

IVF Sikluslarında Kontrollü Ovaryan Stimülasyon

Controlled Ovarian Stimulation in IVF Cycles

Timur GÜRGAN,^a Cavidan GÜLERMAN,^b Şebnem ÖZYER^b

^aKadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, Gürkan Clinic Kadın Sağlığı ve Tüp Bebek Merkezi,

^bKadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

ÖZET

1978 yılında doğal sıklusta in vitro fertilizasyon (IVF) denemesi sonucu ilk canlı doğumun gerçekleşmesiyle yardımcı üreme tekniklerindeki (YÜT) gelişmeler hızla devam etmektedir. O günden bu yana dünyada yaklaşık 5 milyondan fazla gebelik IVF ve genel olarak YÜT olarak adlandırılan modifiye yöntemlerle elde edilmiştir. Deneyim ve beraberinde gelen başarı oranları arttıkça YÜT'ün endikasyonları da genişlemiştir. Özellikle reproduktif biyoloji, laboratuvar ve farmasötik bilimindeki ilerlemeler IVF sonuçlarında kontrollü ovaryan stimülasyonun (KOS) giderek artan önemine dikkati çekmektedir. Bireyselleştirilmiş KOS (iCOS) uygulamaları IVF sonuçlarını iyileştirecek ve daha güvenli kılacaktır. Bu derlemenin amacı da KOS'un temeli ve uygulama şekillerini gözden geçirmektir.

Anahtar Kelimeler: İn vitro fertilizasyon; kontrollü ovaryan stimülasyon; protokol

ABSTRACT

After the first live birth through a natural cycle in vitro fertilization (IVF) trial in 1978, advances in assisted reproductive techniques (ART) have been rapidly proceeded. Since then, more than 5 million pregnancies have been achieved worldwide by IVF and other modified techniques generally named as ART. As the experience and the success rates have increased, the indications for ART also expands. With the advances in reproductive biology, laboratory and pharmaceutical sciences, there is increasing attention on the importance of controlled ovarian stimulation (COS) to the IVF outcomes. Individualized COS (iCOS) practices will improve IVF outcomes and safety issues. The aim of this review is to go through the fundamentals of COS and its best practices in ART.

Key Words: In vitro fertilization; controlled ovarian stimulation; protocol

TJRMS 2017;1(1):42-53

In vitro fertilizasyon (IVF) sonrası ilk başarılı doğum, spontan ovulatuvar sıklusta tek bir oosit elde edilip tek embryo transferi yapılmasıyla sağlanmıştır. Ancak bu yöntemin başarı oranı düşüktür ve günümüzde klinisyenler çok sayıda follikülün senkron gelişimini sağlayacak ovaryan stimülasyon stratejilerinin kullanımını benimsemişlerdir. Kontrollü ovaryan stimülasyon (KOS), IVF tedavisi dahilinde overlerden en ideal sayı ve

kalitede oosit elde etmek amacı ile aynı sıklusta çok sayıda follikülün geliştirilmesidir. 1970'li yıllardaki ilk uygulamalardan itibaren KOS, IVF'in temel basamaklarından birini oluşturmaktadır. Oosit kalitesini ve canlı doğum oranlarını artırmak, düşük over rezervi olan hastalarda over yanıtını iyileştirmek ve ovaryan hiperstimülasyon riskini azaltmak amacıyla çeşitli KOS protokolleri geliştirilmiştir. Gonadotropin releasing hormon (GnRH) agonist

Geliş Tarihi/Received: 27.12.2016

Kabul Tarihi/Accepted: 15.01.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:

Cavidan GÜLERMAN

Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Ankara, TÜRKİYE/TURKEY
cgulerman@yahoo.com

Copyright © 2017 by Üreme Tıbbi Cerrahi Eğitim Araştırma ve Uygulama Vakfı

veya antagonistleri kullanılarak hipofizer down-regülasyon sağlanarak veya down-regülasyon olmadan farklı gonadotropinlerin kullanıldığı çeşitli tedavi protokolleri vardır. Her hastaya uyacak tek bir protokol olmadığından uygulanacak tedaviler kadının yaşını, over rezervini, endokrin durumunu, endometriozis, polikistik over sendromu (PKOS) ve over kisti gibi ilişkili durumları gözönüne alınarak bireyselleştirilmelidir. Ayrıca, KOS protokolü tedavi masrafları ve kadının tercihi açısından çiftlerle birlikte değerlendirilerek seçilmiştir. Bazı kadınlar daha pratik olması nedeniyle kısa protokolü tercih edebilirken, diğer bir kadın endometriozisle ilişkili ağrının kontrolü açısından ultralong protokolü denenmesini isteyebilir.

