



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΒΑΜΒΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

Διευθυντής ΠΜΣ : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Η ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ GnRH ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ»

ΜΑΤΘΑΙΟΣ ΤΣΑΓΚΟΥΛΗΣ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΟΣ ΙΑΤΡΟΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Οκτώβριος 2017

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:

**1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπων)**

Χριστίνα Μεσσήνη
Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

2^{ος} Εξεταστής

Κωνσταντίνος Νταφόπουλος
Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής

Γεώργιος - Σπυρίδων Ανυφαντής
Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Βιολογία της Αναπαραγωγής» του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Θα ήθελα να απευθύνω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή Μαιευτικής – Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Διευθυντή του Μεταπτυχιακού Προγράμματος κ Δαπόντε Αλέξανδρο, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον αντικείμενο.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κυρίους Κωνσταντίνο Νταφόπουλο, Καθηγητή Μαιευτικής – Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Γεώργιο - Σπυρίδωνα Ανυφαντή, Λέκτορα Εμβρυολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την επιστημονική τους συμβολή στην εκπόνηση αυτής της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την κα Χριστίνα Μεσσήνη, Λέκτορα Μαιευτικής – Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και επιβλέπουσα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για την καθοδήγηση και την αμέριστη συμπαράστασή της καθ' όλη τη διάρκεια της έρευνας και συγγραφής.

Τσαγκούλης Ματθαίος

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Σεπτέμβριος 2006-Ιούνιος 2012

Σχολή Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κομένιους, Μπρατισλάβα, Σλοβακία

28 Αυγούστου 2013 έως 1 Οκτωβρίου 2014

Ειδικευόμενος Ιατρός της Χειρουργικής Κλινικής, Νοσοκομείο Καρδίτσας

25 Ιουνίου 2015 – 27 Ιουνίου 2016

Αγροτικός Ιατρός, Ιατρικό Κέντρο Καλαμπάκας

Από τον Ιούνιο του 2016 έως σήμερα, εργάζομαι ως ειδικευόμενος ιατρός Μαιευτικής - Γυναικολογίας στην Πανεπιστημιακή κλινική Μαιευτικής – Γυναικολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

**«Η ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ GnRH ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ»**

ΤΣΑΓΚΟΥΛΗΣ ΜΑΤΘΑΙΟΣ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2017

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων:	Χριστίνα Μεσσήνη Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Σύμβουλος :	Κωνσταντίνος Νταφόπουλος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Μέλος :	Γεώργιος – Σπυρίδων Ανυφαντής Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Περίληψη

Η ιστορία της εξωσωματικής γονιμοποίησης στον άνθρωπο ξεκινά από τον Ιούλιο του 1978 όπου στο Oldham του Ηνωμένου Βασιλείου, η συνεργασία των Patrick Steptoe και Robert Edwards οδήγησε στην πρώτη γέννηση παιδιού μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση. Έκτοτε η εξέλιξη της τεχνολογίας της IVF (In Vitro Fertilization) υπήρξε αλματώδης, με τεράστιο αριθμό υπογόνιμων ζευγαριών παγκοσμίως να καταφεύγουν σε αυτή. Καθίσταται πλέον αναγκαία η περαιτέρω βελτίωση και εξέλιξη των μεθόδων της IVF, με σκοπό την επίτευξη μεγαλύτερων ποσοστών επιτυχών κυήσεων.

Στις μεθόδους εξωσωματικής γονιμοποίησης περιλαμβάνονται η ωοθηκική διέγερση, η ωοληψία και η γονιμοποίηση των ωαρίων από σπερματοζωάρια στο εργαστήριο. Ένας από τους πλέον καθοριστικούς παράγοντες για την έκβαση κάθε προσπάθειας εξωσωματικής γονιμοποίησης, είναι η διέγερση των ωοθηκών χρησιμοποιώντας συγκεκριμένα πρωτόκολλα και φαρμακευτικούς συνδυασμούς, με σκοπό τη λήψη ικανοποιητικού αριθμού ωαρίων κατά την ωοληψία. Τα πρωτόκολλα GnRH αναλόγων αποτελούν πλέον βασική επιλογή στις περισσότερες προσπάθειες ωοθηκικής διέγερσης.

Στην παρούσα εργασία μέσω ανασκόπησης μελετών που έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια σχετικά με τη χρήση των GnRH αναλόγων στην ωοθηκική διέγερση, θα γίνει μία προσπάθεια εκτίμησης της αναγκαιότητας αυτής της κατηγορίας φαρμάκων στη σύγχρονη ωοθηκική διέγερση.

Summary

The history of In Vitro Fertilization (IVF) dates back as early as the July of 1978, when in Oldham, UK, the collaborative work of Patrick Steptoe and Robert Edwards led to the first ever IVF birth. Until now, IVF technology has evolved so greatly, that an enormous number of candidate couples worldwide resorts to it. It is now necessary to further improve and develop IVF methods in order to achieve higher live birth rates.

In vitro fertilization methods include ovarian stimulation, oocyte sampling and sperm fertilization in the laboratory. One of the most important factors in succeeding in any IVF attempt is to stimulate the ovaries using specific protocols and pharmaceutical combinations in order to retrieve a satisfactory number of oocytes. The GnRH analogue protocols are now a key option in most ovarian stimulation efforts.

In this study, by reviewing recent articles and studies of GnRH analogues administration in ovarian stimulation, an attempt will be made to assess the necessity of this class of drugs in modern ovarian stimulation.

Πίνακας Περιεχομένων

Κεφάλαιο 1 Φυσιολογία γεννητικού κύκλου.....	
1.1	Ωοθυλακική ανάπτυξη09
1.2	Ορμόνες γεννητικού κύκλου 12
1.2.1	Γοναδοτροφίνες 12
1.2.2	Οιστραδιόλη..... 13
1.2.3	Προγεστερόνη.....13
1.2.4	Ινχιμπίνες.....14
1.2.5	GnRH..... 14
1.2.6	GnSAF15
1.3	Επιλογή ωοθυλακίου 18
1.4	Ωοθυλακιορρηξία 20
1.5	Ωχρο σωματίο..... 21
Κεφάλαιο 2	
2.1	Ωοθηκική διέγερση 23
2.2	Χρωτόκολλα Ωοθηκικής διέγερσης 25
2.2.1	Πρωτόκολλα GnRH Αγωνιστών 25
2.2.2	Πρωτόκολλα GnRH Ανταγωνιστών 27
2.3	Διαφορές ανταγωνιστών και αγωνιστών..... 29
Κεφάλαιο 3	
3.1	Εισαγωγή..... 31
3.2	Υπόθεση 32
3.2	Συμπέρασμα..... 33
Βιβλιογραφία.....	34

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

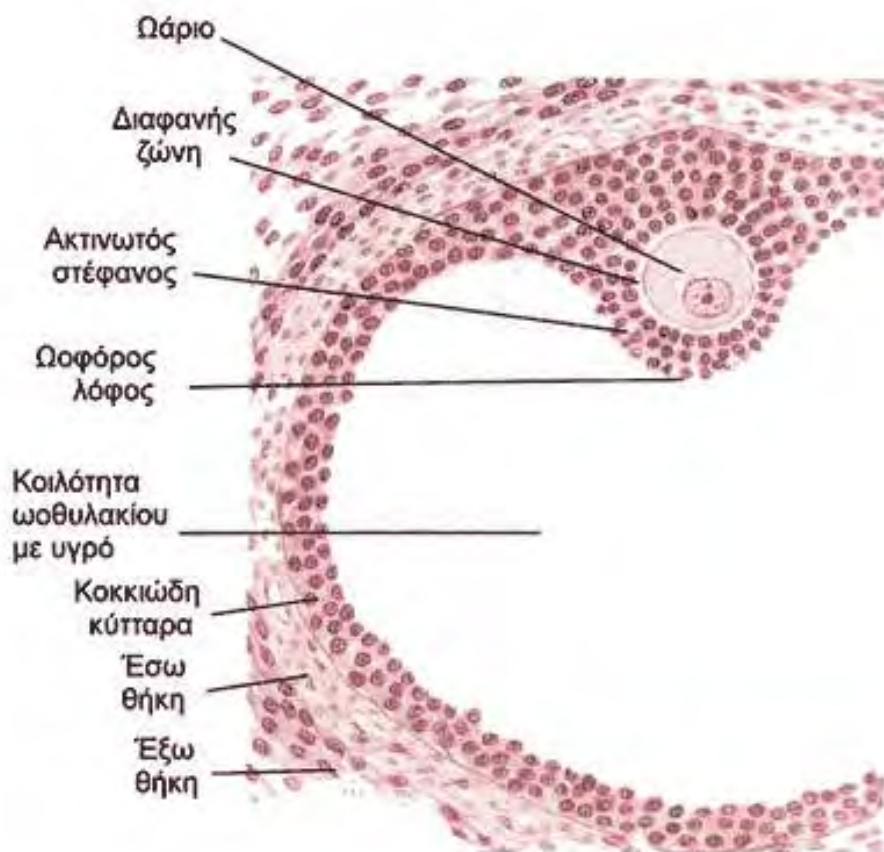
1.1 ΩΟΘΥΛΑΚΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Το ωοθυλάκιο αποτελεί την κύρια λειτουργική μονάδα της ωοθήκης. Τα ωοθυλάκια σχηματίζονται από τα γεννητιικά κύτταρα περίπου μετά την 20^η εβδομάδα της εμβρυικής ζωής και αποθηκεύονται στην ωοθήκη, κυρίως με τη μορφή των αρχέγονων ωοθυλακίων. Κατά τη γέννηση υπάρχουν περίπου ένα εκατομμύριο ωοθυλάκια τα οποία σταδιακά μειώνονται με αποτέλεσμα στην αρχή της εφηβείας να υπάρχουν περίπου τετρακόσιες χιλιάδες αποθηκευμένα στις ωοθήκες. Κατά την αναπαραγωγική ηλικία της γυναίκας ένα μέρος από αυτά θα καταλήξει σε ατρησία, ενώ τα υπόλοιπα θα εξελιχθούν κανονικά. Τελικά, μόνον 300-400 ωοθυλάκια πιστεύεται ότι θα ωριμάσουν πλήρως και θα φθάσουν στο στάδιο της ωοθυλακιορρηξίας. Το ωοθυλάκιο που θα επιλεγεί προς ωορρηξία ονομάζεται «επικρατές» ή «κυρίαρχο».

Το αρχέγονο ωοθυλάκιο έχει διάμετρο 30-60μm και αποτελείται στο κέντρο του από ένα ωάριο (ωοκύτταρο). Το ωοκύτταρο αυτό περιστοιχίζεται από μία σειρά κοκκωδών κυττάρων και μία μεμβράνη που διαχωρίζει το σύμπλεγμα ωάριο - κοκκώδη κύτταρα από τον περιβάλλοντα ιστό. Όσα από τα αρχέγονα ωοθυλάκια εξελιχθούν μετατρέπονται στα πρωτογενή και στη συνέχεια στα δευτερογενή ωοθυλάκια.

