταστάσεις από άλλα συστήματα.

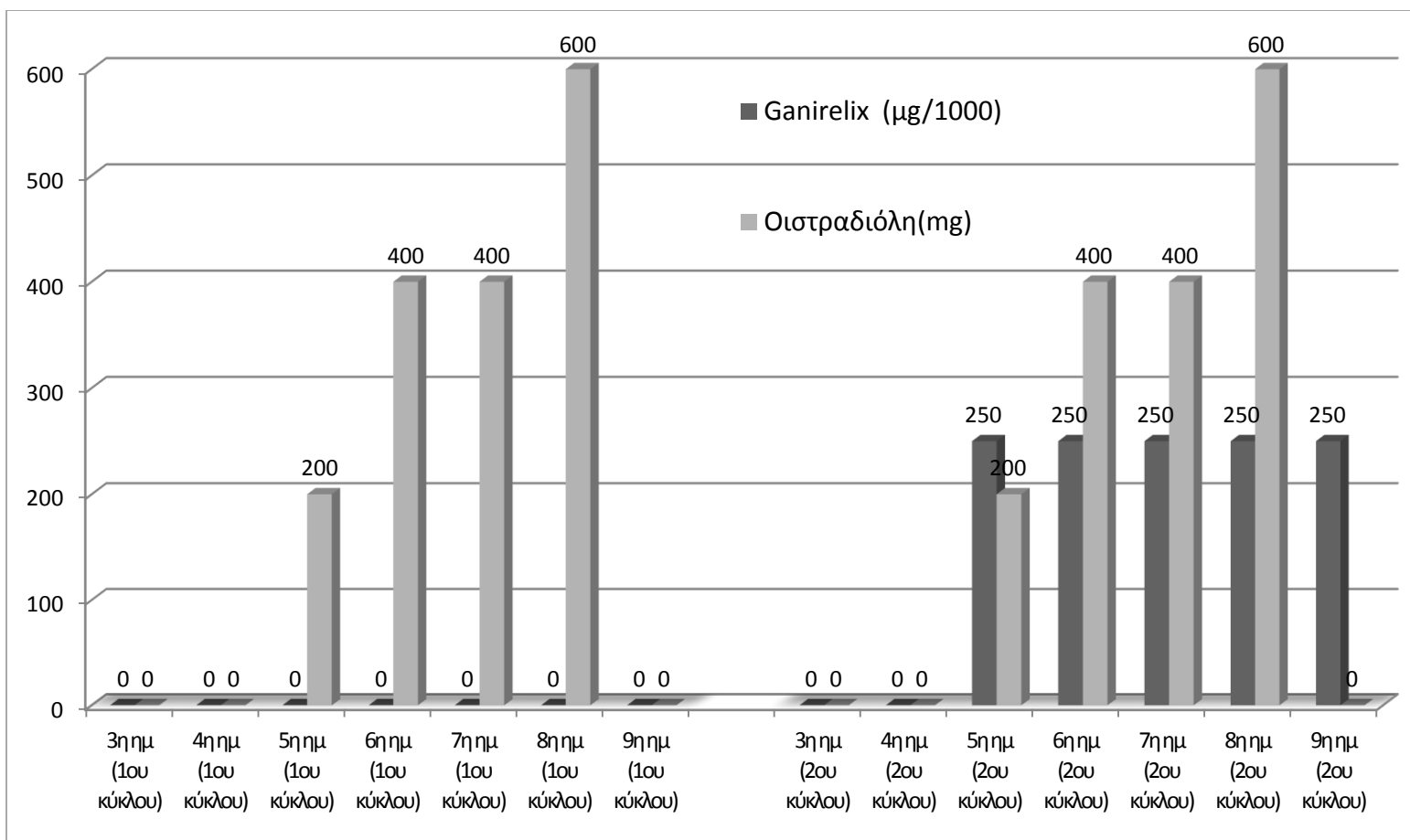
Όπως στην ΟΜΑΔΑ Α έτσι και στην ΟΜΑΔΑ Β, όλες οι γυναίκες συμμετείχαν οικειοθελώς και υπέγραψαν δήλωση συγκατάθεσης. Ο φυσιολογικός κύκλος των γυναικών αυτών τεκμηριώθηκε με μέτρηση σε προηγούμενους κύκλους της προγεστερόνης και με υπερηχογραφική παρακολούθηση της ωοθυλακιορρηξίας. Όλες οι γυναίκες μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια δύο εμμηνορρυσιακών κύκλων, δηλαδή στον Κύκλο 1 (ελέγχου) και τον Κύκλο 2 (μελέτης). Μεταξύ των δύο κύκλων υπήρχε 1 μήνας διακοπής (“wash-out” κύκλος). Και στους δύο κύκλους, οι γυναίκες έλαβαν εξωγενώς οιστρογόνα σε αυτοκόλλητα δέρματος (TTS Dermestril

FARAN, Athens, Greece) στις ακόλουθες δόσεις: 200 µg την 5η ημέρα, 400 µg κατά τις ημέρες 6 και 7 και 600 µg την ημέρα 8.

Στον Κύκλο 2, οι γυναίκες έλαβαν επίσης σε υποδόριες ενέσεις τον GnRH ανταγωνιστή ganirelix (Orgalutran προγεμισμένες σύριγγες 0,25mg, 0,5 mL, Organon, Αθήνα, Ελλάδα) στην ημερήσια δόση των 0,25 mg τις ημέρες 5-9 του κύκλου, που είναι η δόση της χορήγησής τους κατά τη διάρκεια της διέγερσης των ωοθηκών για IVF.

Για τη σωστή χορήγηση του φαρμάκου, η υποδόρια χορήγηση του ανταγωνιστή γινόταν στην Κλινική από μια νοσηλεύτρια κάθε πρωί. Και στους δύο κύκλους, τα δείγματα αίματος ελήφθησαν από όλες τις γυναίκες. Το πρώτο δείγμα λήφθηκε την 5η ημέρα, πριν από την εφαρμογή του πρώτου αυτοκόλλητου των οιστρογόνων και στη συνέχεια ανά 12 ώρες μέχρι την ημέρα 12. Κατόπιν, δείγματα αίματος ελήφθησαν κάθε εβδομάδα μέχρι την επόμενη έμμηνο ρύση. Στον “wash-out” κύκλο, τα δείγματα αίματος ελήφθησαν κατά τις ημέρες 18 και 25. Όλα τα δείγματα αίματος υποβλήθηκαν σε φυγοκέντρηση, όπως στην ΟΜΑΔΑ Α και οι οροί αποθηκεύτηκαν στους -20° C μέχρι τη μέτρησή τους. Σε όλα τα δείγματα αίματος μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις της FSH, της LH, της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης .

Εικόνα 5.



Εικόνα 5. Δοσολογία χορήγησης οιστρογόνων και ανταγωνιστή GnRH Ganirelix. Και στους δύο κύκλους, οι γυναίκες έλαβαν εξωγενώς οιστρογόνα σε αυτοκόλλητα δέρματος: 200 μg την 5η ημέρα, 400 μg κατά τις ημέρες 6 και 7 και 600 μg την ημέρα 8. Στον Κύκλο 2, οι γυναίκες έλαβαν επίσης σε υποδόριες ενέσεις τον GnRH ανταγωνιστή Ganirelix τις ημέρες 5-9, σε δόση 0.25mg ημερησίως.

ΟΡΜΟΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Τα επίπεδα της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) μετρήθηκαν με χρήση human IRMA (Immunoradiometric assay) diagnostic kits (KIP1314 and KIP0844, respectively) produced by DIASource Europe SA, (Belgium). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε διεθνής μονάδες ανά λίτρο (IU/l). Οι συγκεντρώσεις στον ορό της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης μετρήθηκαν με human RIA (Radioimmunoassay) diagnostic kits (KIP0629 and KIP1458, respectively; DIASource Europe). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε pg/ml (conversion factor to SI units 3.671) και ng/ml (conversion factor to SI units 3.18), αντίστοιχα. Τα κατώτερα όρια ανίχνευσης για FSH, LH, οιστραδιόλη και προγεστερόνη ήταν 0.1 IU/l, 0.2 IU/l, 2 pg/ml, and 0.05 ng/ml, αντίστοιχα. Η intra- και inter-assay συντελεστές της διακύμανσης για FSH, LH, οιστραδιόλη και προγεστερόνη ήταν 1.1 και 2.0%, 2.4 και 4.4%, 1.4 και 3.9%, 3.4 και 8.0%, 4.9 και 5.9%, 6.2 και 8.1%, 3.3 και 4.1% και 6.5 και 8.6%, αντίστοιχα.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Οι τιμές ακολουθούσαν κανονική κατανομή (Kolmogorov-Smirnov test) και η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Student's t-test και με ανάλυση κύμανσης (ANOVA) ακολουθούμενη από Bonferroni post hoc test. Η τιμή 0.05 χρησιμοποιήθηκε για να καθοριστεί το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας. Όλες οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή \pm SEM. Το στατιστικό πακέτο, του οποίου χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό το ήταν NCSS 2001 (Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, UT).

6. Αποτελέσματα

Οι δύο ομάδες γυναικών ήταν συγκρίσιμες όσον αφορά στην ηλικία, το δείκτη μάζας σώματος καθώς και τις βασικές τιμές των LH, FSH, οιστραδιόλης και προγεστερόνης πριν από την επέμβαση την 3η ημέρα του κύκλου (Πίνακας 2).

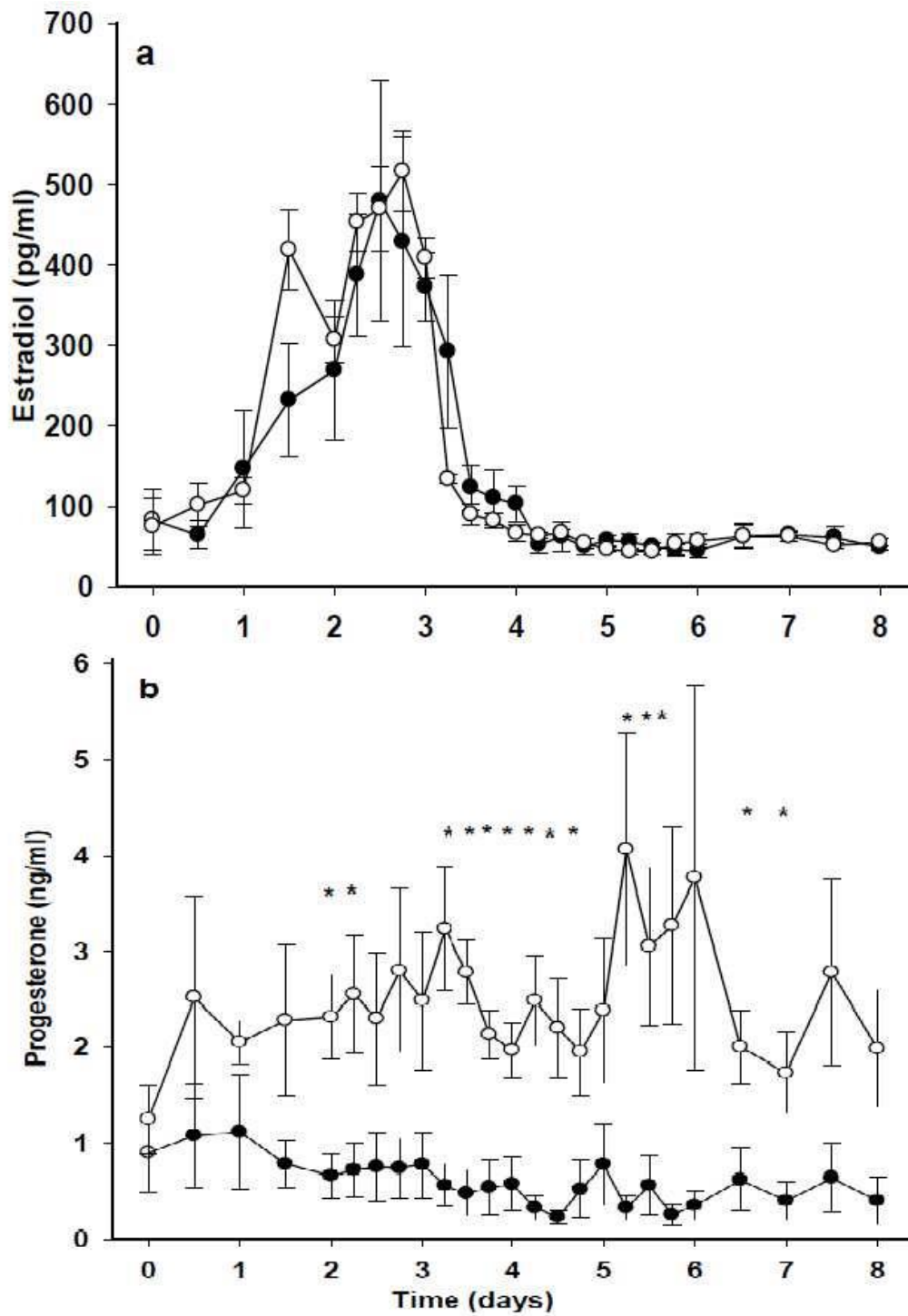
Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά ασθενών της ΟΜΑΔΑΣ Α, στις δύο επιμέρους ομάδες (1 και 2). Κάθε επιμέρους ομάδα περιλαμβάνει 6 γυναίκες. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν mean ± SEM.

	Ομάδα 1	Ομάδα 2	P value
Ηλικία (χρόνια)	46,6 ± 0,8	43,8 ± 1,1	0,079
BMI (kg/m ²)	27,3 ± 1,4	28,8 ± 1,4	0,482
FSH (IU/L)	7,9 ± 2,1	11,3 ± 1,1	0,168
LH (IU/L)	3,1 ± 0,3	4,2 ± 1,1	0,386
Προγεστερόνη (ng/ml)	0,9 ± 0,4	1,2 ± 0,3	0,541
Οιστραδιόλη (pg/ml)	82,9 ± 38,1	75,2 ± 34,4	0,883

Ως αποτέλεσμα της εξωγενούς χορήγησης των στεροειδών, τα επίπεδα της οιστραδιόλης του ορού αυξήθηκαν σε όλες τις γυναίκες και η αύξηση ήταν στατιστικά σημαντική ($P < 0.01$). Οι τιμές εμφάνισαν αιχμή στις 68.4 ± 6.5 ώρες στην Ομάδα 1 και στις 66.0 ± 6.6 ώρες στην Ομάδα 2 (Εικόνα 6). Μετά την αιχμή, οι τιμές της οιστραδιόλης μειώθηκαν σταδιακά και στις δύο ομάδες, επιστρέφοντας στα

βασικά επίπεδα την ημέρα 4. Στη συνέχεια, οι τιμές της οιστραδιόλης παρέμειναν σταθερές μέχρι το τέλος του πειράματος, χωρίς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες σε όλες τις χρονικές στιγμές (Εικόνα 6).

Εικόνα 6



Εικόνα 6

Συγκεντρώσεις (a) οιστραδιόλης και (b) προγεστερόνης (mean±SEM) σε 12 γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο πριν από αμφοτερόπλευρη ωθηκεκτομία, που πραγματοποιήθηκε την 3η ημέρα του κύκλου (ημέρα 0) και στη διάρκεια των 8 ημερών μετά την ωθηκεκτομία. (•) Ομάδα 1 (n=6 γυναίκες): γυναίκες οι οποίες έλαβαν οιστραδιόλη με διαδερμικά αυτοκόλλητα μετεγχειρητικά σε δόσεις 100 μg άμεσα μετά την επέμβαση την ημέρα 3 (ημέρα 0 στην εικόνα), 150 μg τις επόμενες δύο ημέρες (μετεγχειρητικές ημέρες 1 και 2) και 50 μg από την ημέρα 3 έως την ημέρα 7.