GONADOTROPİN SEÇİMİ

1970'lerde kullanılan ilk jenerasyon gonadotropinler menopozal kadınların idrarından elde edilen 1:1 oranında FSH ve LH içeren HMG'den oluşmaktaydı. 1980'lerin başlarından itibaren protein purifikasyon teknolojisindeki gelişmeler 75 IU FSH başına 1 IU'den daha az LH içeren purifiye FSH (P-FSH) ve 0.1 IU'den daha az LH içeren highly purifiye FSH (HP-FSH) gibi daha düşük konsantrasyonda kontamine protein içeren çeşitli ürünler gonadotropinlerin üretimine olanak sağlamıştır. Geçmişte yapılan sistematik derlemelerden birinde HMG ile karşılaştırıldığında P-FSH veya HP-FSH ile stimüle IVF sikluslarında siklus başına daha yüksek klinik gebelik oranları bildirilmişken daha sonraki bir derlemede bu ürünler gonadotropinlerde klinik gebelik oranları açısından fark olmadığı bildirilmiştir.^{1,2} İlerleyen zamanda rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmeler LH aktivitesiz rekombinant FSH (r-FSH) üretimine olanak sağlamıştır. Rekombinant ilaçlarla hastaya uygulanan ilaç dozunun kesin biliniyor olması ve preparatlarda ilaç partileri arası (batch-to-batch) farklılık olmaması büyük avantaj teşkil etmektedir.

Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) sikluslarında ovaryan stimülasyonda HMG ve r-FSH etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Üç derlemede r-FSH tüm ürünler gonadotropinlerle (HMG, P-FSH, HP-FSH) karşılaştırılmış ve bu iki grup arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır.³⁻

⁵ Yine başka üç derlemede r-FSH, HMG ile karşılaştırılmış ve HMG ile canlı doğum oranlarında %5, %18 ve %20 oranında rölatif artış saptanmıştır.⁶⁻⁸ 2009 yılında Baker ve ark. tarafından yapılan çok merkezli randomize çalışmada HP-FSH ve r-FSH karşılaştırılmış, ortalama oosit sayısı, klinik gebelik oranları ve canlı doğum oranları açısından iki ajan arasında fark olmadığı saptanmıştır.⁹ Daha yakın zamanda, 2012 yılındaki Cochrane derlemesinde 9606 kadını içeren 42 çalışma dahil edilmiş, IVF veya ICSI tedavi sikluslarında r-FSH'nin ovaryan stimülasyondaki etkinliği diğer ürünler gonadotropinlerle (HMG, P-FSH, HP-FSH) karşılaştırılmış, gebelik sonuçları ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) gelişimi açısından fark saptanmamıştır.¹⁰ Donmuş embryo transfer sikluslarında da r-FSH ve ürünler gonadotropinler arasında kümülatif canlı doğum ve klinik gebelik oranları açısından fark saptanmamıştır. R-FSH, HMG ve HP-HMG ile karşılaştırıldığında az bir farkla r-FSH grubunda daha düşük canlı doğum oranları saptanmıştır. Ancak, yazarlar mevcut gonadotropinlerin etkinlik ve güvenilirlik açısından eşit olduğu sonucuna varmışlardır.

Sonuç olarak, IVF/ICSI tedavi sikluslarında herhangi bir gonadotropin seçeneğinin diğerine üstünlüğünü gösteren veriler yetersizdir. KOS'da gonadotropin seçimi ürünün ulaşılabilirliğine, kullanım kolaylığına ve maliyetine göre yapılmalıdır. Tablo 1'de mevcut gonadotropin preparatları ve özellikleri gösterilmektedir.

TABLO 1: Gonadotropin preparatları ve özellikleri.

	Kaynak	İçerik	Uygulama yolu
Menotropin (Menogon, Menopur, Merional)	Üriner	FSH: LH 1:1	sc/im
Ürofollitropin (Fostimon)	Üriner	FSH	sc/im
Koryonik gonadotropin (Pregnyl)	Üriner	HCG	sc/im
Follitropin α (Gonal F)	Rekombinant	FSH	sc
Follitropin β (Puregon)	Rekombinant	FSH	sc
Lutropin α (Luveris)	Rekombinant	LH	sc
Follitropin α ve lutropin α (Pergoveris)	Rekombinant	FSH: LH	sc
Korifollitropin α (Elonva)	Rekombinant	FSH	sc
Koryonik gonadotropin α (Ovitrelle)	Rekombinant	HCG	sc

Sc: Subkütan; im: İntramusküler.