Το πρωτογενές ωοθυλάκιο με διάμετρο μεγαλύτερη των 60μm, αποτελείται από ένα ωάριο περίξ του οποίου υπάρχει η διαφανής ζώνη, από μία ή δύο στοιβάδες κοκκωδών κυττάρων και από μία βασική μεμβράνη γύρω από τα κοκκώδη κύτταρα που ονομάζεται μεμβράνη κοκκωδών κυττάρων.

Η περαιτέρω ανάπτυξη του πρωτογενούς ωοθυλακίου οδηγεί στο δευτερογενές ωοθυλάκιο με διάμετρο περίπου 120μm. Στο ωοθυλάκιο αυτό τα κοκκώδη κύτταρα πολλαπλασιάζονται και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στα κύτταρα της κοκκώδους στοιβάδας και στα κύτταρα της έσω και έξω θήκης του ωοθυλακίου. Στα κύτταρα της έσω θήκης εμφανίζονται υποδοχείς της LH, ενώ στα κύτταρα της κοκκώδους στοιβάδας εμφανίζονται υποδοχείς της FSH.

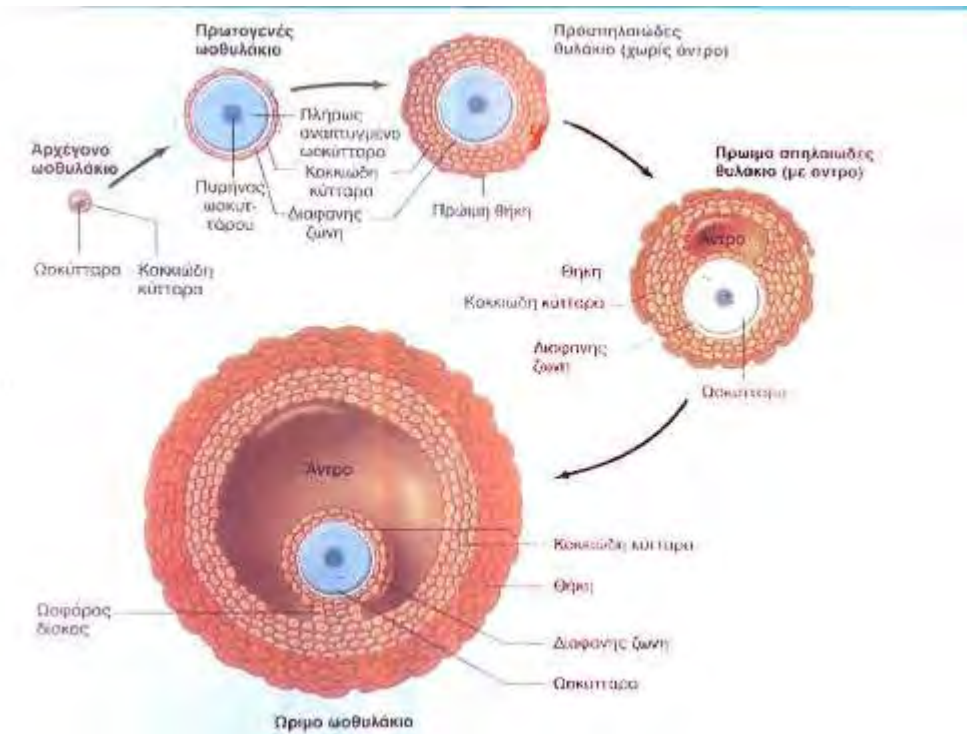


Εικόνα 1: Κοιλοτικό ωοθυλάκιο

(Καλανταρίδου, Σ. & Τσατσούλης Α. Ενδοκρινολογία Αναπαραγωγής στη Γυναίκα και στον Άνδρα, 2004)

Τα δευτερογενή ωοθυλάκια, ανάλογα με το αν σχηματίσουν ή όχι μία κοιλότητα στο κέντρο τους που ονομάζεται άντρο, διαχωρίζονται σε προκοιλοτικά (preantral) και κοιλοτικά (antral). Στην κοιλότητα αυτή εμπεριέχεται υγρό (ωοθυλακικό) που διαχωρίζει τα κοκκιώδη κύτταρα από τα κύτταρα που περιστοιχίζουν το ωάριο. Ο διαχωρισμός αυτός οδηγεί στον σχηματισμό του ωοφόρου δίσκου και του ακτινωτού στεφάνου.

Τα ωοθυλάκια ανάλογα με την εξέλιξή τους από το στάδιο του προκοιλοτικού έως το στάδιο του πρωθυλακιωρηκτικού ταξινομούνται σε οκτώ κατηγορίες.



Εικόνα 2: Εξέλιξη ωοθυλακίου
(Μπόντης Ι. Φυσιολογία του εμμηνορρυσιακού κύκλου, 2007)

Στην κατηγορία 1 ανήκει το ώριμο δευτερογενές προκοιλοτικό ωοθυλάκιο (χωρίς άντρο), στην κατηγορία 2 το πρώιμο κοιλοτικό (με άντρο), στην κατηγορία 5 το κοιλοτικό μεγέθους 5mm και στην κατηγορία 8 το προωοθυλακιορρηκτικό διαμέτρου 18-20mm. Στις ενδιάμεσες κατηγορίες ανήκουν ωοθυλάκια με ενδιάμεσο βαθμό εξέλιξης. Η μετάβαση από το ώριμο προκοιλοτικό (κατηγορία 1) στο μικρότερο κοιλοτικό (διάμετρος 150μm, κατηγορία 2) διαρκεί περίπου 25 ημέρες, ενώ μέχρι τη διάμετρο των 2-5mm (κατηγορία 5) χρειάζονται περίπου 70 ημέρες. Η ανάπτυξη του ωοθυλακίου από αυτό το στάδιο έως την κατηγορία 8 χρειάζεται 15 ημέρες, που αντιστοιχούν στην ωοθυλακική φάση του γεννητικού κύκλου.

1.2 ΟΡΜΟΝΕΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ

Ο γεννητικός κύκλος αποτελείται από ένα σύνολο ορμονικών μεταβολών κυκλικά επαναλαμβανόμενων. Οι ορμονικές αυτές μεταβολές είναι το αποτέλεσμα της συνεργασίας του υποθαλάμου, της υπόφυσης και των ωθηκών μέσω των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορύθμισης.

1.2.1 Γοναδοτροφίνες

Οι γοναδοτροφίνες είναι ορμόνες οι οποίες εκκρίνονται από τα γοναδοτρόφα κύτταρα του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης. Σε αυτές ανήκουν η ορμόνη ωρίμανσης του ωοθυλακίου ή θυλακιοτρόφος ορμόνη (Follicle Stimulating Hormone – FSH) και η ωχρινοτρόφος ορμόνη (Luteinizing Hormone – LH). Η έκκριση των γοναδοτροφινών γίνεται με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Τονικά, όπου υπάρχει συνεχής έκκριση γοναδοτροφινών, κυκλικά, όπου μιλάμε για την αιχμή των γοναδοτροφινών στο μέσο του κύκλου και κατά ώσεις, όπου ανάλογα με τις ώσεις της εκκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροφινών (GnRH) εκκρίνονται αντίστοιχα και γοναδοτροφίνες.

Οι γοναδοτροφίνες αποτελούνται από δύο υπομονάδες, την α και τη β. Η α υπομονάδα είναι κοινή για την FSH, την LH, την χοριακή γοναδοτροφίνη (HCG) και την θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (TSH). Η β υπομονάδα είναι αυτή που διαφοροποιείται και δίνει τις διαφορετικές βιολογικές ιδιότητες σε καθεμία από τις ορμόνες αυτές. Ο χρόνος ημιζωής τους είναι 5 περίπου ώρες για την FSH και 30 λεπτά περίπου για την LH.

Η δράση των γοναδοτροφινών ασκείται πάνω στις ωθήκες (γονάδες). Η FSH είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη και στρατολόγηση των ωοθυλακίων και την επιλογή του ενός ωοθυλακίου προς ωοθυλακιορρηξία. Επίσης προάγει τη σύνθεση οιστρογόνων από αρωματοποίηση των ανδρογόνων με τη χρήση του ενζύμου της αρωματάσης.

Η LH προάγει τη σύνθεση ανδρογόνων από τα κύτταρα της έσω θήκης, καθώς και την τελική ωρίμανση του ωοκυττάρου, την πρόκληση της ωοθυλακιορρηξίας και τον σχηματισμό και τη διατήρηση της λειτουργίας του ωχρού σωματίου για 14 περίπου ημέρες.

Επιπρόσθετα, οι FSH και LH επάγουν την παραγωγή οιστραδιόλης και προγεστερόνης από τις ωθήκες. Οι παραγόμενες αυτές στεροειδείς ορμόνες των ωθηκών, επηρεάζουν τη λειτουργία τόσο της υπόφυσης όσο και του υποθαλάμου μέσω των θετικών και αρνητικών μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορύθμισης (feedback).

Η οιστραδιόλη επιδρά κατασταλτικά στην έκκριση της FSH μέσω αρνητικού μηχανισμού feedback. Δηλαδή, ανεξαρτήτως των επιπέδων της οιστραδιόλης, χαμηλών ή υψηλών, η δράση της είναι κατασταλτική στην έκκριση της FSH.

Η οιστραδιόλη επιδρά τόσο κατασταλτικά όσο και επαγωγικά στην έκκριση της LH μέσω θετικού και αρνητικού μηχανισμού feedback. Δηλαδή, όταν η οιστραδιόλη είναι σε υψηλά επίπεδα και διατηρηθεί για ορισμένο χρονικό διάστημα στα επίπεδα αυτά, ασκεί διεγερτική δράση στην έκκριση της LH (θετικό feedback). Όταν όμως βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα, ασκεί αρνητική δράση στην έκκριση της LH (αρνητικό feedback) [36].

1.2.2 Οιστραδιόλη

Η 17-β-οιστραδιόλη παράγεται κατά την παραγωγική φάση του κύκλου από την αρωματοποίηση των ανδρογόνων που λαμβάνει χώρα στα κύτταρα της κοκκώδους στοιβάδας των ωθυλακίων και κατά την ωχρινική φάση εκκρίνεται κυρίως από το ωχρό σωματίο. Ο ρυθμός έκκρισής της κατά την πρώιμη παραγωγική φάση είναι 60 μg/ημέρα, ενώ μέχρι την όψιμη παραγωγική αυξάνεται σε 400 μg/ml.

Κατά την όψιμη παραγωγική και την ωχρινική φάση του κύκλου, το 95% της οιστραδιόλης στην κυκλοφορία, προέρχεται από το κυρίαρχο ωθυλάκιο. Οι φυσιολογικές τιμές της 17-β-οιστραδιόλης στο αίμα είναι 25-75 pg/ml στην παραγωγική φάση, 150-600 pg/ml στην μεσοκυκλική αιχμή, 100-300 pg/ml στην ωχρινική φάση και 5-25 pg/ml μετά την εμμηνόπαυση.