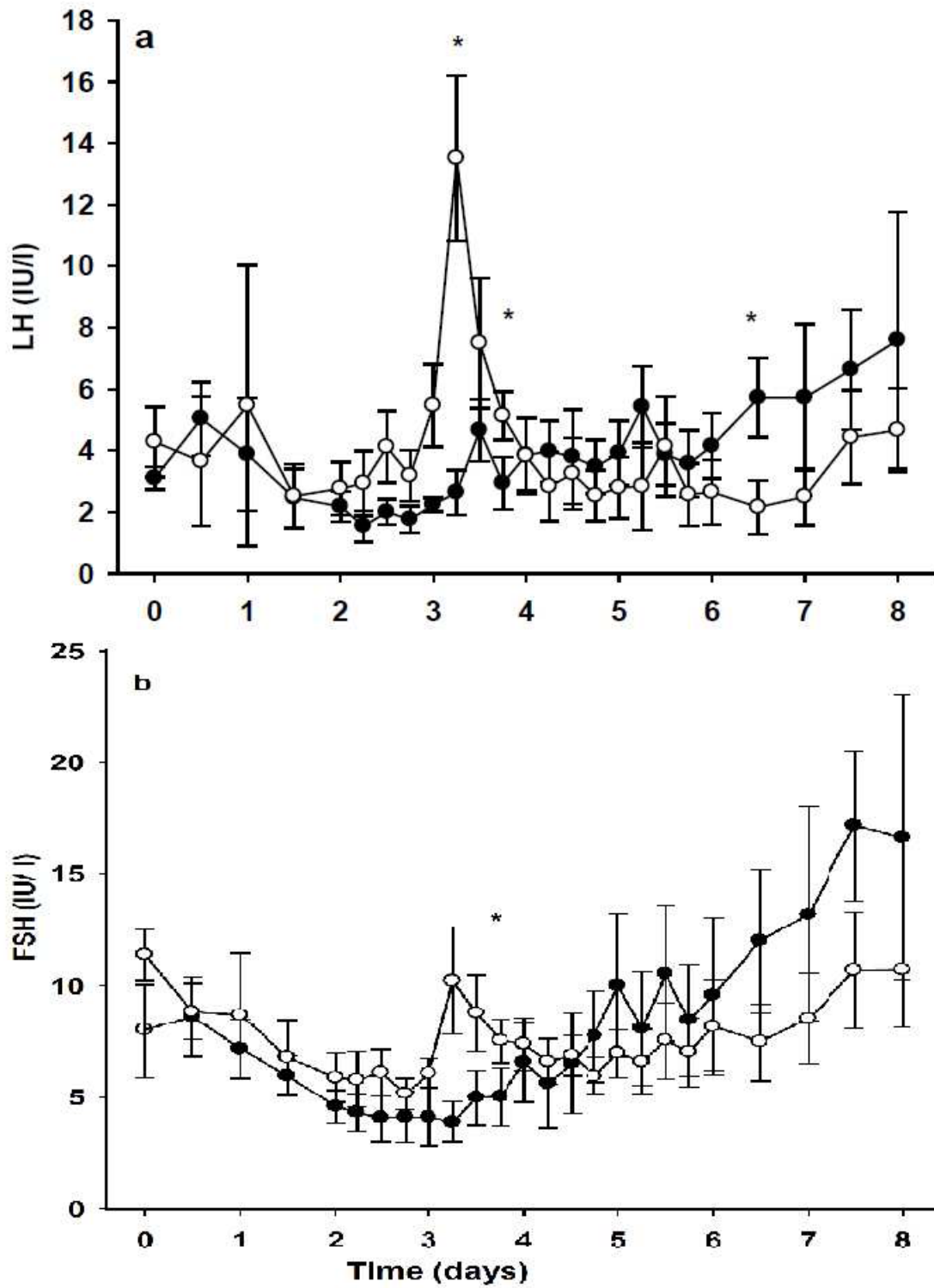
(ο) Ομάδα 2 (n=6 γυναίκες): οι γυναίκες έλαβαν οιστραδιόλη όπως στην Ομάδα 1 και επιπλέον προγεστερόνη διακολπικά σε μορφή γέλης σε δόση 4.5 mg την 1η μετεγχειρητική ημέρα και 9 mg από τη ημέρα 2 ως την ημέρα 7. (παράγοντας μετατροπής σε διεθνείς μονάδες SI Units για την οιστραδιόλη 3.671 και για την προγεστερόνη 3.18)

*P<0.05, διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.

Όσον αφορά στις τιμές της προγεστερόνης αυτές μειώθηκαν σημαντικά στην Ομάδα 1 από την ημέρα 0 έως την ημέρα 5 ($P < 0.05$), ενώ στην Ομάδα 2 λόγω της εξωγενούς χορήγησης στεροειδών, τα επίπεδα της προγεστερόνης παρέμειναν σταθερά, έτσι ώστε να είναι στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα από της Ομάδας 1 από τη 2η μετεγχειρητική ημέρα έως το τέλος της πειραματικής περιόδου ($P < 0.05$, Εικόνα 3).

Μετά τη χορήγηση της οιστραδιόλης, τα επίπεδα της LH ελαττώθηκαν σημαντικά στην Ομάδα 1 από την ημέρα 0 έως την ημέρα 2 (μεσημέρι, $P < 0.05$) και σε μικρότερο βαθμό στην Ομάδα 2 από την ημέρα 0 έως την ημέρα 1 (βράδυ), (Εικόνα 7). Μετά τη μείωση στην Ομάδα 2, τα επίπεδα του ορού της LH εμφάνισαν μια σημαντική αύξηση τύπου κύματος οδηγώντας σε αιχμή της LH. Η πρώτη τιμή της LH, που ήταν μεγαλύτερη από το 180% της μέσης τιμής των προηγούμενων τεσσάρων μετρήσεων, θεωρήθηκε ως ένδειξη ότι το κύμα της LH είχε αρχίσει και το χρονικό σημείο του προηγούμενου δείγματος θεωρήθηκε ως ο χρόνος της έναρξης του κύματος (Messinis et al. 1985). Ο χρόνος μεταξύ της χορήγησης οιστραδιόλης και της έναρξης του κύματος της LH ήταν 61.0 ± 5.0 ώρες. Αυτό σημαίνει ότι η έναρξη του κύματος της LH εμφανίστηκε στην Ομάδα 2 την ώρα, που στην ομάδα 1 οι τιμές της LH ακόμη ελαττωνόταν. Μετά την αιχμή (13.5 ± 2.7 IU/l), οι τιμές της LH μειώθηκαν σταδιακά επιστρέφοντας σε τιμές προ του χειρουργείου την 4η μετεγχειρητική ημέρα, ενώ παρέμειναν σταθερές στη συνέχεια. Αντιθέτως, στην Ομάδα 1 οι τιμές της LH, ακολουθώντας την αρχική μείωση, εμφάνισαν μια σταδιακή και σταθερή αύξηση μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας ($P < 0.05$) χωρίς εμφανή αιχμή (Εικόνα 7). Στην Ομάδα 1, τα επίπεδα της LH την 6 έως 8η μετεγχειρητική ημέρα ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τα επίπεδα προ του κύματος την ημέρα 2 ($P < 0.05$).

Εικόνα 7



Εικόνα 7

Συγκεντρώσεις (a) LH (b) FSH (mean±SEM) σε 12 γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο πριν από αμφοτερόπλευρη ωθηκεκτομία, που πραγματοποιήθηκε την 3η ημέρα του κύκλου (ημέρα 0) και στη διάρκεια των 8 ημερών μετά την ωθηκεκτομία. (•) Ομάδα 1 (n=6 γυναίκες): γυναίκες οι οποίες έλαβαν οιστραδιόλη με διαδερμικά αυτοκόλλητα μετεγχειρητικά σε δόσεις 100 µg άμεσα μετά την επέμβαση την ημέρα 3 (ημέρα 0), 150 µg τις επόμενες δύο ημέρες (μετεγχειρητικές ημέρες 1 και 2) και 50 µg από την ημέρα 3 έως την ημέρα 7.

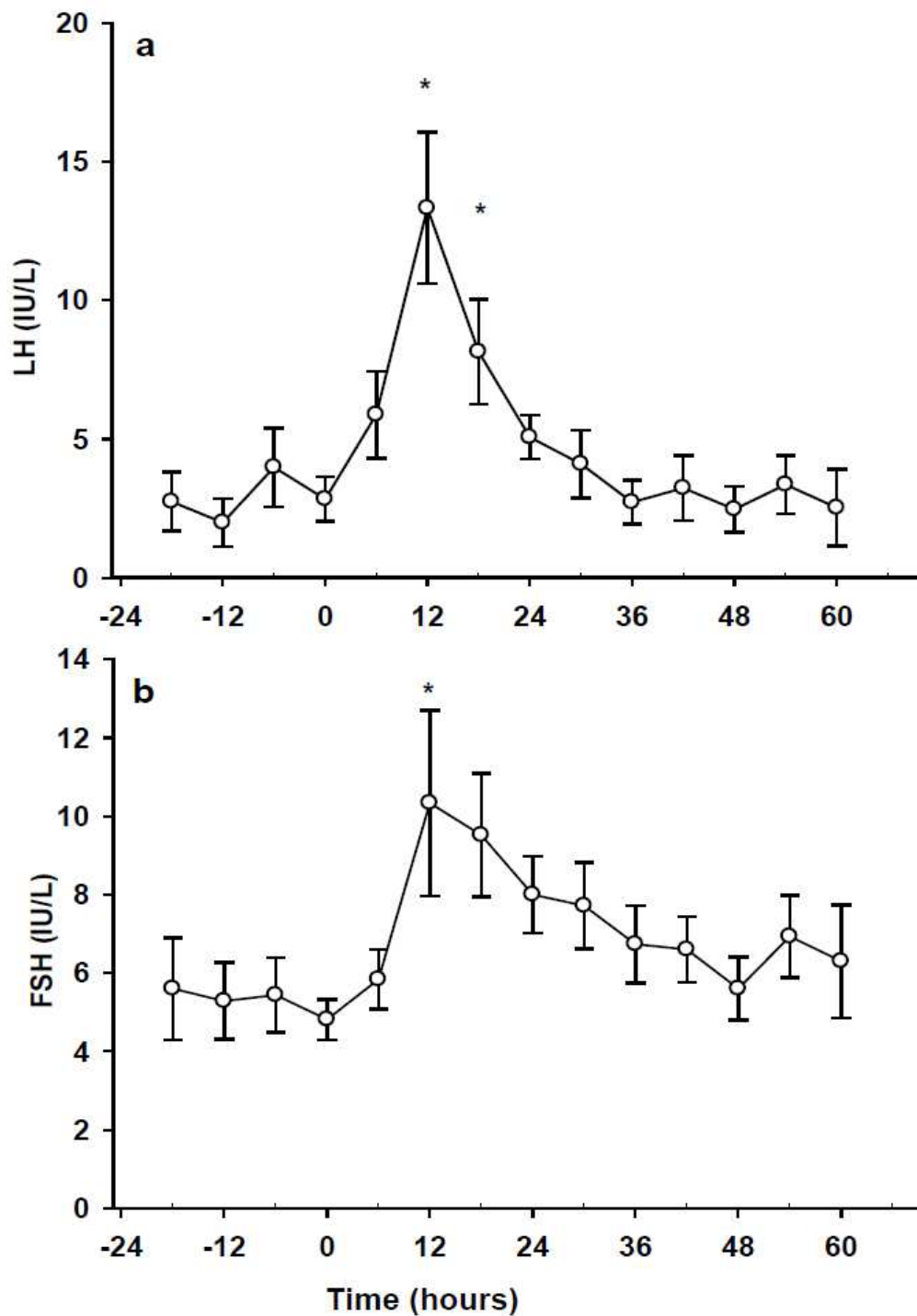
(ο) Ομάδα 2 (n=6 γυναίκες): οι γυναίκες έλαβαν οιστραδιόλη, όπως στην Ομάδα 1 και επιπλέον προγεστερόνη διακολλπικά σε μορφή γέλης σε δόση 4.5 mg την 1η μετεγχειρητική ημέρα και 9 mg από τη 2η ως την 7η ημέρα (παράγοντας μετατροπής σε διεθνείς μονάδες SI units) για την οιστραδιόλη 3.671 και για την προγεστερόνη 3.18)

*P<0.05, διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.

Οι τιμές της FSH στον ορό ελαττώθηκαν σημαντικά από την ημέρα 0 έως την ημέρα 3 στην Ομάδα 1 ($P < 0.05$) και από την ημέρα 0 έως την ημέρα 2 στην Ομάδα 2 ($P < 0.01$), αυξανόμενες και στις δύο ομάδες σημαντικά τις επόμενες ημέρες (Εικόνα 7). Στην Ομάδα 2 ωστόσο, μια σημαντική αύξηση τύπου κύματος παρατηρήθηκε με αιχμή (11.3 ± 2.0 IU/l) συγχρόνως με την αιχμή της LH. Μετά την αιχμή στην Ομάδα 2, οι τιμές της FSH μειώθηκαν σταδιακά, επιστρέφοντας σε τιμές προ του κύματος την ημέρα 4 με τάση για μια αύξηση στη συνέχεια. Αντιθέτως, στην Ομάδα 1, δεν υπήρξε παρόμοιο κύμα της FSH αλλά εμφανίστηκε μια συνεχής αύξηση από την ημέρα 3 έως την ημέρα 8 ($P < 0.05$) (Εικόνα 7). Το κύμα της FSH στην Ομάδα 2 ξεκίνησε ενώ οι τιμές της FSH στην Ομάδα 1 μειωνόταν.

Η εικόνα 8 δείχνει τις τιμές της LH και της FSH σε όλες τις γυναίκες της ομάδας 2 συγχρονισμένες ως προς τη στιγμή της έναρξης του κύματος της LH. Διακρίνεται το αυξητικό σκέλος της ορμόνης, η αιχμή και στη συνέχεια η πτώση των τιμών της LH και οι αντίστοιχες μεταβολές της FSH.

Εικόνα 8.

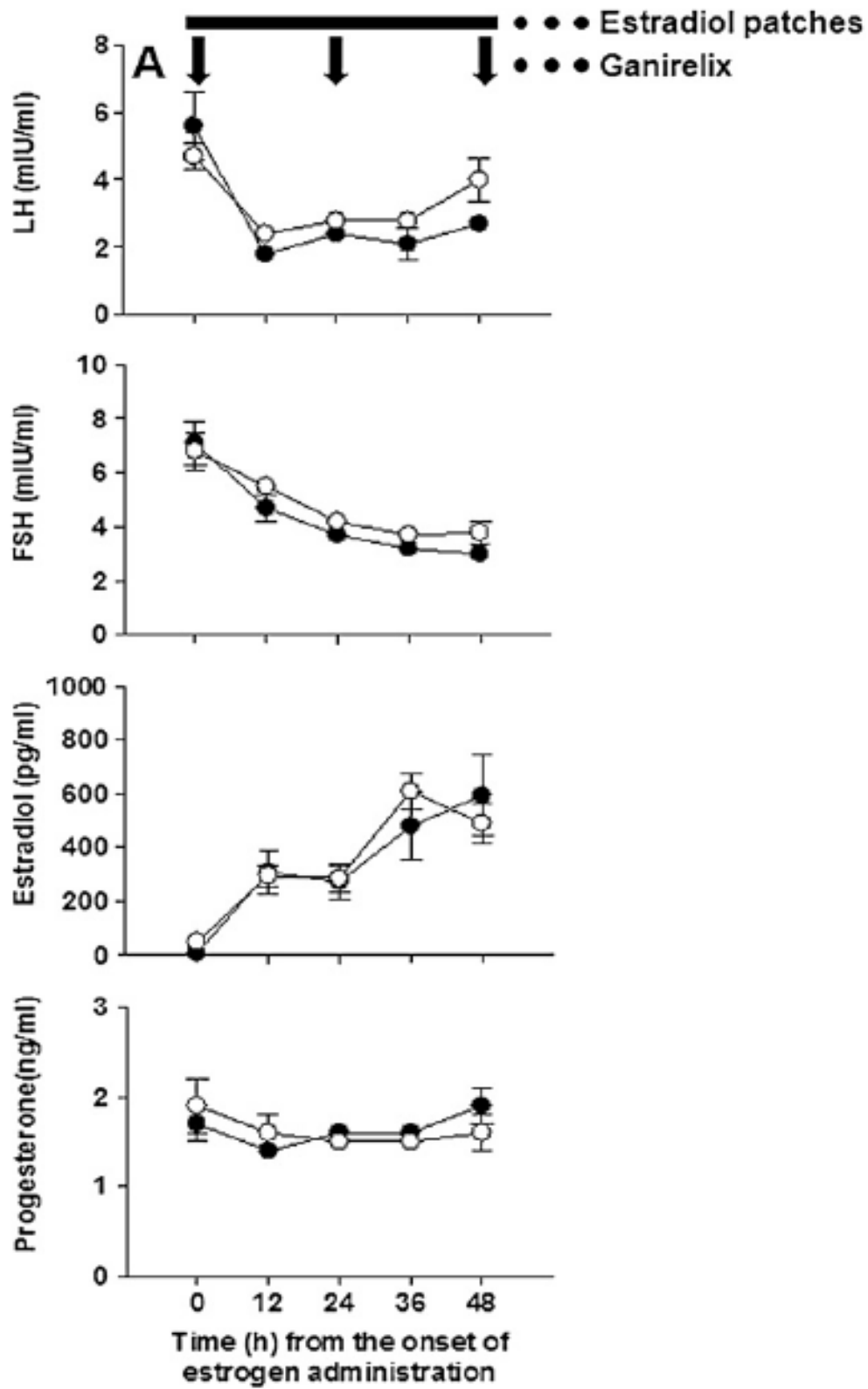


Εικόνα 8. Συγκεντρώσεις της LH (mean±SEM) μετά από συγχρονισμό ως προς την έναρξη του κύματος της LH (ώρα 0) στην Ομάδα 2 (n=6 γυναίκες). *p<0.05 διαφορά από την τιμή την χρονική στιγμή 0.