KOS'ta LH desteği açısından HMG veya HCG eklenmesi konusu tartışmalıdır. Ancak hipotalamik amenorede ve LH düzeylerinin aşırı derecede bas-kılandığı GnRH antagonist tedavilerde durumlarda mutlaka LH aktivitesi içeren bir gonadotropin seçilmelidir.¹¹

Günümüzde çoğu stimülasyon protokolu 150-300 IU/gün (standart başlama dozu çoğu hastada 225 IU/gün) gonadotropin dozu ile başlamaktadır.¹¹ Klinisyenler, kadın yaşı ve antral follikül sayımı (AFC), anti-mülleryan hormon (AMH) seviyesi ve/veya erken folliküler faz FSH ve estradiol (E2) seviyeleri gibi over rezerv testlerini kullanarak başlangıç gonadotropin dozuna karar verirler. Düşük over rezervi olduğu düşünülen veya bilinen kadınlarda 450 IU'nun üzerindeki dozlarda daha fazla oosit ve daha yüksek gebelik oranları elde edilmediğini bildiren çalışmalar mevcuttur.¹²

KOS protokolünün, gonadotropin formülasyon ve dozunun seçiminin yanısıra, KOS'ta gonadotropinlerin uygulanacağı aralık da belirlenmesi gereken konulardan biridir. Günlük tek doz ile günlük bölünmüş dozlarda gonadotropin uygulamalarına ait sonuçlar çelişkili olup bazı çalışmalar bölünmüş dozların daha iyi sonuç verdiğini, diğerleri ise günlük tek dozun daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.¹³⁻¹⁵ Bazı diğer çalışmalarda ise klinik farklılığın olmadığı sonucuna varılmıştır.¹⁶ Uzun etkili FSH 'korifollitropin alfa' nın kullanıma girmesiyle bu konudaki tartışmalar geçmişte kalacak gibi görünmektedir. Korifollitropin alfa ile yapılan ilk çalışmalar günlük r-FSH uygulamasına kıyasla daha düşük maliyetle benzer kümülatif gebelik oranları sağlandığını göstermiştir.¹⁷

GnRH AGONİST VE GnRH ANTAGONİSTLERİ

GnRH analogları GnRH reseptörleriyle etkileşen decapeptidlerdir. Aminoasit sekansındaki bazı aminoasitlerin yer değiştirmesiyle doğal hormona göre yarı ömrü ve kompetansı uzamış moleküllerdir. GnRH analog kullanımı prematür LH pikini engelleyerek, folliküler recruitmenti iyileştirerek ve elde edilen oosit sayısını artırarak siklus iptal oranlarını azaltır, KOS'u optimize eder.¹⁸ Agonistik analoglar (triptorelin, leuprorelin, gonadorelin, goserelin, nafarelin, buserelin) ve antagonistik analoglar (cetorelix, ganirelix) klinik kullanıma girmiştir. İlk baştaki kısa süreli gonadotropin hipersekresyonunu takiben GnRH agonistlerinin sürekli kullanımını hipofizde desensitizasyona ve geri dönüşümlü kimyasal hipofizektomiye neden olur. Mevcut GnRH agonistlerinin formülasyonları, dozları ve uygulama şekilleri Tablo 2'de belirtilmiştir. GnRH antagonistleri ise GnRH reseptörlerine kompetitif bağlanarak (kompetitif antagonizma) gonadotropin sekresyonunda ani, hızlı ve geri dönüşümlü supresyona neden olurlar. Piyasada bulunan antagonistler ganirelix ve cetorelix, eşit etkinlikte ajanlar olup, standart kullanım dozları günlük 0,25 mg'dır. Ganirelix ile maksimum etkinlik 4 st içinde sağlanırken, yarı ömrü 13 st'tir. Cetorelix ise 8 st içinde maksimum etkinlik sağlar, yarı ömrü 36 st'tir. Antagonistler, ani ve doza bağlı supresif etkileri ile YÜT sikluslarında agonistlere bir alternatif seçenek sunmaktadır. Akut supresif etkilerinden dolayı GnRH antagonistleri prematür LH pikini engellemek amacıyla tedavi siklusunda folliküler fazın herhangi bir zamanında başlanabilir.