Η 17-β-οιστραδιόλη με την κατάληψη υποδοχέων προκαλεί τόσο τον αρνητικό όσο και τον θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Συγκεκριμένα, οι υποδοχείς οιστρογόνων ER α και ER β είναι παρόντες τόσο στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης όσο και στον υποθάλαμο [20]. Με τον τρόπο αυτό η οιστραδιόλη επηρεάζει την ευαισθησία της υπόφυσης στην GnRH και μεταβάλλει τον αριθμό των υποδοχέων GnRH.

Επιπρόσθετα, έχει αποδειχτεί ότι η χορήγηση οιστραδιόλης στην κυκλοφορία της γυναίκας προκαλεί χρόνια καταστολή των γοναδοτροφινών [21]. Αντίθετα, η βραχυπρόθεσμη χορήγησή της (<12 ώρες) αυξάνει τον αριθμό των υποδοχέων της GnRH [22] και την έκκριση της LH που προκαλείται από την GnRH [23].

1.2.3 Προγεστερόνη

Η προγεστερόνη παράγεται κατά την παραγωγική φάση του κύκλου από την ωθήκη και από τα επινεφρίδια σε ίση αναλογία. Κατά την ωχρινική φάση εκκρίνεται από το ωχρό σωματίο σε ποσότητα 20 φορές μεγαλύτερη. Λίγο πριν την ωθυλακιόρρηξη, παρατηρείται μία μικρή αύξηση των επιπέδων της στην κυκλοφορία, η οποία πιστεύεται ότι είναι απαραίτητη για την μεσοκυκλική αιχμή της LH.

Οι φυσιολογικές τιμές της προγεστερόνης στο αίμα είναι <1 ng/ml στην παραγωγική φάση, 5-20 ng/ml κατά την ωχρινική φάση και πάλι <1 ng/ml μετά την εμμηνόπαυση.

Η προγεστερόνη, όπως και η οιστραδιόλη, επηρεάζει την έκκριση της GnRH τόσο με θετική όσο και με αρνητική επίδραση στον υποθάλαμο. Επάγει την ευαισθησία της υπόφυσης στη GnRH, μειώνοντας τη συχνότητα των ώσεων έκκρισης της GnRH [24] και ελαττώνοντας τη συνολική εκκρινόμενη ποσότητα της GnRH [25]. Έχει αποδειχτεί ότι η χορήγηση χαμηλών δόσεων προγεστερόνης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του εύρους των ώσεων έκκρισης της LH [26].

Επίσης, έχει αποδειχτεί ότι αυξημένα επίπεδα προγεστερόνης κατά τη 2^η ημέρα του κύκλου, σχετίζονται με μικρή πιθανότητα επίτευξης εγκυμοσύνης σε γυναίκες που τους χορηγούνται FSH και GnRH ανταγωνιστές [27].

1.2.4 Ινχιμπίνες

Οι ινχιμπίνες (ανασταλτίνες – Inhibins) είναι διμερείς γλυκοπρωτεΐνες που αποτελούνται από δύο υπομονάδες, τις α και β, με τη β να έχει δύο μορφές την Α και τη Β (βΑ και βΒ). Το διμερές αβΑ αποτελεί την ινχιμπίνη Α και το διμερές αβΒ την ινχιμπίνη Β. Ο ρόλος των ινχιμπινών είναι ανασταλτικός για τη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών.

Η ινχιμπίνη Α παράγεται από το προωρρηκτικό επικρατές ωοθυλάκιο και το ωχρό σωμάτιο και η παραγωγή της διεγείρεται από τις FSH και LH. Η συγκέντρωσή της είναι μέγιστη κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση και την ωχρινική φάση [28].

Η ινχιμπίνη Β παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα των αρχόμενων κοιλοτικών ωοθυλακίων και η παραγωγή της διεγείρεται από την FSH. Η συγκέντρωσή της είναι μέγιστη κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση και παραμένει χαμηλή κατά την ωχρινική φάση [28].

Από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι οι ινχιμπίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως δείκτες, η ινχιμπίνη Α αντίστοιχη της ωοθυλακικής ωρίμανσης, [29] ενώ η ινχιμπίνη Β αντίστοιχη της ωοθηκικής εφεδρείας [28].

1.2.5 Εκκλυτική ορμόνη των γοναδοτροφινών - GnRH

Εκκρίνεται από τον υποθάλαμο και συγκεκριμένα από τους υποθαλαμικούς νευρώνες. Η GnRH προκαλεί την έκκριση των γοναδοτροφινών από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Η δράση της GnRH δεν ασκείται με απ' ευθείας έκκρισή της στα κύτταρα του προσθίου λοβού της υπόφυσης, γιατί δεν υπάρχει άμεση επικοινωνία των νευρικών κυττάρων του υποθαλάμου με τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Η δράση ασκείται έμμεσα, μέσω του πυλαίου συστήματος, ενός αγγειακού δικτύου που υπάρχει στην περιοχή. Τα νευρικά κύτταρα του υποθαλάμου που εκκρίνουν την ορμόνη αυτή φθάνουν μέχρι το πυλαίο σύστημα, στην κυκλοφορία του οποίου απελευθερώνεται η GnRH, η οποία στη συνέχεια μεταφέρεται στα κύτταρα του προσθίου λοβού της υποφύσεως, για να ασκήσει την εκκριτική της δράση.

Η έκκριση της GnRH γίνεται κατά ώσεις οι οποίες λαμβάνουν χώρα ανά μία με τρεις ώρες, ανάλογα με τη φάση του κύκλου. Την κατά ώσεις έκκριση αυτή, ακολουθούν και οι γοναδοτροφίνες FSH και LH.

Η έκκριση της GnRH επηρεάζεται από τους μηχανισμούς feedback είτε επαγωγικά είτε ανασταλτικά. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι ο μακρύς μηχανισμός feedback (ορμόνες στην κυκλοφορία που επηρεάζουν τον υποθάλαμο και την υπόφυση), ο βραχύς μηχανισμός feedback (αρνητική επίδραση γοναδοτροφινών στην έκκριση της GnRH) και ο υπερβραχύς μηχανισμός feedback (αναστολή παραγωγής της GnRH από υψηλά επίπεδα της ίδιας).

Για να ασκήσει τη δράση της η GnRH στα γοναδοτρόφα κύτταρα του προσθίου λοβού της υπόφυσης, πρέπει να συνδεθεί πρώτα με ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στη μεμβράνη των κυττάρων αυτών. Οι υποδοχείς αυτοί δημιουργούνται από την ίδια την GnRH. Ο αριθμός των υποδοχέων της GnRH δεν είναι σταθερός αλλά μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια του γεννητικού κύκλου. Αυτή η αυξομείωση του αριθμού των υποδοχέων, είναι αποτέλεσμα της κατά ώσεις έκκρισης της GnRH.

Όταν γίνει χορήγηση της GnRH με συνεχή ενδοφλέβια ροή και όχι κατά ώσεις, όπως συμβαίνει φυσιολογικά, η έκκριση των γοναδοτροφινών ελαττώνεται. Το φαινόμενο

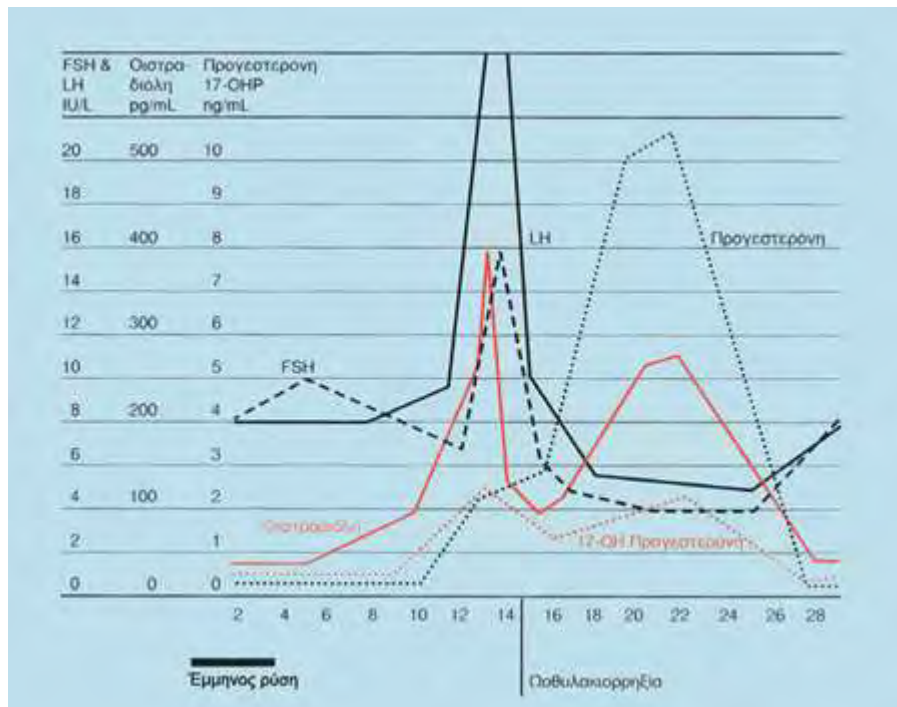
αυτό ονομάζεται απευαισθητοποίηση ή προς τα κάτω ρύθμιση των υποδοχέων (down regulation).

Εκτός από την ίδια την GnRH, στη δημιουργία των υποδοχέων της παίζουν ρόλο και τα οιστρογόνα τα οποία υπό ορισμένες συνθήκες μπορούν να αυξήσουν τον αριθμό των υποδοχέων, άρα και τη δραστικότητα της GnRH. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται προς τα άνω ρύθμιση των υποδοχέων (up regulation).

1.2.6 Gonadotrophin Surge Attenuating Factor - GnSAF

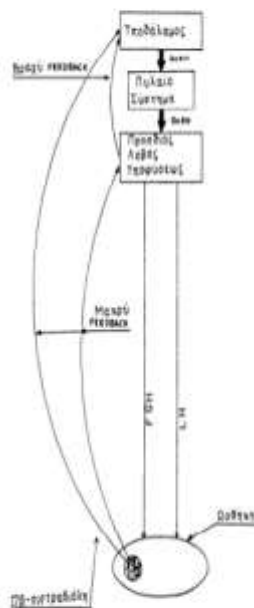
Ο παράγοντας αμβλύνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών (Gonadotrophin Surge Attenuating Factor – GnSAF) είναι μία ωθηκική ορμόνη μη στεροειδούς φύσεως. Παράγεται υπό την επίδραση της FSH και η δράση του είναι ιδιαίτερα εμφανής σε γυναίκες που υφίστανται πολλαπλή ωοθυλακική διέγερση κατά τη διάρκεια θεραπείας στο πλαίσιο της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Ο παράγοντας αυτός συμμετέχει στη ρύθμιση της έκκρισης της LH κατά τη διάρκεια του γεννητικού κύκλου, διατηρώντας την υπόφυση σε κατάσταση χαμηλής ευαισθησίας στη GnRH κατά το μεγαλύτερο διάστημα της ωθηκικής ανάπτυξης, ενώ επάγει κατά την προωθυλακιωρρηκτική περίοδο τη θετική επίδραση της οιστραδιόλης στην υπόφυση, άρα και τη μέγιστη έκκριση των γοναδοτροφινών κατά το μεσοκύκλιο κύμα της LH [18].