ΟΜΑΔΑ Β

Οι γυναίκες μελετήθηκαν σε 2 κύκλους, από τους οποίους ο πρώτος χρησιμοποιήθηκε ως κύκλος ελέγχου (Κύκλος 1) και ο δεύτερος ως κύκλος μελέτης (Κύκλος 2). Παρατηρήθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης αυξήθηκαν σημαντικά μετά την εξωγενή χορήγηση της ορμόνης αυτής ($P < 0.01$), ενώ οι τιμές της LH και της FSH μειώθηκαν σημαντικά ($p < 0.05$), χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο κύκλων (Εικόνα 9). Οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης ήταν παρόμοιες και στους δύο κύκλους και παρέμειναν σταθερές και χαμηλές κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου (Εικόνα 9).

Εικόνα 9

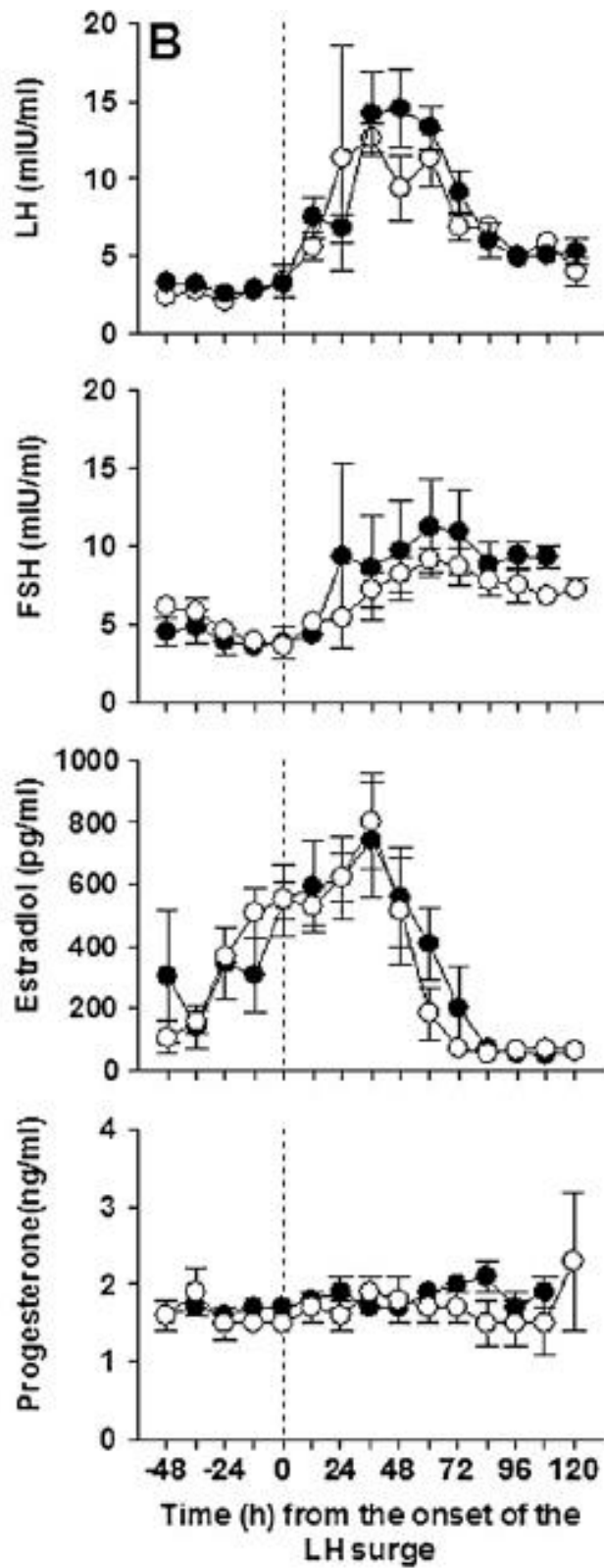


Εικόνα 9

Συγκεντρώσεις στον ορό των LH, FSH, οιστραδιόλης και προγεστερόνης (mean±SEM) στη διάρκεια της εξωγενούς χορήγησης οιστραδιόλης με διαδερμικά αυτοκόλλητα τις ημέρες 5 έως 7 του κύκλου σε 8 γυναίκες με φυσιολογικό γεννητικό κύκλο. Οι τιμές των ορμονών είναι συγχρονισμένες με την έναρξη της χορήγησης οιστρογόνων. Στον (ο) Κύκλο 1 χορηγήθηκε στις γυναίκες μόνο οιστραδιόλη, ενώ στον (•) Κύκλο 2 οι γυναίκες λάμβαναν οιστραδιόλη μαζί με τον ανταγωνιστή GnRH ganirelix υποδορίως από την 5^η ημέρα έως και την 9^η ημέρα του κύκλου σε δόση 0.25 mg ημερησίως.

Αποτέλεσμα της χορήγησης των οιστρογόνων, ήταν η εμφάνιση, σε όλες τις γυναίκες, ενός ενδογενούς κύματος της LH και στους δύο κύκλους. Η πρώτη τιμή του ορού της LH, που ξεπέρασε το 180% της μέσης τιμής των προηγούμενων τεσσάρων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε για να δείξει την επίτευξη κύματος και ο χρόνος λήψης του προηγούμενου δείγματος θεωρήθηκε ότι ήταν η στιγμή έναρξης του κύματος της LH (Messinis et al. 1985). Και στους δύο κύκλους, η LH αυξήθηκε σημαντικά μετά την έναρξη του κύματος, με μέγιστες τιμές στις 36 ώρες ενώ μειώθηκε σταδιακά στη συνέχεια ($P < 0.05$. Εικόνα 10). Η διακύμανση στις τιμές της LH κατά τη διάρκεια του κύματος ήταν σχεδόν πανομοιότυπη στους δύο κύκλους, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους στα διάφορα χρονικά σημεία. Η διάρκεια του κύματος της LH ήταν παρόμοια και στους δύο κύκλους (Κύκλος 1: 94.5 ± 5.7 ώρες Κύκλος 2: 93.0 ± 0.4 ώρες). Σε όλες τις γυναίκες, εμφανίστηκε επίσης κύμα της FSH και ο τύπος ήταν παρόμοιος και στους δύο κύκλους ($P < 0.05$. Εικόνα 10). Οι διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης πριν και μετά την έναρξη του κύματος της LH ήταν σχεδόν πανομοιότυπες και στους δύο κύκλους (Εικόνα 10).

Εικόνα 10



Εικόνα 10

Συγκεντρώσεις στον ορό των LH, FSH, οιστραδιόλης και προγεστερόνης (mean±SEM) στη διάρκεια της εξωγενούς χορήγησης οιστραδιόλης με διαδερμικά αυτοκόλλητα τις ημέρες 5 έως 7 του κύκλου σε 8 γυναίκες με φυσιολογικό γεννητικό κύκλο. Οι τιμές των ορμονών είναι συγχρονισμένες με την έναρξη της προκληθείσας αιχμής της LH. Στον (ο) Κύκλο 1, χορηγήθηκε στις γυναίκες μόνο οιστραδιόλη και στον (•) Κύκλο 2 οι γυναίκες λάμβαναν οιστραδιόλη μαζί με τον ανταγωνιστή GnRH ganirelix υποδορίως από την 5^η ημέρα έως και την 9^η ημέρα του κύκλου σε δόση 0.25 mg ημερησίως.

Το χρονικό διάστημα από την έναρξη της χορήγησης των οιστρογόνων μέχρι την έναρξη του κύματος της LH ήταν σημαντικά μικρότερο στον Κύκλο 1 (46.5 ± 3.5 ώρες) σε σχέση με τον Κύκλο 2 ($67,5 \pm 6,5$ ώρες $P < 0.05$). Παρ' όλα αυτά, οι μέγιστες τιμές της οιστραδιόλης σε σχέση με την έναρξη της χορήγησης των οιστρογόνων επιτεύχθηκαν αργότερα στον Κύκλο 2 (87 ± 17.8 ώρες) από ό,τι στον Κύκλο 1 (75 ± 17.8 ώρες $P < 0.001$). Αυτό σημαίνει ότι το κύμα της LH ξεκίνησε σε κάποια χρονική στιγμή πριν από την επίτευξη των μέγιστων τιμών της οιστραδιόλης (28.5 ± 19.1 και 22.5 ± 14.9 ώρες, αντίστοιχα. Εικόνα 10). Η διάρκεια του Κύκλου 1 (33.3 ± 1.7 ημέρες) και του Κύκλου 2 ($32,6 \pm 2,6$ ημέρες) ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη του κύκλου που προηγήθηκε της πειραματικής διαδικασίας (27.5 ± 0.6 ημέρες $P < 0.05$). Κατά τη διάρκεια του “wash-out” κύκλου, οι γυναίκες είχαν ωοθυλακιωρηξία, όπως διαπιστώθηκε από τις τιμές της προγεστερόνης στον ορό την 18η (5.9 ± 2.2 ng/mL) και την 25η μέρα ημέρα του κύκλου (8.2 ± 2.5 ng/mL), η δε διάρκεια του συγκεκριμένου κύκλου (29.6 ± 1.3 ημέρες) ήταν παρόμοια με αυτή του κύκλου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας.

Και στους δύο κύκλους (1 και 2) οι γυναίκες, μετά τη θεραπεία με οιστρογόνα, είχαν ελαφρά αιμόρροια εκ διακοπής για μία ή δύο ημέρες.

7. Συζήτηση

7.1 Δράση της προγεστερόνης στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και στο κύμα της LH.

Από την παρούσα μελέτη (ΟΜΑΔΑ Α), προέκυψαν σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με το ρόλο της προγεστερόνης στην πυροδότηση και τον τερματισμό του κύματος της LH. Συγκεκριμένα, η προγεστερόνη όταν δόθηκε σε γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο αμέσως μετά την ωθηκεκτομία ήταν σε θέση να προκαλέσει ενδογενές κύμα της LH, παρουσία οιστρογόνων σε συγκεντρώσεις παρόμοιες με αυτές της προχωρημένης ωοθυλακικής φάσης. Προηγούμενες μελέτες είχαν δείξει ότι μετά από ωθηκεκτομία σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες παρατηρείται μια σταθερή αύξηση των συγκεντρώσεων των γοναδοτροφινών στον ορό τις πρώτες εβδομάδες μετά την επέμβαση (Alexandris et al. 1997, Chakravarti et al. 1977, Kamel et al. 1991, Monroe et al. 1972c, Yen et al. 1971). Αυτό είναι αποτέλεσμα της απομάκρυνσης από την κυκλοφορία σημαντικών ωθηκικών παραγόντων, γεγονός που δείχνει τον καθοριστικό έλεγχο των ωθηκών στην υπόφυση με εκδήλωση αρχικά μιας αρνητικής δράσης στην έκκριση των γοναδοτροφινών. Στις υπάρχουσες δημοσιευμένες, μέχρι στιγμής, εργασίες έχει μελετηθεί επαρκώς ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Barlow 1981, Kamel et al. 1991, Messinis et al. 2002, Wallach et al. 1970), ενώ υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία σχετικά με τη δράση της οιστραδιόλης στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Dafopoulos et al. 2006) και καθόλου στοιχεία σχετικά με τον ρόλο της προγεστερόνης στο θετικό αυτό μηχανισμό, κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο, μετά την αφαίρεση των ωθηκών.

Στην παρούσα μελέτη, φάνηκε ότι σε γυναίκες μετά από ωθηκεκτομία, που έλαβαν οιστρογόνα, εκδηλώθηκε τυπικό ενδογενές κύμα της LH σε αυτές, οι οποίες έλαβαν και προγεστερόνη. Το ότι το κύμα της LH προκλήθηκε από την προγεστερόνη προκύπτει από το γεγονός ότι, όταν χορηγήθηκαν μόνο οιστρογόνα, δεν παρατηρήθηκε εκδήλωση τυπικού κύματος της LH, παρά μόνο ο

αρνητικός μηχανισμός δράσης των οιστρογόνων. Η απουσία τυπικού κύματος της LH στις γυναίκες, που έλαβαν μόνο οιστρογόνα, είναι δύσκολο να εξηγηθεί. Η πιθανότητα μιας “εκτρωτικής” εικόνας του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, ο οποίος συνέβαλε στην αρχική αύξηση των γοναδοτροφινών, μετά τη μείωση τους, δεν μπορεί να αποκλεισθεί. Τα δεδομένα εξάλλου της βιβλιογραφίας περιορίζονται σε μια μόνο μελέτη, η οποία έδειξε την αποτελεσματική θετική επίδραση των οιστρογόνων με εκδήλωση κύματος της LH σε μια αντίστοιχη ομάδα ασθενών (Daforoulos et al. 2006). Από αυτή τη διαφοροποίηση, η οποία παρατηρήθηκε στα δεδομένα της παρούσης και προηγούμενης μελέτης προκύπτει το συμπέρασμα ότι υπάρχει μεταβαλλόμενη ευαισθησία της υπόφυσης στα οιστρογόνα κατά τη χρονική περίοδο αμέσως μετά την ωθηκεκτομία. Η μεταβλητότητα αυτή είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στις απότομες αλλαγές στην έκκριση των ορμονών στη διάρκεια εκείνης της περιόδου, οι οποίες «αποδιοργανώνουν» πρόσκαιρα το υποθάλαμο-υποφυσιακό σύστημα. Πράγματι, την πρώτη εβδομάδα μετά από ωθηκεκτομία σε γυναίκες, η ευαισθησία της υπόφυσης στη GnRH, όσον αφορά στην έκκριση της LH, παραμένει σταθερή ή ελαττώνεται (Alexandris et al. 1997), ενώ υπό φυσιολογικές συνθήκες μια αυξανόμενη ευαισθησία της LH στη GnRH είναι απαραίτητη για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης από τα οιστρογόνα (Shaw et al. 2011). Αυτή μπορεί να είναι η αιτία για την ασυνήθιστη απόκριση της υπόφυσης στην οιστρογονική επίδραση στην παρούσα μελέτη. Το γεγονός ότι τυπική εκδήλωση κύματος της LH υπήρξε μετά την ταυτόχρονη χορήγηση προγεστερόνης, υποδηλώνει ότι η φυσιολογική υποφυσιακή απόκριση εκδηλώθηκε μετά από ισχυρότερη διέγερση.

Σε προηγούμενες μελέτες, έχειδειχθεί ότι τόσο ο θετικός όσο και ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των ωθηκικών στεροειδών μπορούν εύκολα να αναπαραχθούν σε φυσιολογικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, όπως επίσης και σε γυναίκες μετά από ωθηκεκτομία, αρκετά έτη μετά από την επέμβαση (Barlow 1981, Kamel et al. 1991, Liu et al. 1983, Messinis et al. 2002, Wallach et al. 1970). Εν τούτοις, σε ηλικιωμένες γυναίκες, ο θετικός μηχανισμός

παλίνδρομης αλληλορρύθμισης είναι εξασθενημένος πιθανότατα λόγω της γήρανσης της υπόφυσης (Messinis et al. 1988c).