TABLO 2: GnRH agonistleri, formülasyonları, dozları ve uygulama şekilleri.

GnRH agonisti	Formülasyonu	Dozu	Uygulama yolu
Gonadorelin (LH-RH)	Kısa etkili	2,5-5 mcg	Pump, sc, iv
Triptorelin (Decapeptyl, Gonapeptyl)	Kısa etkili, depot	0,1-3,75 mg	Sc, im
Nafarelin (Synarel)	Kısa etkili	0,2-0,6 mg	inhalasyon
Buserelin (Suprecur,Suprefact)	Kısa etkili	0,2-0,5 mg	İnhalasyon, sc
Leuprolid (Lucrin, Lupron)	Kısa etkili, depot	0,5 mg, 3,75-15 mg	sc
Goserelin (Zoladex)	Depot	3,6 mg-10,8 mg	İmplant, sc

Sc: Subkütan; im: İntramusküler.

LH EKLENMESİ

İki hücre-iki gonadotropin hipotezine göre gonadotropin eksikliği olan anovuluar kadınlarda ovaryan steroidogenez için FSH ve LH gereklidir. Folliküler faz boyunca yeterli folliküler E2 üretimi, oosit maturasyonunun tamamlanması ve endometriumda gelişimin sağlanması için LH suplementasyonu ihtiyaç vardır. Ancak normogonadotropik kadınlarda ovaryan stimülasyon için LH gerekliliği tartışmalıdır. FSH ile stimüle sikluslarda LH suplementasyonu follikül gelişimi artırması ve böylece tedavi süresini kısaltması açısından avantaj sunabilir.¹⁹ Ovaryan stimülasyonda ortamda gonadotropinlerin FSH'dan LH'ya değişmesinin daha homojen bir follikül kohortunun gelişmesinde faydalı olduğu görüşü vardır.^{20,21} Ancak aksi görüşler LH suplementasyonunun ek bir fayda getirmediğini bildirmişlerdir.²² Bazı yazarlar tarafından optimal follikül gelişimi için bir LH penceresi (treshold ve tavan seviyeleri arasında terapötik pencere) olduğunu, treshold seviyenin altındaki değerlerde E2 üretiminin yetersiz olduğunu, tavan değerini üzerindeki değerlerde ise LH'nın follikül gelişimine olumsuz etkisi olduğu öne sürülmüştür.²³

Son yıllarda FSH yanısıra LH eklenmesinin siklus sonucuna faydasını araştıran çalışmalar yapılmıştır. Bir Cochrane derlemesine IVF/ICSI sikluslarında uygulanan KOS'da etkinlik açısından r-LH ve r-FSH kombinasyonu sadece r-FSH ile karşılaştıran 14 randomize kontrollü çalışma dahil edilmiştir.²⁴ R-LH eklendiğinde gebelik sonuçları açısından istatistiksel fark saptanmamıştır. Ancak çalışmanın küçük boyutlu olması nedeniyle net sonuca varılamamıştır. GnRH agonist çalışmalarına bakıldığında canlı doğum oranlarını bildiren iki çalışma tamamen farklı sonuçlar bulmuştur. Çalışmaların birinde r-LH eklenmesinin faydalı etkisi olduğu bulunmuşken diğer çalışma tek başına r-FSH tedavisini desteklemektedir.^{25,26} Sonuç olarak mevcut data canlı doğum oranlarında anlamlı fark olmadığı yönündedir. Ancak sadece poor responder kadınları içeren çalışmalarda r-LH eklenmesiyle gebelik oranlarında anlamlı artış olduğunu göstermiştir.^{25,27} Yine 2011 yılında Bosch ve ark.nın GnRH antagonist protokol uygulanan olgular üze-

rinde yaptıkları çalışmada 36-39 yaş grubundaki olgularda r-LH eklenmesinin implantasyon oranını ve devam eden gebelik oranlarını artırdığı, 36 yaşın altındaki olguların LH desteğinden fayda görmediklerini bildirmişlerdir.²⁸

Sonuç olarak, KOS'ta seçilmemiş olgularda r-LH eklenmesinin faydası olmadığı görülmektedir. Ancak, ovaryan stimülasyona kötü yanıt olanlarda ve 35 yaş üstü kadınlarda muhtemel faydası olabilir.