Τόπος παραγωγής του GnSAF αποδεικνύεται από μία μελέτη ότι είναι τα κοκκώδη κύτταρα, τα οποία αφού συλλέχθηκαν από το ωοθυλακικό υγρό γυναικών που υποβάλλονταν σε εξωσωματική γονιμοποίηση, καλλιεργήθηκαν και αναγνωρίστηκε δραστηριότητα του GnSAF στο περιβάλλον της καλλιέργειας [19].

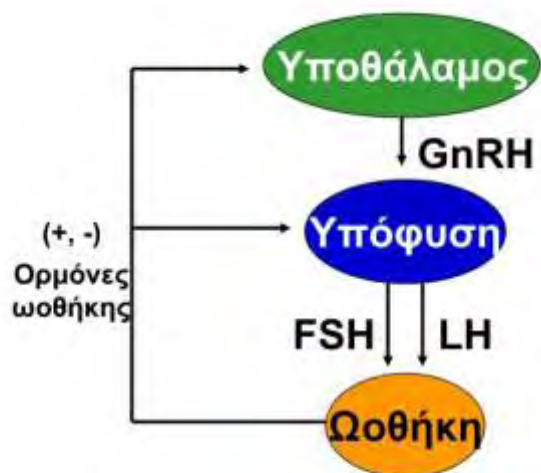


Εικόνα 3: Διακύμανση ορμονών κατά τον γεννητικό κύκλο (Μπόντης Ι. Φυσιολογία του εμμηνορρυσιακού κύκλου, 2007)

Η μείωση της στάθμης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στο αίμα στο τέλος της δεύτερης φάσης του κύκλου οδηγεί στην πριν από την έμμηνο ρύση αύξηση της FSH (διακυκλική αύξηση ή «παράθυρο» της FSH), ως αποτέλεσμα της άρσης της αρνητικής επίδρασης που ασκούσαν τα στεροειδή στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα. Η μείωση της FSH που ακολουθεί μετά το πρώτο μισό της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου οφείλεται στην αρνητική επίδραση που ασκούν τα αυξανόμενα επίπεδα της οιστραδιόλης. Η μεσοκύκλια εκκριτική αιχμή (peak) των LH και FSH είναι αποτέλεσμα της προηγούμενης αύξησης της οιστραδιόλης και προκαλείται με μηχανισμό θετικής επίδρασης και με τη βοήθεια της GnRH. Η ελάττωση των επιπέδων των γοναδοτροφινών που ακολουθεί μετά τη μεσοκύκλια εκκριτική αιχμή τους και η διατήρησή τους σε χαμηλά επίπεδα κατά τη δεύτερη φάση του κύκλου οφείλεται στα αυξημένα επίπεδα της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης (αρνητικός μηχανισμός feedback).



Εικόνα 4: Μακρύ και βραχύ feedback
(Σέγκος Χ. Γυναικολογική Ενδοκρινολογία, 1992)



Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορύθμισης
(Επίτομη Μαιευτική και Γυναικολογία 2010, Ι. Μεσσήνης)

1.3 ΕΠΙΛΟΓΗ ΩΟΘΥΛΑΚΙΟΥ

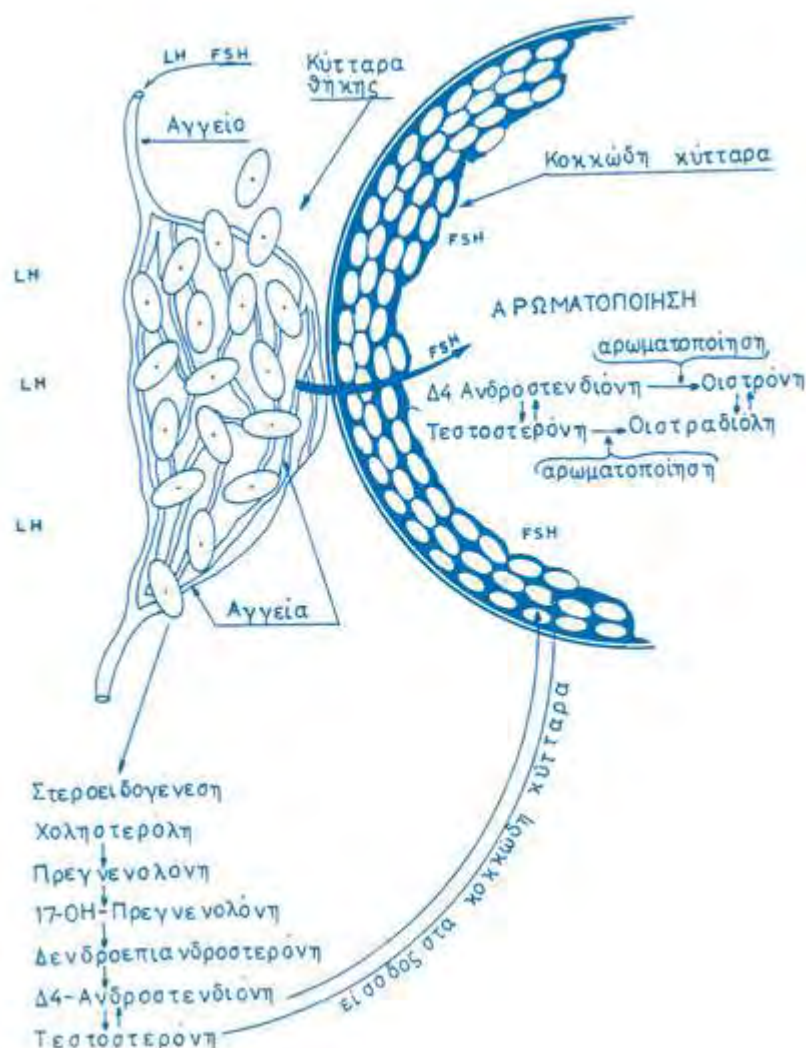
Από τη δημιουργία του άντρου, ένα σύνολο ωοθυλακίων, που είναι περισσότερο ώριμα από βιοχημικής πλευράς, αποκρίνεται καλύτερα στις γοναδοτροπίνες. Στην αρχή του γεννητικού κύκλου και 1-2 ημέρες πριν το τέλος του προηγούμενου, παρατηρείται αύξηση της FSH για μικρό χρονικό διάστημα. Η αύξηση αυτή ονομάζεται «παράθυρο της FSH» και βοηθά μία ομάδα ωοθυλακίων να φτάσουν σε πιο προχωρημένο στάδιο ανάπτυξης.

Συγκεκριμένα, σ' αυτή τη φάση, υπάρχουν αρκετά ωοθυλάκια μεγέθους 2-5mm περίπου, τα οποία στρατολογούνται. Ένα όμως από αυτά τελικά θα επιλεγεί. Η στρατολόγηση αυτή και η επιλογή ενός «κυρίαρχου» ωοθυλακίου εξαρτώνται αποκλειστικά από την FSH.

Αρχικά, υπό την επίδραση της LH, λαμβάνει χώρα η στεροειδογένεση των ανδρογόνων (Δ4-Ανδροστενδιόνης, τεστοστερόνης) στα κύτταρα της θήκης και η αρωματοποίηση των ανδρογόνων σε οιστρογόνα από τα κοκκώδη κύτταρα. Το ωοθυλάκιο με τα περισσότερα οιστρογόνα θα διαθέτει και τα περισσότερα κοκκώδη κύτταρα άρα και τους περισσότερους υποδοχείς FSH, οπότε θα κυριαρχήσει ανάμεσα στα στρατολογημένα ωοθυλάκια. Το ωοθυλάκιο αυτό ονομάζεται κυρίαρχο ή επικρατές ωοθυλάκιο.

Η επιλογή του ωοθυλακίου που θα φτάσει σε ωοθυλακιορρηξία γίνεται μεταξύ 5^{ης} και 7^{ης} ημέρας του κύκλου. Τα υπόλοιπα ωοθυλάκια υποστρέφουν και εκφυλίζονται, μετατρέπονται σε άτρητα και μεταναστεύουν στο στρώμα της ωοθήκης, όπου εξαφανίζονται. Ατρησία μπορεί να συμβεί σε οποιοδήποτε στάδιο της ανάπτυξης του ωοθυλακίου και είναι αποτέλεσμα της επίδρασης διαφόρων παραγόντων που τελικά οδηγούν το κύτταρο σε προγραμματισμένο θάνατο.

Κατά την παραγωγική φάση του κύκλου, το δευτερογενές ωοθυλάκιο που επικρατεί αυξάνει γρήγορα σε μέγεθος από 2mm σε 20mm. Αυτή η απότομη αύξηση του ωοθυλακίου οφείλεται κυρίως στη συσσώρευση ωοθυλακικού υγρού στην κοιλότητα του άντρου.



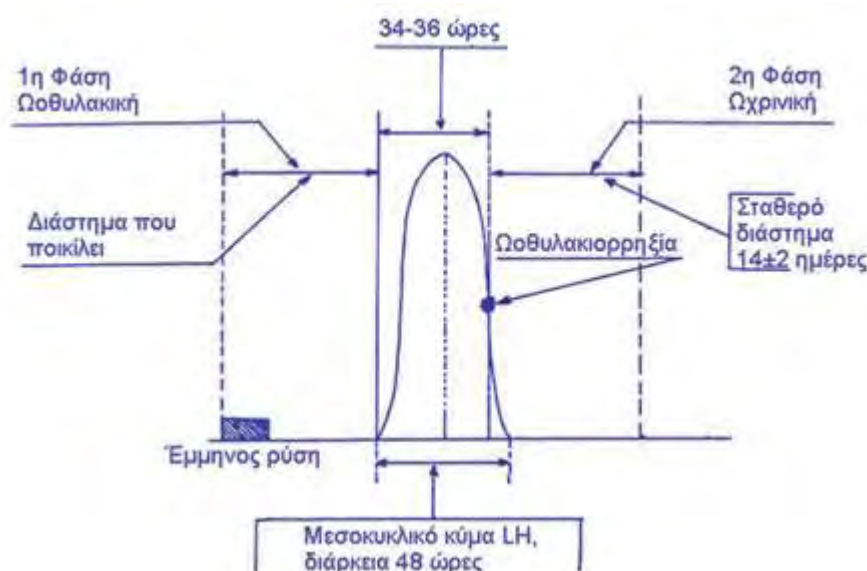
Εικόνα 6: Η παραγωγή οιστρογόνων από το ωοθυλάκιο σχηματικά (Σέγκος Χ. Γυναικολογική Ενδοκρινολογία, 1992)

Μετά την επιλογή του κατά την 5^η-7^η ημέρα του κύκλου, τα παραγόμενα οιστρογόνα προέρχονται από το επικρατές ωοθυλάκιο. Η αύξηση των οιστρογόνων προκαλεί, μέσω του αρνητικού μηχανισμού feedback, μείωση της έκκρισης των γοναδοτροφινών από την υπόφυση και έτσι τα επίπεδα της FSH ελαττώνονται. Αυτή η μείωση της FSH αναστέλλει την υποστήριξη των μικρότερων ωοθυλακίων, τα οποία οδηγούνται σε ατρησία. Το επικρατές ωοθυλάκιο όμως, έχοντας περισσότερους υποδοχείς FSH, περισσότερα κοκκώδη κύτταρα και αυξημένη αιμάτωση, αναπτύσσεται έστω και με υποστήριξη από χαμηλά επίπεδα FSH. Τα κοκκώδη κύτταρα διογκώνονται και παράγουν υψηλές ποσότητες 17-β οιστραδιόλης που φθάνει στη μέγιστη συγκέντρωσή της περίπου 24 με 36 ώρες πριν την επικείμενη ωοθυλακιορρηξία.