Τα δεδομένα της μελέτης μας σχετικά με την ελαττωμένη απάντηση της υπόφυσης στα εξωγενώς χορηγούμενα οιστρογόνα ήταν μη αναμενόμενα και υποδηλώνουν ότι η χρονική περίοδος αμέσως μετά την ωθηκεκτομία σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μπορεί να μην είναι η πλέον κατάλληλη για την ανάδειξη της δυναμικής σχέσης μεταξύ των ωθηκών και του υποθάλαμο-υποφυσιακού άξονα. Επιπλέον, το γεγονός ότι κύμα της LH εμφανίστηκε όταν συγχωρηγήθηκε προγεστερόνη στις γυναίκες μπορεί να υποδηλώνει ότι είναι η συνεργική δράση των δύο ορμονών, η οποία μπορεί να ευοδώσει την έκφραση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, προσδίδοντας καθοριστικό ρόλο στην προγεστερόνη σε ό,τι αφορά στην εκδήλωση της μεσοκύκλιας αιχμής της ωχρινοτρόπου ορμόνης (Hoff et al. 1983).

Μια πολύ σημαντική παρατήρηση στην παρούσα εργασία είναι η μορφή του κύματος της LH, που προκλήθηκε από το συνδυασμό οιστρογόνων και προγεστερόνης. Τα χαρακτηριστικά του κύματος αυτού, παρουσίαζαν ομοιότητα με τα χαρακτηριστικά του ενδογενούς μεσοκύκλιου κύματος της LH εκτός από τις απόλυτες τιμές (Lasley et al. 1975). Ειδικότερα, οι τιμές της LH, μετά από μια απότομη αύξηση, που οδήγησε σε αιχμή, μειώθηκαν σε επίπεδα, όπως αυτά που παρατηρήθηκαν πριν από την έναρξη του κύματος. Η επιστροφή αυτή στις τιμές προ του κύματος φαίνεται να σχετίζεται με την παρουσία της προγεστερόνης, αφού σε προηγούμενη μελέτη όταν το κύμα προκλήθηκε μόνο από τη χορήγηση οιστρογόνων χωρίς προγεστερόνη, οι τιμές της LH κατά την αιχμή δεν μειώθηκαν αλλά παρέμειναν σταθερές σε επίπεδο υψηλότερο του βασικού (Dafopoulos et al. 2006). Επιπλέον, μια προηγούμενη μελέτη σε γυναίκες με ακέραιες ωθήκες έδειξε ότι η σταθερά αυξανόμενη προγεστερόνη στον ορό ήταν υπεύθυνη για την επαναφορά της LH στο κατώτερο σημείο του καθοδικού σκέλους του κύματος της LH, που πυροδοτήθηκε από οιστρογόνα (Messinis et al. 1990). Είναι εξάλλου γνωστό ότι η προγεστερόνη ενισχύει την από οιστρογόνα πυροδοτούμενη αιχμή

της LH ευαισθητοποιώντας την υπόφυση στη GnRH (Couzinet et al. 1992, Kazem et al. 1996, Shaw et al. 2011). Η πιθανότητα, επίσης, η προγεστερόνη να συμμετέχει στον τερματισμό του κύματος της LH είναι μια ενδιαφέρουσα υπόθεση. Μια μείωση της ευαισθησίας της υπόφυσης στη GnRH σε ό,τι αφορά στην έκκριση της LH και του εύρους των ώσεων της LH έχει βρεθεί στο τελικό σε σχέση με το αρχικό και μέσο τμήμα του κύματος της LH (Adams et al. 1994, Wang et al. 1976). Η προγεστερόνη έχει βρεθεί μέσω αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης ότι μειώνει τη συχνότητα των παλμών της GnRH στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (Chabbert-Buffet et al. 2002), όπως επίσης και στην όψιμη σε σχέση με την πρώιμη και μέση ωοθυλακική φάση (Adams et al. 1994). Πειράματα σε πιθήκους (Xia et al. 1992) και σε πρόβατα (Clarke 1995) έχουν δείξει άμεση σχέση μεταξύ της αιχμής της LH και της παλμικότητας της GnRH. Ο συγχρονισμός εξάλλου της έκκρισης της GnRH και της έκκρισης της LH έχει επίσης φανεί μετά από καθετηριασμό του πυλαίου φλεβικού συστήματος σε θήλεα πρόβατα (Skinner et al. 1998). Μετά από τοποθέτηση εμφυτεύματος προγεστερόνης στα ζώα αυτά, εμφανίστηκε σημαντικά μειωμένη παλμικότητα της GnRH και της LH (Skinner et al. 1999, Skinner et al. 2001, Skinner et al. 1998), η οποία επανήλθε μετά από αφαίρεση των εμφυτευμάτων.

Εκτός από τις αλλαγές στην παλμικότητα της GnRH και συνεπώς της LH, σημαντικός είναι και ο ρόλος της προγεστερόνης στην έκκριση της LH ως απάντηση στη GnRH. Έχει προταθεί μια ευοδωτική δράση μέσω αύξησης της ευαισθησίας και αυτό θα μπορούσε να δικαιολογήσει και την ενισχυτική δράση στην αιχμή της LH (Kazem et al. 1996). Από την άλλη μεριά, κατά την ωχρινική φάση, όταν οι τιμές της προγεστερόνης και της οιστραδιόλης είναι αυξημένες, έχει φανεί μια σημαντική μείωση της έκκρισης της LH ως απάντηση στη GnRH (Messinis et al. 1993a) και αυτό εξηγεί και την πιθανή δράση τους στον τερματισμό του κύματος της LH. Μια πιθανή εξήγηση για τη διαφορετική δράση της προγεστερόνης σε διαφορετικές φάσεις του κύκλου είναι ότι πιθανότατα η δράση της επηρεάζεται άμεσα από την προηγούμενη δράση των οιστρογόνων (Shaw et al. 1975).

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας δείχνουν για πρώτη φορά ότι μετά από ωθηκεκτομία η χορήγηση προγεστερόνης σε γυναίκες, στις οποίες είχαν ήδη χορηγηθεί οιστρογόνα, ήταν σε θέση να πυροδοτήσει ενδογενές κύμα της LH. Η ποικίλη απάντηση στη χορήγηση μόνο οιστρογόνων χωρίς σαφή εκδήλωση κύματος μπορεί πιθανώς να οφείλεται σε προσωρινή διαταραχή της λειτουργίας του υποθάλαμο-υποφυσιακού άξονα αμέσως μετά την ωθηκεκτομία. Με βάση τα δεδομένα αυτά, φαίνεται πως είναι απαραίτητη η συνδυασμένη δράση οιστρογόνων και προγεστερόνης για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού και αυτό μπορεί να είναι σημαντικό για την εκδήλωση του μεσοκύκλιου κύματος της LH στο φυσιολογικό κύκλο. Το κύμα, το οποίο δημιουργείται από τη χορήγηση προγεστερόνης και οιστρογόνων, έχει τυπικά χαρακτηριστικά, δηλαδή ανοδικό τμήμα και καθοδικό τμήμα, ενισχύοντας την άποψη ότι η προγεστερόνη είναι η υπεύθυνη ωθηκική ορμόνη για τον τερματισμό του μεσοκύκλιου κύματος της LH.

7.2 Η αδυναμία του ανταγωνιστή Ganirelix να αποτρέψει την εμφάνιση κύματος της LH.

Τα αποτελέσματα στο δεύτερο σκέλος της μελέτης (ΟΜΑΔΑ Β) δείχνουν ότι ο GnRH ανταγωνιστής ganirelix, στη δόση που χρησιμοποιείται σήμερα στα προγράμματα εξωσωματικής γονιμοποίησης, δεν ήταν σε θέση να αναστείλει το μηχανισμό θετικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, ο οποίος προκλήθηκε από τη χορήγηση εξωγενώς οιστρογόνων σε γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο. Για να υπάρχει αντιστοίχιση με τις συνθήκες εξωσωματικής γονιμοποίησης η χορηγούμενη δόση οιστρογόνων ήταν τέτοια ώστε επιτεύχθηκαν υπέρ-φυσιολογικές συγκεντρώσεις οιστραδιόλης, οι οποίες αντιστοιχούν στο εύρος των συγκεντρώσεων που παρατηρούνται σε κύκλους μετά από διέγερση των ωοθηκών. Για το σκοπό αυτό, χορηγήθηκαν υψηλότερες δόσεις οιστρογόνων και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από ό, τι σε προηγούμενες πειραματικές μελέτες (Daforoulos et al. 2006). Επίσης, με τη μελέτη δύο κύκλων σε κάθε γυναίκα, οι γυναίκες αποτέλεσαν τη δική τους ομάδα ελέγχου. Είναι ενδιαφέρον ότι τα χαρακτηριστικά του κύματος της LH, που προκλήθηκε σε κύκλους θεραπείας παρουσία ανταγωνιστή ήταν παρόμοια με αυτά στους κύκλους ελέγχου, γεγονός που υποδηλώνει ότι, με εξαίρεση την καθυστερημένη έναρξη του κύματος της LH, ο ανταγωνιστής δεν επηρέασε το αποτέλεσμα. Επειδή όμως η παρούσα μελέτη δεν είχε ως σκοπό τη διερεύνηση δοσολογικής εξάρτησης (dose-finding study), δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο, υψηλότερες δόσεις αυτού του ανταγωνιστή να είναι πιο αποτελεσματικές.

Η αδυναμία του ganirelix να «μπλοκάρει» τη διεγερτική επίδραση των οιστρογόνων θα μπορούσε να εξηγηθεί από τα ευρήματα μιας πρόσφατης μελέτης, στην οποία σε φυσιολογικές γυναίκες χορηγήθηκαν δύο ενέσεις του GnRH ανταγωνιστή cetrotorelix, 0.25 mg με 24 ώρες διαφορά (Griesinger et al. 2006). Παρά το γεγονός ότι μετά την πρώτη ένεση τα βασικά επίπεδα της LH μειώθηκαν σημαντικά, η κατά ώσεις έκκριση της LH και οι βασικές τιμές επανήλθαν στο φυσιολογικό, δηλαδή όπως ήταν πριν από τη χορήγηση του ανταγωνιστή τουλάχιστον 6 ώρες πριν από τη δεύτερη ένεση (Griesinger et al. 2006). Αυτό

πιθανόν αντανακλά τη μείωση των επιπέδων του ανταγωνιστή πριν να συμπληρωθούν 24 ώρες από τη χορήγηση του. Είναι, επίσης, πιθανό ότι για μια ορισμένη χρονική περίοδο μεταξύ των δύο ενέσεων του ανταγωνιστή, η υπόφυση παραμένει “απροστάτευτη” στη διεγερτική επίδραση των οιστρογόνων, κατάσταση η οποία μπορεί να ενεργοποιήσει ενδοκυτταρικούς μηχανισμούς, που οδηγούν στην έκκριση γοναδοτροφινών. Εναλλακτικά, όπως έχει προκύψει από πειράματα σε πιθήκους, η εκκριτική αιχμή της LH μπορεί να προκληθεί από τα οιστρογόνα στο επίπεδο της υπόφυσης, ανεξάρτητα από τον GnRH υποδοχέα (Nakai et al. 1978) και ως εκ τούτου να μην μπορεί να εξουδετερωθεί από το GnRH ανταγωνιστή. Αυτή η πιθανότητα υποστηρίζεται επίσης από το γεγονός ότι ακόμη και μετά τη χορήγηση ισχυρών ανταγωνιστών, η εξωγενής χορήγηση GnRH, μπορεί να διεγείρει την έκκριση της LH (Marshall et al. 1986).

Στην παρούσα μελέτη, ένα σαφές κύμα της LH προκλήθηκε από τη χορήγηση οιστραδιόλης σε υπερ-φυσιολογικές συγκεντρώσεις, αν και σε κύκλους διέγερσης για την πραγματοποίηση εξωσωματικής γονιμοποίησης, που χρησιμοποιήθηκε ganirelix, μόνο αιχμές της LH παρατηρήθηκαν χωρίς σαφή παρουσία κύματος (E.M.E.O.S.Group 2001) και (Messinis et al. 2005). Αυτό δείχνει ότι ο ίδιος ανταγωνιστής συμπεριφέρθηκε διαφορετικά κατά τη διάρκεια της διέγερσης των ωοθηκών και σε μη διεγερμένους κύκλους. Η πιο πιθανή εξήγηση αυτής της διαφορετικότητας είναι οι διαφορετικές συνθήκες που υπάρχουν κατά τη διάρκεια των κύκλων σε διέγερση, στους οποίους όχι μόνο η οιστραδιόλη, αλλά και ο παράγοντας αμβλύνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF) υπερπαραγονται στα πλαίσια της διαδικασίας διέγερσης (Messinis 2006, Messinis et al. 1985). Είναι πιθανόν οι αιχμές της LH σε κύκλους διέγερσης να αντιπροσωπεύουν αποτυχημένα κύματα της LH, που προκύπτουν από τη συνδυαστική ανασταλτική δράση του GnRH ανταγωνιστή και του GnSAF στην υπόφυση.

Ένα επίσης ενδιαφέρον εύρημα της παρούσης μελέτης είναι ότι ο GnRH ανταγωνιστής, όταν χορηγήθηκε μαζί με οιστραδιόλη, δεν μείωσε τις βασικές τιμές

της LH περισσότερο απ' ό,τι μόνα τους τα οιστρογόνα. Κατά τη διάρκεια διέγερσης των ωοθηκών με τη χορήγηση FSH για την πραγματοποίηση εξωσωματικής γονιμοποίησης χωρίς τη χρήση ενός GnRH αγωνιστή, η βασική τιμή της LH μειώνεται σημαντικά (Messinis et al. 1998) και δεν παρατηρείται περαιτέρω μείωση μετά την προσθήκη του ανταγωνιστή (Felberbaum et al. 2000).

Είναι προφανές ότι οι χρησιμοποιούμενοι ανταγωνιστές, όπως ο ganirelix, μόνο εν μέρει μπορεί να συμβάλουν στην τροποποίηση της ενδοκρινολογίας σε υπερδιεγερμένους κύκλους, στους οποίους η διαδικασία υπερδιέγερσης από μόνη της φαίνεται να είναι ο βασικός ρυθμιστής των φαινομένων. Επειδή η τρέχουσα δόση των 0.25 mg ganirelix φαίνεται να είναι οριακά αποτελεσματική στην πρόληψη του κύματος της LH, η καταστολή με GnRH αγωνιστή φαίνεται να είναι μια πιο αποτελεσματική προσέγγιση σε IVF κύκλους, επειδή μπορούν να επιτύχουν εξάντληση των GnRH υποδοχέων και μείωση των αποθηκών των γοναδοτροφινών στην υπόφυση.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη έδειξε για πρώτη φορά ότι ο GnRH ανταγωνιστής, ganirelix, δεν είναι σε θέση να «μπλοκάρει» το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, που προκαλείται από την εξωγενή οιστραδιόλη σε γυναίκες με μη διεγερμένες ωοθήκες. Είναι πιθανό, ότι η κλινική αποτελεσματικότητα αυτών των φαρμακευτικών ουσιών σε κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης καθορίζεται από την ίδια τη διαδικασία της υπερδιέγερσης.

8. Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν πολύ σημαντικά δεδομένα σχετικά με τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του κύματος της LH. Συγκεκριμένα:

1. Τα αποτελέσματα δείχνουν για πρώτη φορά ότι μετά από ωθηκεκτομία, ενδογενές κύμα της LH πυροδοτήθηκε μετά από χορήγηση προγεστερόνης σε γυναίκες που είχαν ήδη λάβει οιστρογόνα.
2. Η ποικίλη απάντηση στη χορήγηση μόνο οιστρογόνων χωρίς σαφή εκδήλωση κύματος μπορεί πιθανώς να οφείλεται σε προσωρινή διαταραχή της λειτουργίας του υποθάλαμο-υποφυσιακού άξονα αμέσως μετά την ωθηκεκτομία.
3. Φαίνεται πως είναι απαραίτητη η συνδυασμένη δράση οιστρογόνων και προγεστερόνης για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού στις γυναίκες, κάτι που ενδεχομένως σχετίζεται με την εκδήλωση του μεσοκύκλιου κύματος της LH.
4. Η προγεστερόνη φαίνεται να σχετίζεται με τον τερματισμό του κύματος της LH.
5. Ο GnRH ανταγωνιστής, ganirelix, δεν είναι σε θέση να «μπλοκάρει» το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης που προκαλείται από τη χορήγηση οιστραδιόλης σε γυναίκες με μη διεγερμένες ωθήκες.
6. Τα ευρήματα πιθανολογούν ότι η κλινική αποτελεσματικότητα των GnRH ανταγωνιστών σε κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης καθορίζεται από την ίδια τη διαδικασία ωθηκικής διέγερσης.