Ένα προκοιλοτικό δευτερογενές ωοθυλάκιο για να μετατραπεί σε προωρρηκτικό χρειάζεται 85 ημέρες [30].

1.4 ΩΟΘΥΛΑΚΙΟΡΡΗΞΙΑ

Ωοθυλακιορρηξία ονομάζουμε τη ρήξη του ωοθυλακίου και την απελευθέρωση του ώριμου ωαρίου. Συμβαίνει τουλάχιστον 36 ώρες μετά την έναρξη της αιχμής της LH. Υπό την επίδραση της αιχμής αυτής το επικρατές ωοθυλάκιο δέχεται τη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων που εκφυλίζουν το τοίχωμά του και οδηγείται σε ρήξη.



Εικόνα 7: Το μεσοκυκλικό κύμα της LH
(Σέγκος Χ. Γυναικολογική Ενδοκρινολογία, 1992)

Η LH αυξάνει και προκαλεί αιχμή της τιμής της, αποτέλεσμα της θετικής παλίνδρομης αλληλορύθμισης στην αύξηση των οιστρογόνων (150-300 pg οιστραδιόλης για περίπου 50 ώρες). Στην υπόφυση, τα αυξημένα επίπεδα οιστρογόνων προκαλούν αύξηση των υποδοχέων της GnRH. Κατ' αυτόν τον τρόπο ευαισθητοποιείται η υπόφυση στη δράση της GnRH, με αποτέλεσμα την μεσοκυκλική αιχμή των γοναδοτροφινών.

Τα επίπεδα της προγεστερόνης στο αίμα αυξάνουν πριν την ωοθυλακιορρηξία, αλλά παραμένουν χαμηλότερα από ότι κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης. Στο μέσον του κύκλου σημειώνεται αιχμή των παραγόμενων ανδρογόνων λόγω της δράσης των υψηλών επιπέδων LH στα κύτταρα της θήκης των άτρητων ωοθυλακίων, πριν αυτά μετατραπούν σε στρώμα.

Οι αλλαγές που συμβαίνουν στο ωοθυλάκιο κατά τη ρήξη του τοιχώματός του, προκαλούν σημαντική υπεραιμία λόγω της αυξημένης ροής και διαπερατότητας των τριχοειδών αγγείων του. Το ωάριο που απελευθερώνεται περιβάλλεται από πολλαπλές στοιβάδες κοκκωδών κυττάρων, που συνολικά καλούνται ωοφόρος λόφος [37].

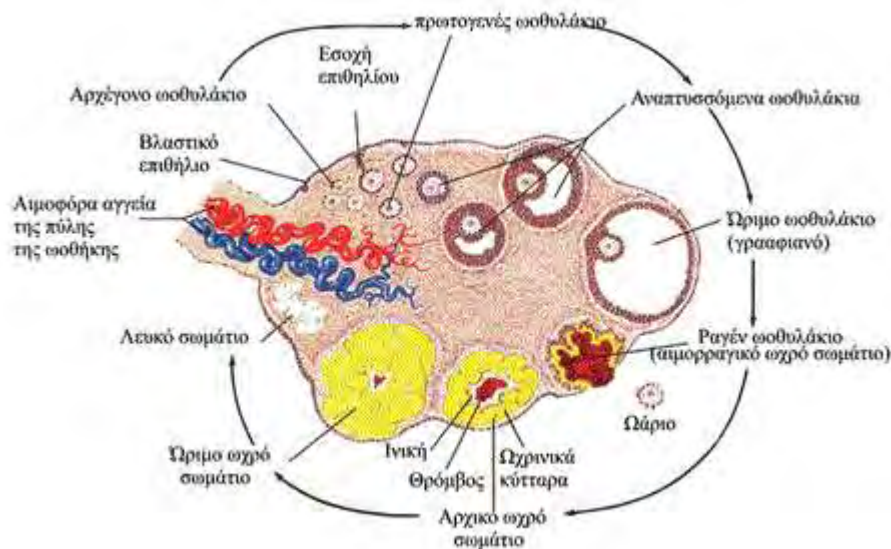
1.5 ΩΧΡΟ ΣΩΜΑΤΙΟ

Η ωοθυλακιορρηξία ακολουθείται από τη μετατροπή του ωοθυλακίου σε ωχρο σωματίο. Κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής ανάπτυξης τα κοκκώδη κύτταρα συνθέτουν στεροειδή από την αρωματοποίηση των ανδρογόνων που παράγονται στα κύτταρα της θήκης, καθώς τα κοκκώδη κύτταρα δεν έχουν ακόμη την ικανότητα σύνθεσης χοληστερόλης, η οποία αποτελεί πρόδρομη ουσία των στεροειδών. Τα κοκκώδη κύτταρα μόνο μετά τη ρήξη του ωοθυλακίου μπορούν να χρησιμοποιήσουν την χοληστερόλη που πλάσματος για να συνθέσουν στεροειδή. Όταν απελευθερωθεί το ωάριο δημιουργείται ένα αγγειακό δίκτυο μεταξύ των κοκκωδών κυττάρων, μέσω του οποίου συλλέγεται η χοληστερόλη η οποία στη συνέχεια χρησιμοποιείται για την παραγωγή προγεστερόνης και οιστρογόνων από το ωχρο σωματίο.

Κατά την ωχρινική φάση του κύκλου, ένα από τα κύρια γεγονότα που λαμβάνουν χώρα είναι η αύξηση της έκκρισης της προγεστερόνης από τα κύτταρα της έσω θήκης. Η τιμή της προγεστερόνης στο αίμα στη φάση αυτή είναι 25ng/ml. Αποτέλεσμα αυτής της αύξησης είναι η φυσιολογική άνοδος της βασικής θερμοκρασίας του σώματος της γυναίκας, λόγω της δράσης της προγεστερόνης στο θερμορρυθμιστικό κέντρο του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Επίσης, η προγεστερόνη δρα ανασταλτικά στην παραγωγή άλλων ωοθυλακίων και έχει μεγάλη επίδραση στη μήτρα. Κυρίως επιδρά στο ενδομήτριο το οποίο προετοιμάζει για την πιθανή εμφύτευση ενός γονιμοποιημένου ωαρίου.

Η αύξηση των επιπέδων της προγεστερόνης οδηγεί σε ελάττωση των αντίστοιχων των LH και FSH. Στην περίπτωση που δεν υπάρξει γονιμοποίηση, τα επίπεδα της FSH αυξάνουν στις 2 τελευταίες ημέρες του κύκλου απαντώντας έτσι στη μειωμένη παραγωγή των οιστρογόνων και προγεστερόνης από το εκφυλισμένο πια ωχρο σωματίο.



Εικόνα 8: Στάδια ανάπτυξης ωοθυλακίων
(Κρεατσάς Γ. Σύγχρονη Γυναικολογία & Μαιευτική, 1998)

Η διάρκεια της παραγωγικής ζωής ενός ωχρού σωματίου είναι περίπου 14 ημέρες. Μετά το διάστημα αυτό, αν δεν υπάρξει γονιμοποίηση, το ωχρό σωματίο αντικαθίσταται από ουλώδη ανάγγειο ιστό, που ονομάζεται λευκό σωματίο. Μία ακόμη πιθανή εξέλιξη σε περίπτωση μη γονιμοποίησης είναι το αιμορραγικό ωχρό σωματίο.

Σε περίπτωση γονιμοποίησης, το ωχρό σωματίο παραμένει λειτουργικό για τις πρώτες έξι εβδομάδες της κύησης, δεχόμενο την επίδραση της χοριακής γοναδοτροφίνης, και παράγει την απαραίτητη για την κύηση προγεστερόνη. Μετά την πάροδο του χρονικού αυτού διαστήματος, την υποστήριξη της κύησης αναλαμβάνει ο πλακούντας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ

Στόχος της διέγερσης των ωοθηκών είναι η πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιωρρηξίας, η ανάπτυξη ελεγχόμενου αριθμού ωοθυλακίων και η διατήρηση αυτών μέχρι την ωοληψία. Η κύρια κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιείται για την επίτευξη αυτών των στόχων είναι τα GnRH ανάλογα, τα οποία απευαισθητοποιώντας την υπόφυση, συμβάλλουν στην πρόληψη της εμφάνισης πρόωρης αιχμής της LH η οποία οδηγεί και σε πρόωρη ρήξη των ωοθυλακίων που παράγονται. Άλλη βασική κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιούνται κατά την ωοθυλακική διέγερση είναι οι γοναδοτροφίνες. Διαχωρίζονται σε αυτές που προκύπτουν από επεξεργασία ούρων μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, όπως η ανθρώπιος μετεμμηνοπαυσιακή γοναδοτροφίνη (HMG), η κεκαθαρμένη FSH και η χοριακή γοναδοτροφίνη (HCG) και στις ανασυνδυασμένες γοναδοτροφίνες (FSH, LH και HCG).

Σε περιπτώσεις που δεν υπάρχει τακτική έμμηνος ρύση στη γυναίκα ή όταν υπάρχουν ανωοθυλακιωρρηκτικοί κύκλοι, όπως συμβαίνει σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS - κατηγορία II ωοθηκικής διαταραχής κατά WHO) ο σκοπός της φαρμακευτικής αγωγής είναι η ανάπτυξη και η απελευθέρωση ενός ώριμου ωαρίου. Η θεραπεία αυτή ονομάζεται πρόκληση ωοθυλακιωρρηξίας.

Αντίθετα, ο σκοπός της θεραπείας στις γυναίκες με τακτική ωορρηξία, όπως σε περιστατικά ενδομητρίωσης, σε υπογονιμότητα άγνωστης αιτιολογίας και σε υπογονιμότητα λόγω ανδρικού παράγοντα, είναι να επάγει την ανάπτυξη πολλαπλών ωοθυλακίων με την επακόλουθη απελευθέρωση πολλαπλών ωαρίων. Η διέγερση των ωοθηκών δηλαδή στις περιπτώσεις αυτές γίνεται αποσκοπώντας στην ελεγχόμενη ανάπτυξη των ωοθυλακίων.