9. Περίληψη

Ένα βασικό χαρακτηριστικό του γεννητικού κύκλου είναι η πυροδότηση, μέσω του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, του κύματος της LH. Ωστόσο, πολλά από τα στοιχεία αυτού του μηχανισμού και ιδιαίτερα η δράση της προγεστερόνης παραμένουν αδιευκρίνιστα. Πολύ σημαντικό θέμα επίσης είναι η μελέτη του κατά πόσον οι GnRH ανταγωνιστές μπορούν να αναστείλουν το θετικό μηχανισμό, ώστε να αποτραπεί η εμφάνιση του κύματος σε καταστάσεις ωθηκικής διέγερσης.

Σκοποί της μελέτης:

Σκοπός της παρούσης μελέτης αποτέλεσε η διερεύνηση της δράσης της προγεστερόνης στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης σε γυναίκες αμέσως μετά από ωθηκεκτομία και ο πιθανός ρόλος της στον μηχανισμό του τερματισμού του κύματος της LH. Επίσης, η διερεύνηση της λειτουργίας του μηχανισμού θετικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, μετά από χορήγηση εξωγενών οιστρογόνων, και της επίτευξης κύματος της LH, σε γυναίκες με μη διεγερμένες ωθήκες, που λαμβάνουν πολλαπλές δόσεις του GnRH ανταγωνιστή, ganirelix.

Υλικά και μέθοδοι:

Η πειραματική διαδικασία περιέλαβε 20 συνολικά γυναίκες σε δύο ομάδες, ΟΜΑΔΑ Α και ΟΜΑΔΑ Β. Η ΟΜΑΔΑ Α περιέλαβε 12 από τις γυναίκες (39 – 49 ετών) με φυσιολογικό γεννητικό κύκλο, οι οποίες μελετήθηκαν μετά από προγραμματισμένη για μη κακοήγη νοσήματα ολική υστερεκτομία μετά των εξαρτημάτων, την 3η ημέρα του κύκλου τους (ημέρα 0). Αμέσως μετά το τέλος της επέμβασης, οι γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο επιμέρους ομάδες, Ομάδα 1 και Ομάδα 2. Οι γυναίκες της Ομάδας 1 έλαβαν οιστραδιόλη διαδερμικά (n=6) από την 3η ημέρα (ημέρα 0) σε δόση 100 μg, τις επόμενες δύο ημέρες (μετεγχειρητικές

ημέρες 1 και 2) 150 µg και τις μετεγχειρητικές ημέρες 3 έως και 7 50 µg/ημέρα. Οι γυναίκες της ομάδας 2 έλαβαν οιστραδιόλη όπως στην Ομάδα 1 και επιπλέον προγεστερόνη διακολλικά από την 1η έως την 7η μετεγχειρητική ημέρα (n=6).

Η ΟΜΑΔΑ Β περιέλαβε τις υπόλοιπες 8 γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο. Οι γυναίκες αυτές εξετάστηκαν κατά τη διάρκεια δύο εμμηνορρυσιακών κύκλων, δηλαδή, στον Κύκλο 1 (ελέγχου) και στον Κύκλο 2 (μελέτης). Μεταξύ των δύο κύκλων, υπήρχε 1 μήνας διακοπής (“wash-out” κύκλος). Και στους δύο κύκλους, οι γυναίκες έλαβαν εξωγενώς οιστρογόνα σε αυτοκόλλητα δέρματος (TTS Dermestril FARAN, Athens, Greece). Στον Κύκλο 2, οι γυναίκες έλαβαν επίσης σε υποδόριες ενέσεις τον GnRH ανταγωνιστή, ganirelix.

Αποτελέσματα:

ΟΜΑΔΑ Α

Μετά την υστερεκτομία, η χορήγηση των οιστρογόνων οδήγησε σε αύξηση της οιστραδιόλης του αίματος σε όλες τις γυναίκες φτάνοντας σε μέγιστη τιμή στις ~66 ώρες και στη συνέχεια μειώθηκε, χωρίς να υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες. Τα επίπεδα της προγεστερόνης μειώθηκαν σημαντικά στην Ομάδα 1, ενώ παρέμειναν σταθερά στην Ομάδα 2 και σε επίπεδο στατιστικά σημαντικά υψηλότερο από την Ομάδα 1. Μία αύξηση τύπου ενδογενούς κύματος τόσο της LH όσο και της FSH παρατηρήθηκε στην Ομάδα 2. Μετά την έναρξη του κύματος, οι τιμές της LH και της FSH έφθασαν σε αιχμή και στη συνέχεια επανήλθαν στη βασική γραμμή. Σε αντίθεση με την Ομάδα 2, στην Ομάδα 1 οι τιμές της LH και της FSH μετά μία αρχική σημαντική μείωση, παρουσίασαν μία συνεχή αύξηση, χωρίς ευκρινές κύμα, μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας.

ΟΜΑΔΑ Β

Στις γυναίκες της ομάδας αυτής, οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης αυξήθηκαν σημαντικά μετά την εξωγενή χορήγηση της ενώ, οι τιμές της LH και της FSH μειώθηκαν σημαντικά, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο κύκλων. Αποτέλεσμα της χορήγησης των οιστρογόνων, ήταν η εμφάνιση σε όλες τις γυναίκες ενός ενδογενούς κύματος της LH και στους δύο κύκλους. Ο τύπος των αλλαγών της LH κατά το κύμα ήταν σχεδόν ταυτόσημος στους δύο κύκλους. Η διάρκεια του κύματος της LH ήταν παρόμοια και στους δύο κύκλους. Το χρονικό διάστημα από την έναρξη της χορήγησης των οιστρογόνων μέχρι την έναρξη του κύματος της LH ήταν σημαντικά μικρότερο στον Κύκλο 1, Παρ' όλα αυτά, οι μέγιστες τιμές της οιστραδιόλης σε σχέση με την έναρξη της χορήγησης των οιστρογόνων επιτεύχθηκαν αργότερα στον Κύκλο 2 (87 ± 17.8 ώρες) από ό,τι στον κύκλο 1 (75 ± 17.8 ώρες $P < 0.001$). Η διάρκεια του Κύκλου 1 (33.3 ± 1.7 ημέρες) και του Κύκλου 2 (32.6 ± 2.6 ημέρες) ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη του κύκλου, που προηγήθηκε της πειραματικής διαδικασίας (27.5 ± 0.6 ημέρες, $P < 0.05$).

Συμπεράσματα:

Η συνδυασμένη δράση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης είναι απαραίτητη για την πλήρη έκφραση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και την εκδήλωση του ενδογενούς κύματος της LH. Επίσης είναι πιθανή η συμμετοχή της προγεστερόνης στο μηχανισμό, που τερματίζει το κύμα της LH.

Ο ανταγωνιστής της GnRH, ganirelix, δεν είναι σε θέση να «μπλοκάρει» το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης που προκαλείται από εξωγενή οιστρογόνα σε γυναίκες με μη διεγερμένες ωοθήκες. Αυτό υποδηλώνει μειωμένη αποτελεσματικότητα των GnRH ανταγωνιστών μετά τη χορήγηση σε πρωτόκολλα ωοθηκικής διέγερσης σε ό,τι αφορά στον αποκλεισμό του κύματος της LH.

10. Summary

Background:

A stable characteristic of the normal menstrual cycle is the triggering of the LH surge through the positive feedback mechanism. There are still several unclarified issues of this mechanism and especially regarding the role of progesterone.

Objectives:

The aim of the first part of the study was to investigate the positive feedback effect of progesterone during the immediate period following ovariectomy and furthermore to investigate the role of progesterone in the mechanism that terminates the LH surge in women.

The aim of the second part of the study was to clarify the ability of estradiol administration to induce positive feedback effect and to trigger the LH surge in unstimulated cycles of women in which multiple doses of the GnRH antagonist, ganirelix was given.

Subjects and methods:

Experiments were performed in 20 normally cycling women. Twelve of these women (aged 39-49 yr), (Group A) were studied immediately after abdominal hysterectomy plus bilateral ovariectomy performed on cycle day 3 (day 0) for non malignant causes. The women received either estradiol via skin patches (days 0 to 7, n=6, subgroup 1) or estradiol as above plus vaginal progesterone (days 1 to 7, n=6, subgroup 2). The other eight normally cycling women were investigated during two menstrual cycles, i.e., cycle 1 (control) and cycle 2 (treatment). Between the two cycles there was a 1-month break ("wash-out" cycle). In both cycles, the women received exogenous estrogen via skin patches. In cycle 2, the women also received SC injections of the GnRH antagonist, ganirelix.

Results:

In group A, after hysterectomy and following the estradiol administration, serum estradiol values increased in all women reaching a peak in ~66 hours and declining thereafter with no significant differences between the two groups. After the operation, serum progesterone levels decreased significantly in subgroup 1, while in subgroup 2 they remained stable becoming significantly higher than in group 1. A surge-type significant rise of LH and FSH occurred in group 2. Following the peak value, LH and FSH levels returned to the pre-surge baseline. In contrast, in group 1 LH and FSH levels following an initial decrease, increased gradually until the end of the experiment.

In Group B, serum E2 concentrations increased significantly after its exogenous administration, and LH and FSH values decreased significantly ($P < .05$), with no significant differences between the two cycles. In all women of Group B as a result of the estrogen administration, an endogenous LH surge occurred in both cycles. The pattern of LH changes during the surge was almost identical in the two cycles, with no significant differences between them at all time points. The time interval from the onset of estrogen administration to the onset of the LH surge was significantly shorter in cycle 1 than in cycle 2. Nevertheless, peak E2 values in relation to the onset of estrogen administration were achieved later in cycle 2 (87 ± 17.8 hours) than in cycle 1 (75 ± 17.8 hours; $P < .001$). The duration of cycle 1 (33.3 ± 1.7 days) and of cycle 2 (32.6 ± 2.6 days) was significantly longer than that of the cycle preceding cycle 1 (27.5 ± 0.6 days; $P < .05$).

Conclusions:

The present study showed for the first time that:

-The combining action of estradiol and progesterone can ensure the expression of a positive feedback mechanism in women.

- A possible action of progesterone in the termination of LH surge is also suggested.
- GnRH antagonist ganirelix was unable to block the positive-feedback effect of E2 in women with non-stimulated ovaries.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aboulghar, M. A., R. T. Mansour, G. I. Serour, H. G. Al-Inany, Y. M. Amin and M. M. Aboulghar (2004). "Increasing the dose of human menopausal gonadotrophins on day of GnRH antagonist administration: randomized controlled trial." Reprod Biomed Online **8**(5): 524-527.

Adams, J. M., A. E. Taylor, D. A. Schoenfeld, W. F. Crowley, Jr. and J. E. Hall (1994). "The midcycle gonadotropin surge in normal women occurs in the face of an unchanging gonadotropin-releasing hormone pulse frequency." J Clin Endocrinol Metab **79**(3): 858-864.

Aiyer, M. S., S. A. Chiappa and G. Fink (1974). "A priming effect of luteinizing hormone releasing factor on the anterior pituitary gland in the female rat." J Endocrinol **62**(3): 573-588.

Al-Inany, H. and M. Aboulghar (2002). "GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review." Hum Reprod **17**(4): 874-885.

Al-Inany, H. G., A. M. Abou-Setta and M. Aboulghar (2007). "Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review." Reprod Biomed Online **14**(5): 640-649.

Al-Inany, H. G., M. A. Youssef, M. Aboulghar, F. Broekmans, M. Sterrenburg, J. Smit and A. M. Abou-Setta (2011). "Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology." Cochrane Database Syst Rev(5): CD001750.

Albano, C., R. E. Felberbaum, J. Smitz, H. Riethmuller-Winzen, J. Engel, K. Diedrich and P. Devroey (2000). "Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group." Hum Reprod **15**(3): 526-531.

Albano, C., J. Smitz, M. Camus, H. Riethmuller-Winzen, A. Van Steirteghem and P. Devroey (1997). "Comparison of different doses of gonadotropin-releasing

hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation." Fertil Steril **67**(5): 917-922.

Albano, C., J. Smitz, H. Tournaye, H. Riethmuller-Winzen, A. Van Steirteghem and P. Devroey (1999). "Luteal phase and clinical outcome after human menopausal gonadotrophin/gonadotrophin releasing hormone antagonist treatment for ovarian stimulation in in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles." Hum Reprod **14**(6): 1426-1430.

Alexandris, E., S. Milingos, G. Kollios, K. Seferiadis, D. Lolis and I. E. Messinis (1997). "Changes in gonadotrophin response to gonadotrophin releasing hormone in normal women following bilateral ovariectomy." Clin Endocrinol (Oxf) **47**(6): 721-726.

Attardi, B., H. S. Keeping, S. J. Winters, F. Kotsuji and P. Troen (1991). "Comparison of the effects of cycloheximide and inhibin on the gonadotropin subunit messenger ribonucleic acids." Endocrinology **128**(1): 119-125.

Attardi, B., J. Vaughan and W. Vale (1992). "Regulation of FSH beta messenger ribonucleic acid levels in the rat by endogenous inhibin." Endocrinology **130**(1): 557-559.

Baccarelli, A., P. S. Morpurgo, A. Corsi, I. Vaghi, M. Fanelli, G. Cremonesi, S. Vaninetti, P. Beck-Peccoz and A. Spada (2001). "Activin A serum levels and aging of the pituitary-gonadal axis: a cross-sectional study in middle-aged and elderly healthy subjects." Exp Gerontol **36**(8): 1403-1412.

Barbieri, R. L. and M. D. Hornstein (1999). "Assisted reproduction-in vitro fertilization success is improved by ovarian stimulation with exogenous gonadotropins and pituitary suppression with gonadotropin-releasing hormone analogues." Endocr Rev **20**(3): 249-252.

Barlow, D. H., Macnaughton, M.C., Mowat, J. et al. (1981). Hormonal profiles in the menopause. The Functional Morphology of the Human Ovary. Lancaster, UK, MTP Press: 223-234.

Batista, M. C., T. P. Cartledge, A. W. Zellmer, L. K. Nieman, G. R. Merriam and D. L. Loriaux (1992). "Evidence for a critical role of progesterone in the regulation of

the midcycle gonadotropin surge and ovulation." J Clin Endocrinol Metab **74**(3): 565-570.

Beckers, N. G., J. S. Laven, M. J. Eijkemans and B. C. Fauser (2000). "Follicular and luteal phase characteristics following early cessation of gonadotrophin-releasing hormone agonist during ovarian stimulation for in-vitro fertilization." Hum Reprod **15**(1): 43-49.

Bicsak, T. A., E. M. Tucker, S. Cappel, J. Vaughan, J. Rivier, W. Vale and A. J. Hsueh (1986). "Hormonal regulation of granulosa cell inhibin biosynthesis." Endocrinology **119**(6): 2711-2719.

Bouchard, P. and B. C. Fauser (2000). "Gonadotropin-releasing hormone antagonist: new tools vs. old habits." Fertil Steril **73**(1): 18-20.

Bremner, W. J. and C. A. Paulsen (1974). "Two pools of luteinizing hormone in the human pituitary: evidence from constant administration of luteinizing hormone-releasing hormone." J Clin Endocrinol Metab **39**(5): 811-815.

Burger, H. G. (1992). "Inhibin." Reprod Med Rev **1**: 1-20.

Burger, H. G., N. Cahir, D. M. Robertson, N. P. Groome, E. Dudley, A. Green and L. Dennerstein (1998). "Serum inhibins A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women." Clin Endocrinol (Oxf) **48**(6): 809-813.

Casan, E. M., F. Raga, F. Bonilla-Musoles and M. L. Polan (2000). "Human oviductal gonadotropin-releasing hormone: possible implications in fertilization, early embryonic development, and implantation." J Clin Endocrinol Metab **85**(4): 1377-1381.

Cedrin-Durnerin, I., D. Grange-Dujardin, A. Laffy, I. Parneix, N. Massin, J. Galey, L. Theron, J. P. Wolf, C. Conord, P. Clement, S. Jayot and J. N. Hugues (2004). "Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study." Hum Reprod **19**(9): 1979-1984.

Chabbert-Buffet, N. and P. Bouchard (2002). "The normal human menstrual cycle." Rev Endocr Metab Disord **3**(3): 173-183.

Chakravarti, S., W. P. Collins, J. R. Newton, D. H. Oram and J. W. Studd (1977). "Endocrine changes and symptomatology after oophorectomy in premenopausal women." Br J Obstet Gynaecol **84**(10): 769-775.

Chang, R. J. and R. B. Jaffe (1978). "Progesterone effects on gonadotropin release in women pretreated with estradiol." J Clin Endocrinol Metab **47**(1): 119-125.

Chang, S. Y., C. L. Lee, M. L. Wang, M. L. Hu, Y. M. Lai, M. Y. Chang and Y. K. Soong (1993). "No detrimental effects in delaying initiation of gonadotropin administration after pituitary desensitization with gonadotropin-releasing hormone agonist." Fertil Steril **59**(1): 183-186.

Chappell, P. E., J. S. Schneider, P. Kim, M. Xu, J. P. Lydon, B. W. O'Malley and J. E. Levine (1999). "Absence of gonadotropin surges and gonadotropin-releasing hormone self-priming in ovariectomized (OVX), estrogen (E2)-treated, progesterone receptor knockout (PRKO) mice." Endocrinology **140**(8): 3653-3658.

Chian, R. C., W. M. Buckett, T. Tulandi and S. L. Tan (2000). "Prospective randomized study of human chorionic gonadotrophin priming before immature oocyte retrieval from unstimulated women with polycystic ovarian syndrome." Hum Reprod **15**(1): 165-170.

Clarke, I. J. (1995). "Evidence that the switch from negative to positive feedback at the level of the pituitary gland is an important timing event for the onset of the preovulatory surge in LH in the ewe." J Endocrinol **145**(2): 271-282.

Conn, P. M. and W. F. Crowley, Jr. (1994). "Gonadotropin-releasing hormone and its analogs." Annu Rev Med **45**: 391-405.

Couzinet, B., S. Brailly, P. Bouchard and G. Schaison (1992). "Progesterone stimulates luteinizing hormone secretion by acting directly on the pituitary." J Clin Endocrinol Metab **74**(2): 374-378.

Dafopoulos, K., C. G. Kotsovassilis, S. Milingos, A. Kallitsaris, G. Galazios, E. Zintzaras, P. Sotiros and I. E. Messinis (2004). "Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role." Hum Reprod **19**(9): 1985-1992.

Dafopoulos, K., I. Mademtzis, P. Vanakara, A. Kallitsaris, G. Stamatiou, C. Kotsovassilis and I. E. Messinis (2006). "Evidence that termination of the estradiol-induced luteinizing hormone surge in women is regulated by ovarian factors." J Clin Endocrinol Metab **91**(2): 641-645.

Dal Prato, L., A. Borini, G. Coticchio, M. Cattoli and C. Flamigni (2004). "Half-dose depot triptorelin in pituitary suppression for multiple ovarian stimulation in assisted reproduction technology: a randomized study." Hum Reprod **19**(10): 2200-2205.

Danforth, D. R., L. K. Arbogast, J. Mroueh, M. H. Kim, E. A. Kennard, D. B. Seifer and C. I. Friedman (1998). "Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging." Fertil Steril **70**(1): 119-123.

Danforth, D. R. and C. Y. Cheng (1995). "Purification of a candidate gonadotropin surge inhibiting factor from porcine follicular fluid." Endocrinology **136**(4): 1658-1665.

Daya, S. (2000). "Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles." Cochrane Database Syst Rev(2): CD001299.

de Kretser, D. M., M. P. Hedger, K. L. Loveland and D. J. Phillips (2002). "Inhibins, activins and follistatin in reproduction." Hum Reprod Update **8**(6): 529-541.

de Vet, A., J. S. Laven, F. H. de Jong, A. P. Themmen and B. C. Fauser (2002). "Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging." Fertil Steril **77**(2): 357-362.

Devroey, P. (2000). "GnRH antagonists." Fertil Steril **73**(1): 15-17.

Diedrich, K., C. Diedrich, E. Santos, C. Zoll, S. al-Hasani, T. Reissmann, D. Krebs and D. Klingmuller (1994). "Suppression of the endogenous luteinizing hormone

surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation." Hum Reprod **9**(5): 788-791.

Dimitry, E. S., T. Oskarsson, J. Conaghan, R. Margara and R. M. Winston (1991). "Beneficial effects of a 24 h delay in human chorionic gonadotrophin administration during in-vitro fertilization treatment cycles." Hum Reprod **6**(7): 944-946.

Djahanbakhch, O., A. S. McNeilly, P. M. Warner, I. A. Swanston and D. T. Baird (1984). "Changes in plasma levels of prolactin, in relation to those of FSH, oestradiol, androstenedione and progesterone around the preovulatory surge of LH in women." Clin Endocrinol (Oxf) **20**(4): 463-472.

Donderwinkel, P. F., D. C. Schoot, T. D. Pache, F. H. de Jong, W. C. Hop and B. C. Fauser (1993). "Luteal function following ovulation induction in polycystic ovary syndrome patients using exogenous gonadotrophins in combination with a gonadotrophin-releasing hormone agonist." Hum Reprod **8**(12): 2027-2032.

"A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group." (1998). Hum Reprod **13**(11): 3023-3031.

E.M.E.O.S.Group (2001). "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 **16**(4): 644-651.

Engel, J. B., M. Ludwig, R. Felberbaum, C. Albano, P. Devroey and K. Diedrich (2002). "Use of cetrorelix in combination with clomiphene citrate and gonadotrophins: a suitable approach to 'friendly IVF'?" Hum Reprod **17**(8): 2022-2026.

Evans, N. P., G. E. Dahl, V. Padmanabhan, L. A. Thrun and F. J. Karsch (1997). "Estradiol requirements for induction and maintenance of the gonadotropin-releasing hormone surge: implications for neuroendocrine processing of the estradiol signal." Endocrinology **138**(12): 5408-5414.

Evans, W. S., B. J. Boykin, D. L. Kaiser, J. L. Borges and M. O. Thorner (1983). "Biphasic luteinizing hormone secretion in response to gonadotropin-releasing hormone during continuous perfusion of dispersed rat anterior pituitary cells: changes in total release and the phasic components during the estrous cycle." Endocrinology **112**(2): 535-542.

Farnworth, P. G., D. M. Robertson, D. M. de Kretser and H. G. Burger (1988). "Effects of 31 kilodalton bovine inhibin on follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in rat pituitary cells in vitro: actions under basal conditions." Endocrinology **122**(1): 207-213.

Fatemi, H. M. and J. Garcia-Velasco (2015). "Avoiding ovarian hyperstimulation syndrome with the use of gonadotropin-releasing hormone agonist trigger." Fertil Steril **103**(4): 870-873.

Fausser, B. C. and P. Devroey (2005). "Why is the clinical acceptance of gonadotropin-releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization so slow?" Fertil Steril **83**(6): 1607-1611.

Felberbaum, R. E., C. Albano, M. Ludwig, H. Riethmuller-Winzen, M. Grigat, P. Devroey and K. Diedrich (2000). "Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study." Hum Reprod **15**(5): 1015-1020.

Ferin, M., I. Dyrenfurth, S. Cowchock, M. Warren and R. L. Wiele (1974). "Active immunization to 17 beta-estradiol and its effects upon the reproductive cycle of the rhesus monkey." Endocrinology **94**(3): 765-776.

Ferin, M., H. Rosenblatt, P. W. Carmel, J. L. Antunes and R. L. Vande Wiele (1979). "Estrogen-induced gonadotropin surges in female rhesus monkeys after pituitary stalk section." Endocrinology **104**(1): 50-52.

Filicori, M. (1994). "Gonadotrophin-releasing hormone agonists. A guide to use and selection." Drugs **48**(1): 41-58.

Filicori, M., N. Santoro, G. R. Merriam and W. F. Crowley, Jr. (1986). "Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **62**(6): 1136-1144.

Fleming, R., A. H. Adam, D. H. Barlow, W. P. Black, M. C. MacNaughton and J. R. Coutts (1982). "A new systematic treatment for infertile women with abnormal hormone profiles." Br J Obstet Gynaecol **89**(1): 80-83.

Fleming, R., C. Conaghan and J. R. Coutts (1986). "The uses of LH-releasing hormone and analogs in infertility." Ir J Med Sci **155**(12 Suppl): 22-29.

Fowler, P. A., I. E. Messinis and A. A. Templeton (1990). "Inhibition of LHRH-induced LH and FSH release by gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF) from human follicular fluid." J Reprod Fertil **90**(2): 587-594.

Fowler, P. A., T. Sorsa-Leslie, P. Cash, B. Dunbar, W. Melvin, Y. Wilson, H. D. Mason and W. Harris (2002). "A 60-66 kDa protein with gonadotrophin surge attenuating factor bioactivity is produced by human ovarian granulosa cells." Mol Hum Reprod **8**(9): 823-832.

Fowler, P. A., T. Sorsa-Leslie, W. Harris and H. D. Mason (2003). "Ovarian gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF): where are we after 20 years of research?" Reproduction **126**(6): 689-699.

Fowler, P. A., T. Sorsa, W. J. Harris, P. G. Knight and H. D. Mason (2001). "Relationship between follicle size and gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) bioactivity during spontaneous cycles in women." Hum Reprod **16**(7): 1353-1358.

Fowler, P. A. and A. Templeton (1996). "The nature and function of putative gonadotropin surge-attenuating/inhibiting factor (GnSAF/IF)." Endocr Rev **17**(2): 103-120.

Geiger, J. M., S. Plas-Roser and C. Aron (1980). "Mechanisms of ovulation in female rats treated with FSH at the beginning of the estrous cycle: changes in pituitary responsiveness to luteinizing hormone releasing hormone (LHRH)." Biol Reprod **22**(4): 837-845.

Griesinger, G., A. Dawson, A. Schultze-Mosgau, D. Finas, K. Diedrich and R. Felberbaum (2006). "Assessment of luteinizing hormone level in the gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol." Fertil Steril **85**(3): 791-793.

Groome, N. P., P. J. Illingworth, M. O'Brien, R. Pai, F. E. Rodger, J. P. Mather and A. S. McNeilly (1996). "Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **81**(4): 1401-1405.

Grundker, C., K. Schulz, A. R. Gunthert and G. Emons (2000). "Luteinizing hormone-releasing hormone induces nuclear factor kappaB-activation and inhibits apoptosis in ovarian cancer cells." J Clin Endocrinol Metab **85**(10): 3815-3820.

Guillemin, R., M. Amoss, R. Blackwell, R. Burgus, G. Grant, N. Ling, M. Monahan, J. Rivier and W. Vale (1971). "Polypeptides antagonists of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor." Gynecol Invest **2**(1): 2-12.

Hoff, J. D., B. L. Lasley, C. F. Wang and S. S. Yen (1977). "The two pools of pituitary gonadotropin: regulation during the menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **44**(2): 302-312.

Hoff, J. D., B. L. Lasley and S. S. Yen (1979). "The functional relationship between priming and releasing actions of luteinizing hormone-releasing hormone." J Clin Endocrinol Metab **49**(1): 8-11.

Hoff, J. D., M. E. Quigley and S. S. Yen (1983). "Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation." J Clin Endocrinol Metab **57**(4): 792-796.

Hohmann, F. P., N. S. Macklon and B. C. Fauser (2003). "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 **88**(1): 166-173.

Hugues, J. N. and I. C. Cedrin Durnerin (1998). "Revisiting gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols and management of poor ovarian responses to gonadotrophins." Hum Reprod Update **4**(1): 83-101.

Huirne, J. A. and C. B. Lambalk (2001). "Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists." Lancet **358**(9295): 1793-1803.

Huirne, J. A., C. B. Lambalk, A. C. van Loenen, R. Schats, P. G. Hompes, B. C. Fauser and N. S. Macklon (2004). "Contemporary pharmacological manipulation in assisted reproduction." Drugs **64**(3): 297-322.

Janssens, R. M., C. B. Lambalk, J. P. Vermeiden, R. Schats, J. M. Bernards, L. T. Rekers-Mombarg and J. Schoemaker (2000). "Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study." Hum Reprod **15**(11): 2333-2340.

Johansson, E. D. and L. Wide (1969). "Periovulatory levels of plasma progesterone and luteinizing hormone in women." Acta Endocrinol (Copenh) **62**(1): 82-88.

Judd, S., A. Terry, M. Petrucco and G. White (1992). "The source of pulsatile secretion of progesterone during the human follicular phase." J Clin Endocrinol Metab **74**(2): 299-305.

Kamel, E. M., S. A. Maurer, M. G. Hochler, D. I. Hoffman and R. W. Rebar (1991). "Gonadotropin dynamics in women receiving immediate or delayed transdermal estradiol after oophorectomy." Obstet Gynecol **78**(1): 98-102.

Kang, S. K., C. J. Tai, K. W. Cheng and P. C. Leung (2000). "Gonadotropin-releasing hormone activates mitogen-activated protein kinase in human ovarian and placental cells." Mol Cell Endocrinol **170**(1-2): 143-151.

Karande, V. C., R. T. Scott, Jr. and D. F. Archer (1990). "The relationship between serum estradiol-17 beta concentrations and induced pituitary luteinizing hormone surges in postmenopausal women." Fertil Steril **54**(2): 217-221.

Karsch, F. J., R. F. Weick, W. R. Butler, D. J. Dierschke, L. C. Krey, G. Weiss, J. Hotchkiss, T. Yamaji and E. Knobil (1973). "Induced LH surges in the rhesus monkey: strength-duration characteristics of the estrogen stimulus." Endocrinology **92**(6): 1740-1747.

Kazem, R., L. E. Messinis, P. Fowler, N. P. Groome, P. G. Knight and A. A. Templeton (1996). "Effect of mifepristone (RU486) on the pituitary response to gonadotrophin releasing hormone in women." Hum Reprod **11**(12): 2585-2590.

Keye, W. R., Jr. and R. B. Jaffe (1975). "Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. I. Effects of varying duration of estradiol administration." J Clin Endocrinol Metab **41**(06): 1003-1008.

Kishi, H., T. Okada, M. Otsuka, G. Watanabe, K. Taya and S. Sasamoto (1996). "Induction of superovulation by immunoneutralization of endogenous inhibin through the increase in the secretion of follicle-stimulating hormone in the cyclic golden hamster." J Endocrinol **151**(1): 65-75.

Klein, N. A., B. S. Houmard, K. R. Hansen, T. K. Woodruff, P. M. Sluss, W. J. Bremner and M. R. Soules (2004). "Age-related analysis of inhibin A, inhibin B, and activin a relative to the intercycle monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal ovulatory women." J Clin Endocrinol Metab **89**(6): 2977-2981.

Knobil, E. (1988). "The neuroendocrine control of ovulation." Hum Reprod **3**(4): 469-472.

Kol, S., A. Lightman, T. Hillensjo, P. Devroey, B. Fauser, B. Tarlatzis, B. Mannaerts and J. Itskovitz-Eldor (1999). "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 **14**(9): 2242-2244.

Kolp, L. A., S. N. Pavlou, R. J. Urban, J. C. Rivier, W. W. Vale and J. D. Veldhuis (1992). "Abrogation by a potent gonadotropin-releasing hormone antagonist of the estrogen/progesterone-stimulated surge-like release of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in postmenopausal women." J Clin Endocrinol Metab **75**(4): 993-997.

Koppenaar, D. W., A. M. Tijssen and J. de Koning (1992). "The effect of gonadotrophin surge-inhibiting factor on the self-priming action of gonadotrophin-releasing hormone in female rats in vitro." J Endocrinol **134**(3): 427-436.

Laatikainen, T., I. Raisanen, A. Tulenheimo and K. Salminen (1985). "Plasma beta-endorphin and the menstrual cycle." Fertil Steril **44**(2): 206-209.