Εικόνα 9: Day 9 Ultrasound - Growing Follicles Nearly Ready for Egg Retrieval (O'Reilly, B., Bottompley, C. & Rymer, J., Pocket Essentials of Obstetrics and Gynaecology, 2005)

2.2 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

Τα πρωτόκολλα διέγερσης ωοθηκών χωρίζονται σε αυτά που γίνεται χρήση GnRH ανταγωνιστών και σε αυτά που γίνεται χρήση GnRH αγωνιστών. Και στις δύο περιπτώσεις γίνεται χρήση των γοναδοτροφινών με τα αποτελέσματα να τυγχάνουν ευρείας αποδοχής και τα περισσότερα προγράμματα εξωσωματικής γονιμοποίησης παγκοσμίως να επιλέγουν ως μέθοδο διέγερσης των ωοθηκών τα πρωτόκολλα αυτά. Τα επιμέρους χαρακτηριστικά κάθε περιστατικού και η κρίση του θεράποντος ιατρού οδηγούν στην επιλογή του καταλληλότερου πρωτοκόλλου, το οποίο εξατομικεύεται αν χρειαστεί κατά τη διάρκεια της θεραπείας ανάλογα με τα αποτελέσματα.

Κάποια κριτήρια με βάση τα οποία μπορεί να προσδιοριστεί το κατάλληλο πρωτόκολλο, είναι:

- Ηλικία
- Επίπεδα FSH κατά την 2^η – 3^η ημέρα του κύκλου
- Υπερηχογραφικός έλεγχος και μέτρηση ωοθυλακίων (antral follicle count) κατά την 3^η ημέρα του κύκλου
- Ιστορικό
- Αιτία υπογονιμότητας

Στόχος κάθε πρωτοκόλλου είναι η συλλογή ενός επιθυμητού αριθμού ωαρίων που συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 4 και 10 ωαρίων.

2.2.1 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ GnRH ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ

Οι GnRH αγωνιστές είναι ουσίες που μετά τη χορήγησή τους μπλοκάρουν τους αντίστοιχους υποδοχείς της υπόφυσης προκαλώντας αρχικά την αύξηση των επιπέδων FSH και LH στην κυκλοφορία του αίματος (flare-up effect) και στη συνέχεια την αύξηση του αριθμού των ελεύθερων υποδοχέων GnRH στη υπόφυση (ευαισθητοποίηση). Η συνεχιζόμενη χορήγηση του αγωνιστή οδηγεί σε μείωση του αριθμού των αντίστοιχων υποδοχέων στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης, καταστολή των κυττάρων αυτών (down-regulation), γεγονός που οδηγεί σε απευαισθητοποίηση της υπόφυσης και σημαντική μείωση των επιπέδων των FSH και LH στο αίμα λόγω καταστολής της ωοθηκικής λειτουργίας.

Τα κύρια πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών με GnRH αγωνιστές είναι τρία.

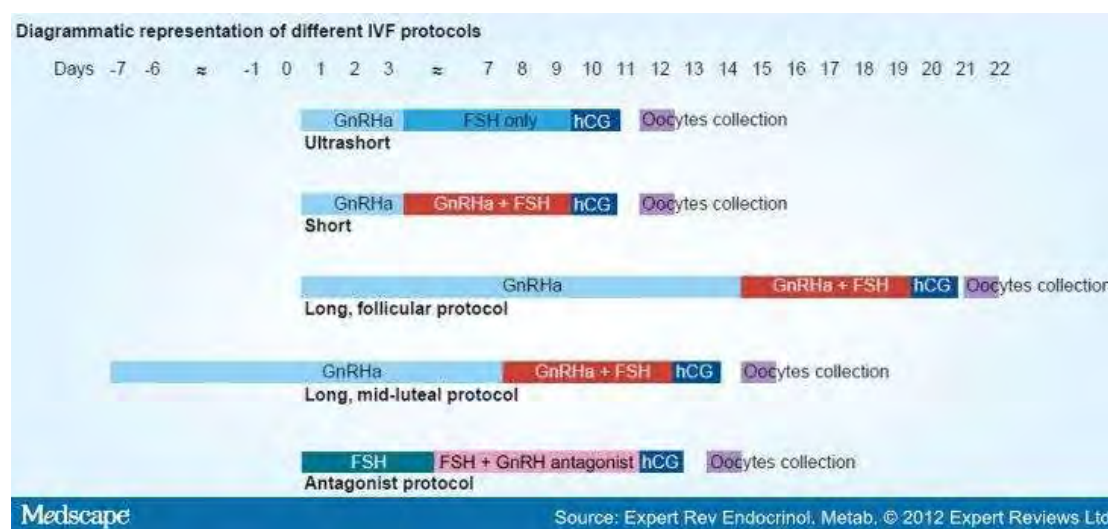
1) Το μακρύ πρωτόκολλο διαρκεί περίπου 30 ημέρες και ανάλογα με το πότε ξεκινά η χορήγηση του αγωνιστή χωρίζεται σε long luteal και σε long follicular. Στην πρώτη περίπτωση η χορήγηση ξεκινά από το μέσο της εκκριτικής φάσης του προηγούμενου κύκλου (21^η ημέρα σε κύκλο 28 ημερών), ενώ στη δεύτερη περίπτωση ξεκινά στην

αρχή της παραγωγικής φάσης του ίδιου κύκλου (1^η ημέρα). Υπάρχουν δύο φάσεις, αυτή της απευαισθητοποίησης της υπόφυσης και αυτή της διέγερσης των ωοθηκών. Κατά την πρώτη φάση, ο αγωνιστής χορηγείται σε σταθερές δόσεις για 14 ημέρες, μέχρι δηλαδή να επιτευχθεί η απευαισθητοποίηση της υπόφυσης. Στη συνέχεια ξεκινά η δεύτερη φάση όπου χορηγούμε ανασυνδυασμένες γοναδοτροφίνες για 10 με 14 ημέρες, διάστημα στο οποίο συνεχίζεται η χορήγηση του αγωνιστή για την διατήρηση της καταστολής της υπόφυσης [13]. Η χορήγηση των γοναδοτροφινών και του αγωνιστή σταματά όταν υπερηχογραφικά επιβεβαιωθεί επαρκής αριθμός ωοθυλακίων, όπου και χορηγείται η HCG για να γίνει τελικά η ωοληψία 36 ώρες μετά.

2) Το βραχύ πρωτόκολλο διαρκεί περίπου 15 ημέρες και επιλέγεται κυρίως σε γυναίκες με ηλικία >39 ετών και σε περιπτώσεις πτωχής απόκρισης των ωοθηκών. Η χορήγηση του αγωνιστή ξεκινά την 1^η ή 2^η ημέρα του κύκλου, ενώ οι γοναδοτροφίνες χορηγούνται 24 ώρες αργότερα (3^η ή 4^η ημέρα).

Κατά τη διάρκεια αυτού του πρωτοκόλλου, η ωοθηκική λειτουργία ενισχύεται από τις γοναδοτροφίνες πιο έντονα, γεγονός που οδηγεί σε στρατολόγηση περισσότερων ωοθυλακίων και σε λήψη περισσότερων ωαρίων κατά την ωοληψία. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της FSH είναι φυσιολογικά αυξημένα στο αίμα (αρχή του κύκλου) και υπό την επίδραση του GnRH αγωνιστή που χορηγούμε προκαλείται περαιτέρω αύξηση των επιπέδων αυτών (flare-up). Επιπρόσθετα, οι φαρμακευτικές γοναδοτροφίνες που χορηγούμε εξωγενώς αυξάνουν ακόμα περισσότερο τα συνολικά επίπεδα των γοναδοτροφινών στο αίμα.

3) Το υπερβραχύ πρωτόκολλο αποτελεί παραλλαγή του βραχέως πρωτοκόλλου. Οι διαφορές του είναι ότι η χορήγηση του αγωνιστή διαρκεί 3 ημέρες, διακόπτεται δηλαδή με το τέλος του flare-up effect και η χορήγηση των γοναδοτροφινών ξεκινά τη 2^η ημέρα του κύκλου [1].



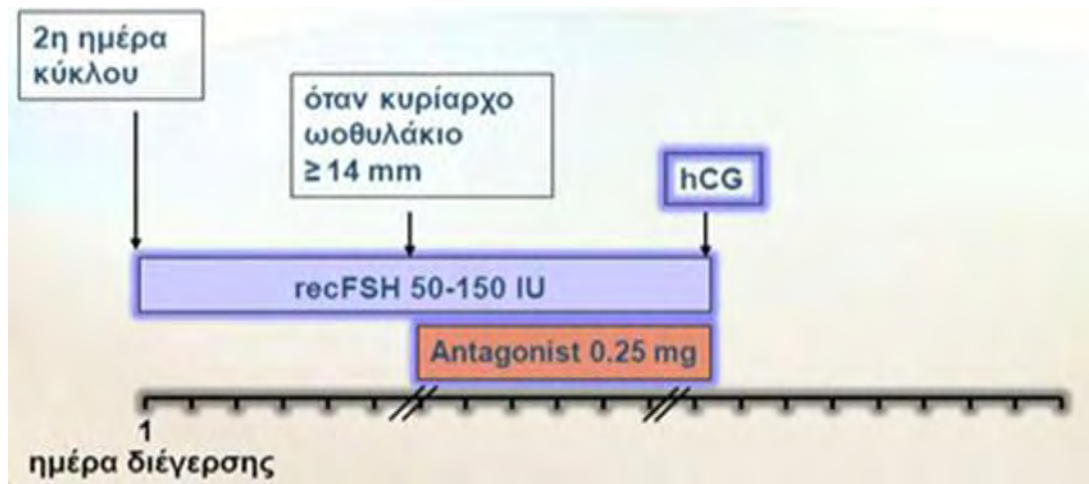
Εικόνα 10: Πρωτόκολλα GnRH αναλόγων
(Expert Rev Endocrinol Metab. 2012;7(4):1-14, www.medscape.com)

2.2.2 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ GnRH ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΩΝ

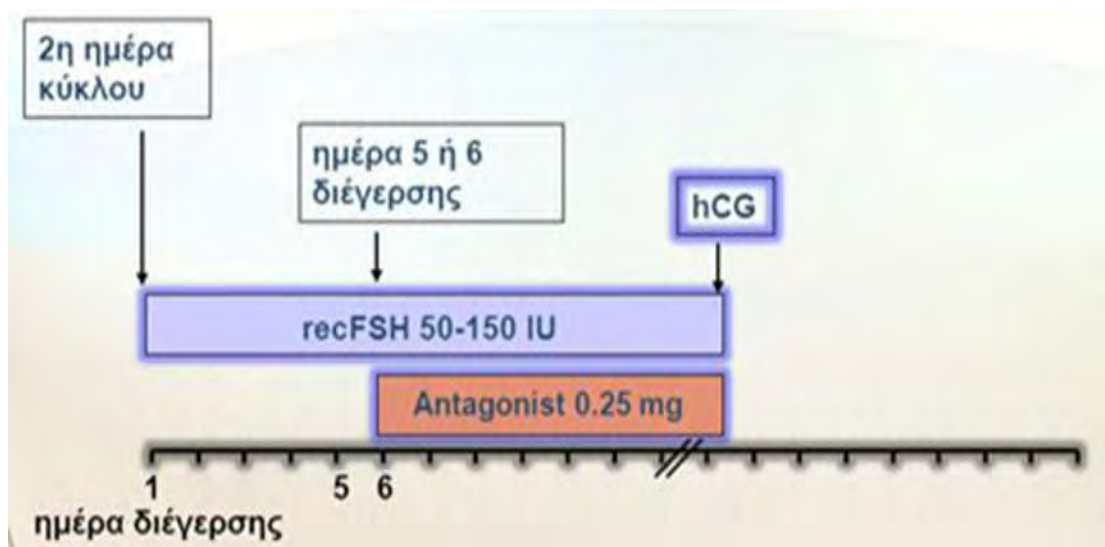
Οι GnRH ανταγωνιστές συνδέονται ανταγωνιστικά με τους υποδοχείς GnRH στην υπόφυση και έτσι μπλοκάρουν τη δράση της GnRH που παράγεται από τον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου [2]. Αποτέλεσμα αυτής της δράσης είναι η μείωση των επιπέδων των FSH και LH στην κυκλοφορία, λίγες μόλις ώρες μετά την λήψη των ανταγωνιστών. Από την χορήγηση των GnRH ανταγωνιστών λείπει το flare-up effect των αγωνιστών, ενώ αμέσως μετά τη διακοπή της χορήγησής τους οι GnRH υποδοχείς αποδесμεύονται και η λειτουργία του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα [3].