Laborde, N., M. Carril, S. Cheviakoff, H. D. Croxatto, E. Pedroza and J. M. Rosner (1976). "The secretion of progesterone during the periovulatory period in women with certified ovulation." J Clin Endocrinol Metab **43**(5): 1157-1163.

Labrie, F., C. Auclair, L. Cusan, A. Lemay, A. Belanger, P. A. Kelly, L. Ferland, G. Azadian-Boulanger and J. P. Raynaud (1979). "Inhibitory effects of treatment with LHRH or its agonists on ovarian receptor levels and function." Adv Exp Med Biol **112**: 687-693.

Landgren, B. M., A. R. Aedo, M. Nunez, S. Z. Cekan and E. Diczfalusy (1977). "Studies on the pattern of circulating steroids in the normal menstrual cycle. 4. Periovulatory changes in relation to the LH surge." Acta Endocrinol (Copenh) **84**(3): 620-632.

Lasley, B. L., C. F. Wang and S. S. Yen (1975). "The effects of estrogen and progesterone on the functional capacity of the gonadotrophs." J Clin Endocrinol Metab **41**(5): 820-826.

Laws, S. C., J. C. Webster and W. L. Miller (1990). "Estradiol alters the effectiveness of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in ovine pituitary cultures: GnRH receptors versus responsiveness to GnRH." Endocrinology **127**(1): 381-386.

le Nestour, E., J. Marraoui, N. Lahlou, M. Roger, D. de Ziegler and P. Bouchard (1993). "Role of estradiol in the rise in follicle-stimulating hormone levels during the luteal-follicular transition." J Clin Endocrinol Metab **77**(2): 439-442.

Legan, S. J. and H. W. Tsai (2003). "Oestrogen receptor-alpha and -beta immunoreactivity in gonadotropin-releasing hormone neurones after ovariectomy and chronic exposure to oestradiol." J Neuroendocrinol **15**(12): 1164-1170.

Leth-Moller, K., S. Hammer Jagd and P. Humaidan (2014). "The Luteal Phase after GnRH α Trigger-Understanding An Enigma." Int J Fertil Steril **8**(3): 227-234.

Leyendecker, G., L. Wildt, H. Gips, W. Nocke and E. J. Plotz (1976). "Experimental studies on the positive feedback effect of progesterone, 17 alpha-hydroxyprogesterone and 20 alpha-dihydroprogesterone on the pituitary release of LH and FSH in the human female. The estrogen priming of the progesterone feedback on pituitary gonadotropins in the eugonadal woman." Arch Gynakol **221**(1): 29-45.

Leyendecker, G., L. Wildt and M. Hansmann (1980). "Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) administration of Gn-RH by means of a portable pump ("Zyklomat")--a new approach to the treatment of infertility in hypothalamic amenorrhea." J Clin Endocrinol Metab **51**(5): 1214-1216.

Lind, T., E. H. Cameron and W. M. Hunter (1978). "Serum prolactin, gonadotrophin and oestrogen levels in women receiving hormone replacement therapy." Br J Obstet Gynaecol **85**(2): 138-141.

Ling, N., S. Y. Ying, N. Ueno, S. Shimasaki, F. Esch, M. Hotta and R. Guillemin (1986). "A homodimer of the beta-subunits of inhibin A stimulates the secretion of pituitary follicle stimulating hormone." Biochem Biophys Res Commun **138**(3): 1129-1137.

Liu, J. H. and S. S. Yen (1983). "Induction of midcycle gonadotropin surge by ovarian steroids in women: a critical evaluation." J Clin Endocrinol Metab **57**(4): 797-802.

Loughlin, J. S., P. G. Naddaff and T. M. Badger (1984). "LH responses to LHRH in perfused pituitary cell culture: sex differences in the rat." Am J Physiol **246**(2 Pt 1): E145-152.

Ludwig, M., H. Riethmuller-Winzen, R. E. Felberbaum, F. Olivennes, C. Albano, P. Devroey and K. Diedrich (2001). "Health of 227 children born after controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization using the luteinizing hormone-releasing hormone antagonist cetorelix." Fertil Steril **75**(1): 18-22.

Macklon, N. S., R. L. Stouffer, L. C. Giudice and B. C. Fauser (2006). "The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization." Endocr Rev **27**(2): 170-207.

Mansour, R. T., M. A. Aboulghar, G. I. Serour, H. G. Al-Inany, Y. M. Amin and A. M. Abou-Setta (2003). "The use of gonadotropin-releasing hormone antagonist in a flexible protocol: a pilot study." Am J Obstet Gynecol **189**(2): 444-446.

March, C. M., U. Goebelsmann, R. M. Nakamura and D. R. Mishell, Jr. (1979). "Roles of estradiol and progesterone in eliciting the midcycle luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone surges." J Clin Endocrinol Metab **49**(4): 507-513.

March, C. M., R. P. Marrs, U. Goebelsmann and D. R. Mishell, Jr. (1981). "Feedback effects of estradiol and progesterone upon gonadotropin and prolactin release." Obstet Gynecol **58**(1): 10-16.

Marshall, G. R., F. Bint Akhtar, G. F. Weinbauer and E. Nieschlag (1986). "Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) overcomes GnRH antagonist-induced suppression of LH secretion in primates." J Endocrinol **110**(1): 145-150.

McLachlan, R. I., K. D. Dahl, W. J. Bremner, R. Schwall, C. H. Schmelzer, A. J. Mason and R. A. Steiner (1989). "Recombinant human activin-A stimulates basal FSH and GnRH-stimulated FSH and LH release in the adult male macaque, *Macaca fascicularis*." Endocrinology **125**(5): 2787-2789.

Messinis, I. E. (2003). "Modulatory effect of the ovary on LH secretion." Ann N Y Acad Sci **997**: 35-41.

Messinis, I. E. (2006). "Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications." Hum Reprod Update **12**(5): 557-571.

Messinis, I. E., P. Hirsch and A. A. Templeton (1991a). "Follicle stimulating hormone stimulates the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) in vivo." Clin Endocrinol (Oxf) **35**(5): 403-407.

Messinis, I. E., D. Koutsoyiannis, S. Milingos, E. Tsahalina, K. Seferiadis, D. Lolis and A. A. Templeton (1993a). "Changes in pituitary response to GnRH during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle." Clin Endocrinol (Oxf) **38**(2): 159-163.

Messinis, I. E., D. Lolis, L. Papadopoulos, T. Tsahalina, N. Papanikolaou, K. Seferiadis and A. A. Templeton (1993b). "Effect of varying concentrations of follicle stimulating hormone on the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) in women." Clin Endocrinol (Oxf) **39**(1): 45-50.

Messinis, I. E., D. Lolis, K. Zikopoulos, S. Milingos, G. Kollios, K. Seferiadis and A. A. Templeton (1996a). "Effect of follicle stimulating hormone or human chorionic gonadotrophin treatment on the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) during the luteal phase of the human menstrual cycle." Clin Endocrinol (Oxf) **44**(2): 169-175.

Messinis, I. E., D. Lolis, K. Zikopoulos, E. Tsahalina, K. Seferiadis and A. A. Templeton (1994). "Effect of an increase in FSH on the production of gonadotrophin-surge-attenuating factor in women." J Reprod Fertil **101**(3): 689-695.

Messinis, I. E., D. Loutradis, E. Domali, C. P. Kotsovassilis, L. Papastergiopoulou, A. Kallitsaris, P. Drakakis, K. Dafopoulos and S. Milingos (2005). "Alternate day and daily administration of GnRH antagonist may prevent premature luteinization to a similar extent during FSH treatment." Hum Reprod **20**(11): 3192-3197.

Messinis, I. E., A. MacTavish and A. A. Templeton (1993c). "Activity of gonadotrophin surge-attenuating factor during the luteal phase in superovulated women." J Reprod Fertil **97**(1): 271-275.

Messinis, I. E., I. Mademtzis, K. Zikopoulos, E. Tsahalina, K. Seferiadis, O. Tsolas and A. A. Templeton (1992). "Positive feedback effect of oestradiol in superovulated women." Hum Reprod **7**(4): 469-474.

Messinis, I. E., C. I. Messini and K. Dafopoulos (2014). "Novel aspects of the endocrinology of the menstrual cycle." Reprod Biomed Online.

Messinis, I. E., S. Milingos, E. Alexandris, I. Mademtzis, G. Kollios and K. Seferiadis (2002). "Evidence of differential control of FSH and LH responses to GnRH by ovarian steroids in the luteal phase of the cycle." Hum Reprod **17**(2): 299-303.

Messinis, I. E., S. Milingos, G. Kollios, K. Seferiadis, N. Papanikolaou and D. Lolis (1996b). "Changes in pituitary response to gonadotropin-releasing hormone following bilateral ovariectomy in women treated with follicle-stimulating hormone." Gynecol Endocrinol **10**(6): 383-390.

Messinis, I. E., S. Milingos, K. Zikopoulos, G. Hasiotis, K. Seferiadis and D. Lolis (1998). "Luteinizing hormone response to gonadotrophin-releasing hormone in normal women undergoing ovulation induction with urinary or recombinant follicle stimulating hormone." Hum Reprod **13**(9): 2415-2420.

Messinis, I. E., I. Papageorgiou, S. Milingos, E. Asproдини, G. Kollios and K. Seferiadis (2001). "Oestradiol plus progesterone treatment increases serum leptin concentrations in normal women." Hum Reprod **16**(9): 1827-1832.

Messinis, I. E. and A. Templeton (1991b). "Attenuation of gonadotrophin release and reserve in superovulated women by gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF)." Clin Endocrinol (Oxf) **34**(4): 259-263.

Messinis, I. E. and A. Templeton (1988a). "Blockage of the positive feedback effect of oestradiol during prolonged administration of clomiphene citrate to normal women." Clin Endocrinol (Oxf) **29**(5): 509-516.

Messinis, I. E. and A. Templeton (1988b). "Changes in serum prolactin levels during the follicular phase and the endogenous luteinizing hormone surge of cycles hyperstimulated with follicle stimulating hormone." Clin Endocrinol (Oxf) **28**(2): 243-251.

Messinis, I. E., A. Templeton and D. T. Baird (1985). "Endogenous luteinizing hormone surge during superovulation induction with sequential use of clomiphene citrate and pulsatile human menopausal gonadotropin." J Clin Endocrinol Metab **61**(6): 1076-1080.

Messinis, I. E., A. Templeton and D. T. Baird (1986). "Endogenous luteinizing hormone surge in women during induction of multiple follicular development with pulsatile follicle stimulating hormone." Clin Endocrinol (Oxf) **24**(2): 193-201.

Messinis, I. E. and A. A. Templeton (1990). "Effects of supraphysiological concentrations of progesterone on the characteristics of the oestradiol-induced gonadotrophin surge in women." J Reprod Fertil **88**(2): 513-519.

Messinis, I. E. and A. A. Templeton (1988c). "The endocrine consequences of multiple folliculogenesis." J Reprod Fertil Suppl **36**: 27-37.

Messinis, I. E. and A. A. Templeton (1989). "Pituitary response to exogenous LHRH in superovulated women." J Reprod Fertil **87**(2): 633-639.

Micevych, P., K. Sinchak, R. H. Mills, L. Tao, P. LaPolt and J. K. Lu (2003). "The luteinizing hormone surge is preceded by an estrogen-induced increase of hypothalamic progesterone in ovariectomized and adrenalectomized rats." Neuroendocrinology **78**(1): 29-35.

Miro, F. and L. J. Aspinall (2005). "The onset of the initial rise in follicle-stimulating hormone during the human menstrual cycle." Hum Reprod **20**(1): 96-100.

Mitchner, N. A., C. Garlick and N. Ben-Jonathan (1998). "Cellular distribution and gene regulation of estrogen receptors alpha and beta in the rat pituitary gland." Endocrinology **139**(9): 3976-3983.

Miyake, A., K. Tasaka, Y. Kawamura, T. Sakumoto and T. Aono (1982). "Progesterone facilitates the LRH releasing action of oestrogen." Acta Endocrinol (Copenh) **101**(3): 321-324.

Miyake, A., K. Tasaka, T. Sakumoto, Y. Kawamura and T. Aono (1983). "Estrogen induces the release of luteinizing hormone-releasing hormone in normal cyclic women." J Clin Endocrinol Metab **56**(6): 1100-1102.

Moenter, S. M., A. Caraty, A. Locatelli and F. J. Karsch (1991). "Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge." Endocrinology **129**(3): 1175-1182.

Molskness, T. A., T. K. Woodruff, D. L. Hess, K. D. Dahl and R. L. Stouffer (1996). "Recombinant human inhibin-A administered early in the menstrual cycle alters

concurrent pituitary and follicular, plus subsequent luteal, function in rhesus monkeys." J Clin Endocrinol Metab **81**(11): 4002-4006.

Monroe, S. E., R. B. Jaffe and A. R. Midgley, Jr. (1972a). "Regulation of human gonadotropins. XII. Increase in serum gonadotropins in response to estradiol." J Clin Endocrinol Metab **34**(2): 342-347.

Monroe, S. E., R. B. Jaffe and A. R. Midgley, Jr. (1972b). "Regulation of human gonadotropins. 13. Changes in serum gonadotropins in menstruating women in response to oophorectomy." J Clin Endocrinol Metab **34**(2): 420-422.

Monroe, S. E., R. B. Jaffe and J. Midgley Ar (1972c). "Regulation of human gonadotropins: 13. Changes in serum gonadotropins in menstruating women in response to oophorectomy." J Clin Endocrinol **34**: 420-422.

Muttukrishna, S., T. Child, G. M. Lockwood, N. P. Groome, D. H. Barlow and W. L. Ledger (2000). "Serum concentrations of dimeric inhibins, activin A, gonadotrophins and ovarian steroids during the menstrual cycle in older women." Hum Reprod **15**(3): 549-556.

Muttukrishna, S., P. A. Fowler, L. George, N. P. Groome and P. G. Knight (1996). "Changes in peripheral serum levels of total activin A during the human menstrual cycle and pregnancy." J Clin Endocrinol Metab **81**(9): 3328-3334.

Muttukrishna, S., S. Sharma, D. H. Barlow, W. Ledger, N. Groome and M. Sathanandan (2002). "Serum inhibins, estradiol, progesterone and FSH in surgical menopause: a demonstration of ovarian pituitary feedback loop in women." Hum Reprod **17**(10): 2535-2539.

Muttukrishna, S., D. Tannetta, N. Groome and I. Sargent (2004). "Activin and follistatin in female reproduction." Mol Cell Endocrinol **225**(1-2): 45-56.

Nakai, Y., T. M. Plant, D. L. Hess, E. J. Keogh and E. Knobil (1978). "On the sites of the negative and positive feedback actions of estradiol in the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey." Endocrinology **102**(4): 1008-1014.

Nakamura, T., K. Takio, Y. Eto, H. Shibai, K. Titani and H. Sugino (1990). "Activin-binding protein from rat ovary is follistatin." Science **247**(4944): 836-838.

Nippoldt, T. B., N. E. Reame, R. P. Kelch and J. C. Marshall (1989). "The roles of estradiol and progesterone in decreasing luteinizing hormone pulse frequency in the luteal phase of the menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **69**(1): 67-76.

Olivennes, F., S. Alvarez, P. Bouchard, R. Fanchin, J. Salat-Baroux and R. Frydman (1998). "The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg." Hum Reprod **13**(9): 2411-2414.

Out, H. J., A. Rutherford, R. Fleming, C. C. Tay, G. Trew, W. Ledger and D. Cahill (2004). "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 **19**(1): 90-95.

Pappa, A., K. Seferiadis, T. Fotsis, A. Shevchenko, M. Marselos, O. Tsolas and I. E. Messinis (1999). "Purification of a candidate gonadotrophin surge attenuating factor from human follicular fluid." Hum Reprod **14**(6): 1449-1456.

Pellicer, A., C. Simon, F. Miro, R. M. Castellvi, A. Ruiz, M. Ruiz, M. Perez and F. Bonilla-Musoles (1989). "Ovarian response and outcome of in-vitro fertilization in patients treated with gonadotrophin-releasing hormone analogues in different phases of the menstrual cycle." Hum Reprod **4**(3): 285-289.

Porter, R. N., W. Smith, I. L. Craft, N. A. Abdulwahid and H. S. Jacobs (1984). "Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins." Lancet **2**(8414): 1284-1285.