Τα κύρια πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών με χορήγηση GnRH ανταγωνιστών είναι:

- 1) Το πρωτόκολλο της εφάπαξ δόσης (single dose protocol), όπου χορηγείται μία δόση ανταγωνιστή το χρονικό διάστημα μεταξύ 8^{ης} και 9^{ης} ημέρας του εμμηνορρυσιακού κύκλου [4].
- 2) Το πρωτόκολλο των πολλαπλών δόσεων με καθορισμένη την ημέρα που ξεκινά η λήψη του GnRH ανταγωνιστή (fixed multiple dose protocol). Στο πρωτόκολλο αυτό η χορήγηση του ανταγωνιστή γίνεται σε μικρές δόσεις (περίπου 0,25mg), κάθε μέρα από την 5^η ημέρα του κύκλου μέχρι την ημέρα χορήγησης της HCG [5].
- 3) Το πρωτόκολλο των πολλαπλών δόσεων με μη καθορισμένη ημέρα έναρξης λήψης του GnRH ανταγωνιστή (flexible multiple dose protocol). Σε αυτή την περίπτωση, η χορήγηση του ανταγωνιστή γίνεται ανάλογα με τον αριθμό των ωοθυλακίων που αναπτύσσονται (υπερηχογραφικός έλεγχος) ή ανάλογα με την τιμή της οιστραδιόλης στο αίμα [6] , [17].



Εικόνα 11: Flexible multiple dose protocol
(Επίτομη Μαιευτική και Γυναικολογία 2010, Ι. Μεσσήνης)

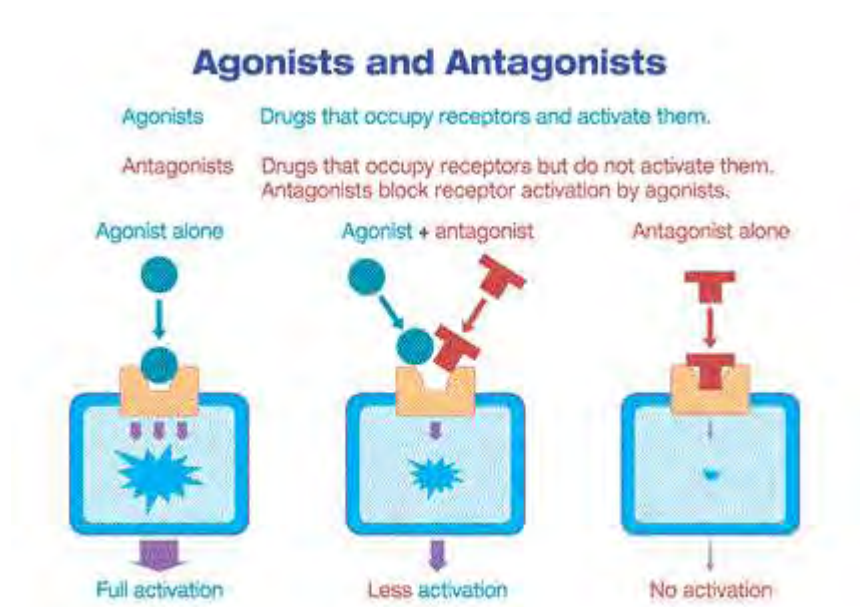


Εικόνα 12: Fixed multiple dose protocol
(Επίτομη Μαιευτική και Γυναικολογία 2010, Ι. Μεσσήνης)

2.3 ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ

Κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας όπου και έγινε η εισαγωγή της χρήσης των GnRH ανταγωνιστών στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, παρόλο που παρουσιάστηκε μια διαφορά της τάξης του 5% (αμελητέα ως προς την κλινική σπουδαιότητά της) στην επίτευξη εγκυμοσύνης [7], προέκυψαν έντονες ανησυχίες που οδήγησαν στη μειωμένη αποδοχή της χορήγησης των ανταγωνιστών για διέγερση των ωοθηκών [8].

Είναι πιθανό η αποδοχή της χρήσης των ανταγωνιστών ως GnRH ανάλογο αντί των αγωνιστών να ήταν πολύ καλύτερη, αν στην ίδια μελέτη [7] γινόταν σαφές ότι η διαφορά του 5% υπέρ των αγωνιστών ως προς την επίτευξη εγκυμοσύνης, δεν συμβάδιζε με σημαντική στατιστικά διαφορά σε αριθμό ζώντων γεννήσεων. Από τη μετα-ανάλυση πέντε μεγάλων τυχαιοποιημένων μελέτων (RCTs) [9] προέκυψε ότι η διαφορά στο ποσοστό ζώντων γεννήσεων μεταξύ αγωνιστών και ανταγωνιστών δεν ήταν στατιστικά σημαντική.



Εικόνα 13: Agonist and Antagonist receptors
(membranereceptors.com)

Οι βασικές λοιπόν διαφορές των δύο κατηγοριών των GnRH αναλόγων, είναι οι εξής:

- 1) Η εμφάνιση πρόωρης εκκριτικής αιχμής της LH μπορεί να αποφευχθεί πιο αποτελεσματικά και σε μικρότερο χρονικό διάστημα, διότι οι ανταγωνιστές δρουν με την πάροδο λίγων μόλις ωρών από τη χορήγησή τους. [10] Αυτή η άμεση δράση τους καθιστά δυνατή τη χορήγησή τους σε περιπτώσεις υψηλού ρίσκου εμφάνισης πρόωρης αιχμής LH. Από την άλλη μεριά οι GnRH αγωνιστές χρειάζονται διάστημα 10 ημερών περίπου για την επίτευξη απευαισθητοποίησης της υπόφυσης [16].
- 2) Η χορήγηση αγωνιστών μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό κυστικών μορφωμάτων, ενώ με τους ανταγωνιστές αυτή η παρενέργεια αποφεύγεται [14].
- 3) Οι GnRH ανταγωνιστές δεν προκαλούν υπο-οιστρογοναιμία, όπως οι αγωνιστές, γεγονός που προλαμβάνει την εμφάνιση εξάψεων κατά τη διάρκεια της θεραπείας [11].
- 4) Η απαιτούμενη δόση χορήγησης φαρμακευτικών γοναδοτροφινών είναι μικρότερη, άρα το κόστος της θεραπείας μειώνεται σημαντικά [15].
- 5) Η ταλαιπωρία της ασθενούς μειώνεται διότι η χρονική διάρκεια του πρωτοκόλλου διέγερσης με ανταγωνιστή είναι πολύ μικρότερη από το αντίστοιχο με αγωνιστή.
- 6) Η χορήγηση GnRH αγωνιστών συνδέεται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης σοβαρού συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS) σε σχέση με τη χορήγηση ανταγωνιστών [31].
- 7) Η πιθανότητα για αδιάγνωστη πρώιμη κύηση εξαλείφεται, καθώς οι GnRH ανταγωνιστές χορηγούνται στην πρώιμη ωοθυλακική φάση του κύκλου.
- 8) Τα πρωτόκολλα GnRH ανταγωνιστών απαιτούν ορισμένες ημέρες έναρξης της φαρμακευτικής αγωγής, γεγονός που μειώνει σε μεγάλο βαθμό την ευελιξία της θεραπείας, ειδικά σε μονάδες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με μεγάλο όγκο περιστατικών. Η χρήση αντισυλληπτικών δισκίων θα μπορούσε να βοηθήσει στον καλύτερο προγραμματισμό της εκάστοτε επιθυμητής ημερομηνίας έναρξης του θεραπευτικού πρωτοκόλλου [12].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 Εισαγωγή

Με βάση τις παραπάνω μελέτες, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι με τη χρήση των GnRH αναλόγων κατά την ωοθηκική διέγερση, αποσκοπούμε στην καταστολή της εκκριτικής αιχμής της LH. Η καταστολή αυτή θα έχει ως αποτέλεσμα την επιβίωση και ανάπτυξη περισσότερων ωοθυλακίων εκτός του επικρατούντος, γεγονός απαραίτητο για τη διενέργεια επιτυχημένης ωοληψίας.

Από την άλλη μεριά, μία από τις βιολογικές δράσεις του GnSAF στον φυσιολογικό γεννητικό κύκλο, έχει αποδειχθεί ότι είναι η μείωση της έκκρισης της LH που επάγεται από την GnRH [32],[33]. Είναι γνωστό ότι η οιστραδιόλη ευαισθητοποιεί την υπόφυση κατά τη διάρκεια της παραγωγικής φάσης του κύκλου, αλλά η ευαισθητοποίηση αυτή γίνεται αντιληπτή μόνο στην όψιμη παραγωγική φάση, δηλαδή πριν την έναρξη της εκκριτικής αιχμής της LH. Ο λόγος που συμβαίνει αυτό, είναι η δράση του GnSAF, ο οποίος ανταγωνίζεται αυτή την ευαισθητοποιό λειτουργία της οιστραδιόλης. Έχει αποδειχτεί πως ο GnSAF είναι αυτός που καθορίζει με την καταστολή της βιοδραστικότητάς του, την χρονική στιγμή της εκδήλωσης της εκκριτικής αιχμής της LH [18].

Ο λόγος που ο GnSAF έχει υψηλότερη δραστηριότητα κατά την πρώιμη και μέση παραγωγική φάση, από ότι στην όψιμη, οφείλεται στο γεγονός ότι τα μικρά στρατολογημένα ωοθυλάκια είναι αυτά που παράγουν τις περισσότερες ποσότητες GnSAF. Με αυτόν τον τρόπο εξηγείται η απευαισθητοποίηση της υπόφυσης στην οιστραδιόλη στα πρώτα στάδια της παραγωγικής φάσης [34].

Με την εξέλιξη της παραγωγικής φάσης, η κατάσταση αυτή αλλάζει, καθώς μετά την επιλογή του επικρατούντος ωοθυλακίου οι παραγόμενες ποσότητες GnSAF είναι σταθερά μειούμενες, αφού τα στρατολογημένα μικρά ωοθυλάκια σταδιακά υποστρέφουν. Έτσι, προς το τέλος της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου, η

βιοδραστικότητα του GnSAF μειώνεται, η ευαισθητοποιός δράση της οιστραδιόλης στην υπόφυση ενεργοποιείται και ακολουθεί η εκκριτική αιχμή της LH [35].

3.2 Υπόθεση

Η αποκωδικοποίηση της βιοδραστικότητας και των χαρακτηριστικών του GnSAF των τελευταίων ετών μπορεί να δημιουργήσει νέους τρόπους προσέγγισης στις προκλήσεις και δυσκολίες της ωοθηκικής διέγερσης.

Μία τέτοια υπόθεση θα μπορούσε να αφορά τη χορήγηση ή όχι GnRH αναλόγων κατά την ωοθηκική διέγερση. Αναλογιζόμενος κάποιος την ανασταλτική δράση του GnSAF πάνω στο μεσοκυκλικό κύμα της LH, θα μπορούσε να αποφανθεί ότι μπορεί να αποφύγει τη χορήγηση αναλόγου, με ό,τι ρίσκο αυτό συνεπάγεται (OHSS, χρηματικό κόστος, χρόνος).

Σε πολλές γυναίκες παρά τη δράση του GnSAF, χωρίς τη χορήγηση GnRH αναλόγου, το κύμα της LH θα εκδηλωθεί. Στις περιπτώσεις αυτές, χάνεται ολόκληρη η προσπάθεια διέγερσης των ωοθηκών. Μία τέτοια απώλεια μεταφράζεται σε μεγάλο κόστος οικονομικό και χρονικό, αλλά και σε πιθανή έντονη ψυχολογική επιβάρυνση των ασθενών.

3.3 Συμπέρασμα

Η χρήση των GnRH αναλόγων είναι ακόμη απαραίτητη στην ωοθηκική διέγερση. Η πιθανότητα ύπαρξης μεσοκυκλικού κύματος LH χωρίς χορήγηση αναλόγων, είναι σημαντική, παρά τη δράση του GnSAF.

Η πρόοδος στην κατανόηση και αποκωδικοποίηση των μηχανισμών δράσης και αλληλορύθμισης των ορμονών του γεννητικού κύκλου στη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών είναι αλματώδης. Η απόκτηση περαιτέρω κλινικής εμπειρίας στη χρήση των πρωτόκολλων ωοθηκικής διέγερσης σε συνδυασμό με αυτή τη ραγδαία πρόοδο της επιστήμης, είναι πολύ πιθανό να μας οδηγήσουν σε ένα νέο μηχανισμό ωοθηκικής διέγερσης όπου δεν θα απαιτείται η χορήγηση GnRH αναλόγων. Μία τέτοια εξέλιξη προϋποθέτει τη διεξαγωγή περισσότερων μελετών και ερευνών πάνω στον μηχανισμό του GnSAF, ο οποίος όταν αποκωδικοποιηθεί πλήρως, ίσως προσδώσει στην παγκόσμια επιστημονική κοινότητα τον πλήρη έλεγχο της μεσοκύκλιου αιχμής της LH.

Δυστυχώς, αυτή η επιστημονική έρευνα προβλέπεται πολυδάπανη και πολυετής, αλλά η πιθανή επίτευξη του πλήρη ελέγχου του κύματος της LH, θα άλλαζε σε πολύ μεγάλο βαθμό κάθε προσπάθεια εξωσωματικής γονιμοποίησης που απαιτεί ωοθηκική διέγερση, βελτιώνοντας πιθανότατα τα ποσοστά επίτευξης εγκυμοσύνης.

Σήμερα, το ρίσκο αποτυχίας της διέγερσης των ωοθηκών δίχως χορήγηση GnRH αναλόγων είναι σημαντικό, γεγονός που καθιστά τη χορήγησή τους απαραίτητη.

Βιβλιογραφία

- [1] **Chun Ng, Geoffrey Trew.** "Endocrinological insights into different in vitro fertilization treatment aspects; IVF protocols using gonadotrophin-releasing hormone agonist". Expert Rev Endocrinol Metab. 2012;7(4):1-14.
- [2] **Reissmann T, , Felderbaum R, Diedrich K, Engel J, Comary-Schally AM, Schally AV.** "Development and applications of luteinizing hormone-releasing hormone antagonists in the treatment of infertility: an overview". Hum Reprod, 10(8), 1974-81(1995)
- [3] **Kenigsberg D, Littman BA, Hodgen GD.** "Medical hypophysectomy: I. Doseresponse using a gonadotropin-releasing hormone antagonist. ", Fertil Steril, 42(1), 112-5(1984)
- [4] **Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicollet B, Zorn JR, Buchard P, Frydman R.** "Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin)". Fertility and sterility. 2000 Feb;73(2):314-20. PubMed PMID: 10685535.
- [5] **Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R.** "The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation". Human reproduction update. 2002 MayJun;8(3):279-90. PubMed PMID: 12078838

- [6] **Al-Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI.** "Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol". Reproductive biomedicine online. 2005 May;10(5):567-70. PubMed PMID: 15949209
- [7] **Al-Inany H, Aboulghar M.** "GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review". Human reproduction. 2002 Apr;17(4):874-85. PubMed PMID: 11925376
- [8] **Fauser BC, Devroey P.** "Why is the clinical acceptance of gonadotropin releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization so slow?" Fertility and sterility. 2005 Jun;83(6):1607-11. PubMed PMID: 15950626
- [9] **Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G.** "Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis". Human reproduction update. 2006 Nov-Dec;12(6):651-71. PubMed PMID: 16920869
- [10] **Klingmuller D, Schepke M, Enzweiler C, Bidlingmaier F.** "Hormonal responses to the new potent GnRH antagonist Cetrorelix". Acta endocrinologica. 1993 Jan;128(1):15-8. PubMed PMID: 8447189.
- [11] **Varney NR, Syrop C, Kubu CS, Struchen M, Hahn S, Franzen K.** "Neuropsychologic dysfunction in women following leuprolide acetate induction of hypoestrogenism". Journal of assisted reproduction and genetics. 1993 Jan;10(1):53-7. PubMed PMID: 8499680.

- [12] **Griesinger G, Venetis CA, Marx T, Diedrich K, Tarlatzis BC, Kolibianakis EM.** "Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* 90(4),1055–1063(2008)".
- [13] **Maheshwari A, Gibreel A, Siristatidis CS, Bhattacharya S.** "Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction". *Cochrane Database Syst. Rev.* 8,CD006919(2011)
- [14] **Jenkins J.** "The influence, development and management of functional ovarian cysts during IVF cycles". *J. Br. Fertil. Soc.* 1(2),132–136(1996)
- [15] **Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, de Ziegler D, Taieb J, Selva J, Frydman R.** "The single or dual administration of the gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix in an in vitro fertilization–embryo transfer program". *Fertil. Steril.* 62(3),468–476(1994).
- [16] **Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM.** "Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology". *Cochrane Database Syst. Rev.* 5,CD001750(2011)
- [17] **Huirne JA, Homburg R, Lambalk CB.** "Are GnRH antagonists comparable to agonists for use in IVF?" *Hum. Reprod.* 22(11),2805–2813(2007).
- [18] **Messinis I.E , Messini C.I, Dafopoulos K.** "Novel aspects of the endocrinology of the menstrual cycle", *Reproductive BioMedicine Online* 28(6), 714-722(2014)

- [19] **Fowler PA, Templeton A, Messinis I.E.** "The ovarian modulation of gonadotrophin releasing hormone – induced luteinizing hormone secretion in women", *Hum Reprod* 8(2),112-6(1993)
- [20] **Couse JF, Korach KS.** "Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us?", *Endocr Rev* 20(3), 358-417(1999)
- [21] **Karsch FJ, Cummins JT, Thomas GB, Clarke IJ.** "Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotrophin-releasing hormone in the ewe", *Biol Reprod* 36(5), 1207-1218 (1987)
- [22] **Gregg DW, Allen MC, Nett TM.** "Estradiol-induced increase in number of gonadotropin-releasing hormone receptors in cultured ovine pituitary cells.", *Biol Reprod* 43, 1032–1036(1990)
- [23] **Huang ES, Miller WL.** "Effects of Estradiol-17 β on Basal and Luteinizing Hormone Releasing Hormone-Induced Secretion of Luteinizing Hormone and Follicle Stimulating Hormone by Ovine Pituitary Cell Culture.", *Biol Reprod* 23, 124-134(1980)
- [24] **Filicori M., Butler J.P., Crowley Jr. W.F.** "Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human: evidence for pulsatile progesterone secretion.", *J Clin Invest* 73(6),1638-1647(1984).
- [25] **Gill S, Sharpless JL, Rado K, Hall JE.** "Evidence that GnRH decreases with gonadal steroid feedback but increases with age in postmenopausal women.", *J Clin Endocrinol Metab.* 87(5),2290-6(2002)
- [26] **Couzinet B, Schaison G.** "The control of gonadotrophin secretion by ovarian steroids.", *Hum Reprod* S, 97-101(1993)

- [27] **Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Smitz J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC, Devroey P.** "Elevated progesterone at initiation of stimulation is associated 142 with a lower ongoing pregnancy rate after IVF using GnRH antagonists.", *Hum Reprod*, 19(7), 1525-9(2004)
- [28] **Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP, McNeilly AS.** "Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle." *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 81(4), 1401-5(1996)
- [29] **Klein NA, Houmard BS, Hansen KR, Woodruff TK, Sluss PM, Bremner WJ, Soules MR.** "Age-related analysis of inhibin A, inhibin B, and activin a relative to the intercycle monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal ovulatory women.", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(6), 2977-81(2004).
- [30] **Gougeon A.** "Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results." , *Hum Reprod*, 1, 81-87(1986)
- [31] **Toftager M.** "Risk of severe ovarian hyperstimulation syndrome in GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol: RCT including 1050 first IVF/ICSI cycles.", *Hum Reprod*, 31(6), 1253-64(2016)
- [32] **Messinis IE, Hirsch P, Templeton AA.** "Follicle stimulating hormone stimulates the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) in vivo.", *Clin Endocrinol (Oxf)* 35,403-407(1991)

- [33] **Messinis IE, Lolis D, Papadopoulos L, Tsahalina T, Papanikolaou N, Seferiadis K, Templeton AA**, "Effect of varying concentrations of follicle stimulating hormone on the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) in women.", Clin Endocrinol (Oxf) 39,45-50(1993)
- [34] **Fowler P.A., Sorsa T., Harris W.J, Knight PG, Mason HD**. "Relationship between follicle size and gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) bioactivity during spontaneous cycles in women.", Hum Reprod, 16(7), 1353-1358(2001)
- [35] **Messinis I.E, Lolis D, Zikopoulos K, Tsahalina E, Seferiadis K, Templeton AA**. "Effect of an increase in FSH on the production of gonadotrophin-surge-attenuating factor in women." Journal of Reproduction & Fertility, 101, 689-695(1994).
- [36] **Messinis IE, Messini CI, Dafopoulos K**. "The role of gonadotropins in the follicular phase.", Ann N Y Acad Sci. 1205, 5-11(2010)
- [37] **Επίτομη Μαιευτική και Γυναικολογία 2010, Ι. Μεσσήνης**