Raga, F., E. M. Casan, J. Kruessel, Y. Wen, F. Bonilla-Musoles and M. L. Polan (1999). "The role of gonadotropin-releasing hormone in murine preimplantation embryonic development." Endocrinology **140**(8): 3705-3712.

Rivier, C., J. Rivier and W. Vale (1986). "Inhibin-mediated feedback control of follicle-stimulating hormone secretion in the female rat." Science **234**(4773): 205-208.

Rivier, C., R. Schwall, A. Mason, L. Burton, J. Vaughan and W. Vale (1991a). "Effect of recombinant inhibin on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion in the rat." Endocrinology **128**(3): 1548-1554.

Rivier, C. and W. Vale (1991b). "Effect of recombinant activin-A on gonadotropin secretion in the female rat." Endocrinology **129**(5): 2463-2465.

Roberts, V. J., S. Barth, A. el-Roeiy and S. S. Yen (1993). "Expression of inhibin/activin subunits and follistatin messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles and the corpus luteum during the human menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **77**(5): 1402-1410.

Robertson, D. M., R. Klein, F. L. de Vos, R. I. McLachlan, R. E. Wettenhall, M. T. Hearn, H. G. Burger and D. M. de Kretser (1987). "The isolation of polypeptides with FSH suppressing activity from bovine follicular fluid which are structurally different to inhibin." Biochem Biophys Res Commun **149**(2): 744-749.

Ron-El, R., A. Raziel, M. Schachter, D. Strassburger, E. Kasterstein and S. Friedler (2000). "Induction of ovulation after GnRH antagonists." Hum Reprod Update **6**(4): 318-321.

Roseff, S. J., M. L. Bangah, L. M. Kettel, W. Vale, J. Rivier, H. G. Burger and S. S. Yen (1989). "Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **69**(5): 1033-1039.

Ross, G. T., C. M. Cargille, M. B. Lipsett, P. L. Rayford, J. R. Marshall, C. A. Strott and D. Rodbard (1970). "Pituitary and gonadal hormones in women during spontaneous and induced ovulatory cycles." Recent Prog Horm Res **26**: 1-62.

San Roman, G. A., E. S. Surrey, H. L. Judd and J. F. Kerin (1992). "A prospective randomized comparison of luteal phase versus concurrent follicular phase initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization." Fertil Steril **58**(4): 744-749.

Santen, R. J., A. Manni and H. Harvey (1986). "Gonadotropin releasing hormone (GnRH) analogs for the treatment of breast and prostatic carcinoma." Breast Cancer Res Treat **7**(3): 129-145.

Santoro, N., T. Adel and J. H. Skurnick (1999). "Decreased inhibin tone and increased activin A secretion characterize reproductive aging in women." Fertil Steril **71**(4): 658-662.

Schally, A. V. (1999). "Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis." Peptides **20**(10): 1247-1262.

Schally, A. V., Y. Baba, R. M. Nair and C. D. Bennett (1971). "The amino acid sequence of a peptide with growth hormone-releasing activity isolated from porcine hypothalamus." J Biol Chem **246**(21): 6647-6650.

Schreihofe, D. A., D. F. Rowe, E. F. Rissman, E. M. Scordalakes, J. J. Gustafsson and M. A. Shupnik (2002). "Estrogen receptor-alpha (ERalpha), but not ERbeta, modulates estrogen stimulation of the ERalpha-truncated variant, TERP-1." Endocrinology **143**(11): 4196-4202.

Schreihofe, D. A., M. H. Stoler and M. A. Shupnik (2000). "Differential expression and regulation of estrogen receptors (ERs) in rat pituitary and cell lines: estrogen decreases ERalpha protein and estrogen responsiveness." Endocrinology **141**(6): 2174-2184.

Seelig, A. S., S. Al-Hasani, A. Katalinic, B. Schopper, R. Sturm, K. Diedrich and M. Ludwig (2002). "Comparison of cryopreservation outcome with gonadotropin-releasing hormone agonists or antagonists in the collecting cycle." Fertil Steril **77**(3): 472-475.

Shaw, N. D., S. S. Srouji, S. N. Histed and J. E. Hall (2011). "Differential effects of aging on estrogen negative and positive feedback." Am J Physiol Endocrinol Metab **301**(2): E351-355.

Shaw, R. W., W. R. Butt and D. R. London (1975). "The effect of progesterone and FSH and LH response to LHRH in normal women." Clin Endocrinol (Oxf) **4**(5): 543-550.

Shaw, R. W., G. Ndukwe, D. A. Imoedemhe, A. G. Bernard and G. Burford (1985). "Twin pregnancy after pituitary desensitisation with LHRH agonist and pure FSH." Lancet **2**(8453): 506-507.

Shoham, Z., M. Schacter, E. Loumaye, A. Weissman, M. MacNamee and V. Insler (1995). "The luteinizing hormone surge--the final stage in ovulation induction: modern aspects of ovulation triggering." Fertil Steril **64**(2): 237-251.

Simon, J. A., M. Bustillo, I. H. Thorneycroft, S. W. Cohen and J. E. Buster (1987). "Variability of midcycle estradiol positive feedback: evidence for unique pituitary responses in individual women." J Clin Endocrinol Metab **64**(4): 789-793.

Skinner, D. C., P. Bouchard and A. Caraty (1999). "The progesterone blockade of the luteinizing hormone surge is overcome by RU486." J Neuroendocrinol **11**(8): 637-641.

Skinner, D. C., A. Caraty and R. Allingham (2001). "Unmasking the progesterone receptor in the preoptic area and hypothalamus of the ewe: no colocalization with gonadotropin-releasing neurons." Endocrinology **142**(2): 573-579.

Skinner, D. C., N. P. Evans, B. Delaleu, R. L. Goodman, P. Bouchard and A. Caraty (1998). "The negative feedback actions of progesterone on gonadotropin-releasing hormone secretion are transduced by the classical progesterone receptor." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(18): 10978-10983.

Smitz, J., P. Devroey, M. Camus, J. Deschacht, I. Khan, C. Staessen, L. Van Waesberghe, A. Wisanto and A. C. Van Steirteghem (1988). "The luteal phase and early pregnancy after combined GnRH-agonist/HMG treatment for superovulation in IVF or GIFT." Hum Reprod **3**(5): 585-590.

Smitz, J., P. Devroey and A. C. Van Steirteghem (1990). "Endocrinology in luteal phase and implantation." Br Med Bull **46**(3): 709-719.

Smitz, J., E. Van Den Abbeel, N. Bollen, M. Camus, P. Devroey, H. Tournaye and A. C. Van Steirteghem (1992). "The effect of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) agonist in the follicular phase on in-vitro fertilization outcome in normo-ovulatory women." Hum Reprod **7**(8): 1098-1102.

Soma, K. K., K. Sinchak, A. Lakhter, B. A. Schlinger and P. E. Micevych (2005). "Neurosteroids and female reproduction: estrogen increases 3beta-HSD mRNA and activity in rat hypothalamus." Endocrinology **146**(10): 4386-4390.

Sopelak, V. M. and G. D. Hodgen (1984). "Blockade of the estrogen-induced luteinizing hormone surge in monkeys: a nonsteroidal, antigenic factor in porcine follicular fluid." Fertil Steril **41**(1): 108-113.

Soules, M. R., R. A. Steiner, D. K. Clifton, N. L. Cohen, S. Aksel and W. J. Bremner (1984). "Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal women." J Clin Endocrinol Metab **58**(2): 378-383.

Speroff L., G., R.H. and Kase, N.G. (2011). Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Lippincott Williams & Wilkins.

Stouffer, R. L., K. D. Dahl, D. L. Hess, T. K. Woodruff, J. P. Mather and T. A. Molskness (1994). "Systemic and intraluteal infusion of inhibin A or activin A in rhesus monkeys during the luteal phase of the menstrual cycle." Biol Reprod **50**(4): 888-895.

Stouffer, R. L., T. K. Woodruff, K. D. Dahl, D. L. Hess, J. P. Mather and T. A. Molskness (1993). "Human recombinant activin-A alters pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion, follicular development, and steroidogenesis, during the menstrual cycle in rhesus monkeys." J Clin Endocrinol Metab **77**(1): 241-248.

Taylor, A. E., H. Whitney, J. E. Hall, K. Martin and W. F. Crowley, Jr. (1995). "Midcycle levels of sex steroids are sufficient to recreate the follicle-stimulating hormone but not the luteinizing hormone midcycle surge: evidence for the contribution of other ovarian factors to the surge in normal women." J Clin Endocrinol Metab **80**(5): 1541-1547.

Terasawa, E., J. Noonan and W. E. Bridson (1982). "Anaesthesia with pentobarbitone blocks the progesterone-induced luteinizing hormone surge in the ovariectomized rhesus monkey." J Endocrinol **92**(3): 327-339.

Thornycroft, I. H., B. Sribyatta, W. K. Tom, R. M. Nakamura and D. R. Mishell, Jr. (1974). "Measurement of serum LH, FSH, progesterone, 17-hydroxy-progesterone and estradiol-17beta levels at 4-hour intervals during the periovulatory phase of the menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **39**(4): 754-758.

Tilbrook, A. J., I. J. Clarke and D. M. de Kretser (1995). "Human recombinant follistatin-288 suppresses plasma concentrations of follicle-stimulating hormone but is not a significant regulator of luteinizing hormone in castrated rams." Biol Reprod **53**(6): 1353-1358.

Tilbrook, A. J., D. M. De Kretser and I. J. Clarke (1993). "Human recombinant inhibin A suppresses plasma follicle-stimulating hormone to intact levels but has no effect on luteinizing hormone in castrated rams." Biol Reprod **49**(4): 779-788.

Tio, S., D. Koppelaar, C. W. Bardin and C. Y. Cheng (1994). "Purification of gonadotropin surge-inhibiting factor from Sertoli cell-enriched culture medium." Biochem Biophys Res Commun **199**(3): 1229-1236.

Tsai, C. C. and S. S. Yen (1971a). "Acute effects of intravenous infusion of 17-beta-estradiol on gonadotropin release in pre- and post-menopausal women." J Clin Endocrinol Metab **32**(6): 766-771.

Tsai, C. C. and S. S. Yen (1971b). "The effect of ethinyl estradiol administration during early follicular phase of the cycle on the gonadotropin levels and ovarian function." J Clin Endocrinol Metab **33**(6): 917-923.

Ueno, N., N. Ling, S. Y. Ying, F. Esch, S. Shimasaki and R. Guillemin (1987). "Isolation and partial characterization of follistatin: a single-chain Mr 35,000 monomeric protein that inhibits the release of follicle-stimulating hormone." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(23): 8282-8286.

Vale, W., J. Rivier, J. Vaughan, R. McClintock, A. Corrigan, W. Woo, D. Karr and J. Spiess (1986). "Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid." Nature **321**(6072): 776-779.

van Rooij, I. A., F. J. Broekmans, E. R. te Velde, B. C. Fauser, L. F. Bancsi, F. H. de Jong and A. P. Themmen (2002). "Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve." Hum Reprod **17**(12): 3065-3071.

van Santbrink, E. J., W. C. Hop, T. J. van Dessel, F. H. de Jong and B. C. Fauser (1995). "Decremental follicle-stimulating hormone and dominant follicle development during the normal menstrual cycle." Fertil Steril **64**(1): 37-43.

Volker, P., C. Grundker, O. Schmidt, K. D. Schulz and G. Emons (2002). "Expression of receptors for luteinizing hormone-releasing hormone in human ovarian and endometrial cancers: frequency, autoregulation, and correlation with direct antiproliferative activity of luteinizing hormone-releasing hormone analogues." Am J Obstet Gynecol **186**(2): 171-179.

Wallach, E. E., A. W. Root and C. R. Garcia (1970). "Serum gonadotropin responses to estrogen and progestogen in recently castrated human females." J Clin Endocrinol Metab **31**(4): 376-381.

Wang, C. F., B. L. Lasley, A. Lein and S. S. Yen (1976). "The functional changes of the pituitary gonadotrophs during the menstrual cycle." J Clin Endocrinol Metab **42**(4): 718-728.

Weenen, C., J. S. Laven, A. R. Von Bergh, M. Cranfield, N. P. Groome, J. A. Visser, P. Kramer, B. C. Fauser and A. P. Themmen (2004). "Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment." Mol Hum Reprod **10**(2): 77-83.

Wehrenberg, W. B., S. L. Wardlaw, A. G. Frantz and M. Ferin (1982). "beta-Endorphin in hypophyseal portal blood: variations throughout the menstrual cycle." Endocrinology **111**(3): 879-881.

Welt, C. K., J. E. Hall, J. M. Adams and A. E. Taylor (2005). "Relationship of estradiol and inhibin to the follicle-stimulating hormone variability in hypergonadotropic hypogonadism or premature ovarian failure." J Clin Endocrinol Metab **90**(2): 826-830.

Welt, C. K., K. A. Martin, A. E. Taylor, G. M. Lambert-Messerlian, W. F. Crowley, Jr., J. A. Smith, D. A. Schoenfeld and J. E. Hall (1997). "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 **82**(8): 2645-2652.

Welt, C. K., D. J. McNicholl, A. E. Taylor and J. E. Hall (1999). "Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin." J Clin Endocrinol Metab **84**(1): 105-111.

Welt, C. K., Y. L. Pagan, P. C. Smith, K. B. Rado and J. E. Hall (2003). "Control of follicle-stimulating hormone by estradiol and the inhibins: critical role of estradiol at the hypothalamus during the luteal-follicular transition." J Clin Endocrinol Metab **88**(4): 1766-1771.

Wikland, M., C. Bergh, K. Borg, T. Hillensjo, C. M. Howles, A. Knutsson, L. Nilsson and M. Wood (2001). "A prospective, randomized comparison of two starting doses of recombinant FSH in combination with cetrorelix in women undergoing ovarian stimulation for IVF/ICSI." Hum Reprod **16**(8): 1676-1681.

Wildt, L., K. Diedrich, H. van der Ven, S. al Hasani, H. Hubner and R. Klasen (1986). "Ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotrophins." Hum Reprod **1**(1): 15-19.

Xia, L., D. Van Vugt, E. J. Alston, J. Luckhaus and M. Ferin (1992). "A surge of gonadotropin-releasing hormone accompanies the estradiol-induced gonadotropin surge in the rhesus monkey." Endocrinology **131**(6): 2812-2820.

Yen, S. S. and A. Lein (1976). "The apparent paradox of the negative and positive feedback control system on gonadotropin secretion." Am J Obstet Gynecol **126**(7): 942-954.

Yen, S. S. and C. C. Tsai (1971). "The effect of ovariectomy on gonadotropin release." J Clin Invest **50**(5): 1149-1153.

Yin, P., K. Kawashima and J. Arita (2002). "Direct actions of estradiol on the anterior pituitary gland are required for hypothalamus-dependent lactotrope proliferation and secretory surges of luteinizing hormone but not of prolactin in female rats." Neuroendocrinology **75**(6): 392-401.

Young, J. R. and R. B. Jaffe (1976). "Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. II. Effects of varying concentrations of estradiol." J Clin Endocrinol Metab **42**(3): 432-442.

Μεσσήνης (2010). Επίτομη Μαιευτική και Γυναικολογία.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Ο κ. Απόστολος Ζαβός είναι Γυναικολόγος – Μαιευτήρας.

Αποφοίτησε από το 1^ο Λύκειο Βόλου 1991.

Σπούδασε ιατρική στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας από όπου και αποφοίτησε το 1999 με βαθμό λίαν καλώς.

Απέκτησε τίτλο ειδικότητας μετά από εξετάσεις στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας το 2009, όπου και στη συνέχεια εργάστηκε ως επικουρικός Επιμελητής για ένα έτος.

Εξειδικεύθηκε στη Γερμανία στη Διαγνωστική και Χειρουργική του μαστού και στη Γυναικολογική Ογκολογία στο Teaching Hospital of Aschaffenburg Germany (2011).

Είναι μέλος του διοικητικού συμβουλίου της Ελληνικής Εταιρείας Μαστολογίας και Εκπρόσωπος της Ελλάδας στην επιτροπή της Ευρωπαϊκής ένωσης UEMS Multidisciplinary Joint Committee (MJC) in Breast Care.

Από το 2012 εργάζεται ως ιδιώτης ιατρός στη Λάρισα.