TEDAVİ PROTOKOLLERİ

GnRH agonist veya antagonist kullanımına bağlı olarak IVF protokolleri agonist ve antagonist protokoller olarak adlandırılır. Farklı bir protokol de gonadotropinlerle birlikte klomifen sitratın (CC) kullanıldığı minimal stimülasyon protokolüdür. Protokollerde farklı terminolojiler kullanılsa da temel unsurları aynıdır.

'Uzun protokoller'de GnRH agonist, GnRH antagonist veya oral kontraseptif ajanlar IVF siklusundan önceki menstrüel siklusa başlar. Genellikle uzun protokollerde maliyet nedeniyle GnRH agonistleri, antagonistlere tercih edilir. Tedaviye spontan menstrüel siklusa başlanan rejimler 'kısa protokoller' olarak adlandırılır. Kısa protokollerde ise genellikle GnRH antagonistleri tercih edilir.

KOS'ta bu bölümdeki tedavi protokolleri;

A) Doğal siklusa IVF

B) GnRH agonist protokoller

Standart long protokol

Oral kontraseptifler ile kombine long protokol

Ultralong protokol

Short protokol

Ultrashort protokol

Mikro doz flare protokol

GnRH agonist stop protokol

C. GnRH antagonist protokoller

Fiks uygulama

Fleksibl uygulama

Tek doz uygulama

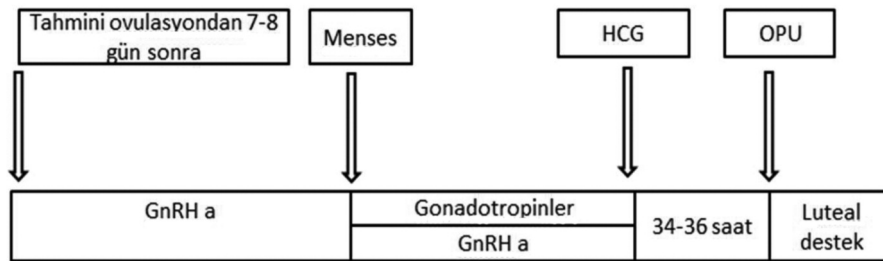
D. Minimal stimülasyon protokolü

Doğal sıklusta IVF uygulamaları: Ekzojen gonadotropinler kullanılmadan siklusun doğal seyirinde takip edilerek gelişen tek oositin mid-siklus LH piki olmadan önce toplanması amaçlanır. Basit olması, ilaç gereksinimi olmaması ve maliyetinin az olması, sadece monitorizasyon yapılması, çoğul gebelik ve OHSS gibi komplikasyonları getirmemesi ve her ay uygulanabilir olması doğal siklus uygulamalarının avantajlarıdır. Özellikle poor responder olgularda, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olanlarda ve over stimülasyonunun kontrendike olduğu durumlarda faydalı olabileceği bildirilmiştir.²⁹ Ancak anormal follikülogenez, prematür LH piki ve spontan ovulasyon, fertilizasyon başarısızlığı ve kötü embryo kalitesi gibi nedenlere bağlı siklus iptal oranları yüksektir (yaklaşık %30). Bu durumun önüne geçmek için follikül boyutu 14 mm'ye ulaştıktan itibaren GnRH antagonist kullanımı ve gonadotropinlerin eklenmesi (add-back tedavi) ile yeterli follikül boyutuna ulaşıldığında ekzojen HCG uygulaması gündeme gelmiştir. Ancak siklus başına gebelik oranları halen düşük olup yaklaşık %7 civarındadır.

Standart long protokol: Bu tedavi protokolünde GnRH agoniste IVF siklusundan önceki siklusun midluteal döneminde başlanır, günlük uygulanır (Şekil 1). Siklus kontrolü sağlamak amacıyla hipofizer endojen gonadotropin üretimi baskılanır. Endojen gonadotropinlerin baskılanması, önceki siklusun geç luteal döneminde başlayan ve sonraki sıklusta gelişecek olan dominant follikülün seçimini sağlayan erken FSH yükselmesinin engellenmesini sağlar. Böylece dominant follikül seçimi gecikir, stimülasyonla birlikte senkronize follikül kohort gelişimi sağlanır. Ayrıca endojen gonadotropinlerin baskılanması ile erken ve kontrolsüz en-

dojen LH pikinin önlenmesi sağlanır. Böylece prematür luteinizasyon ve ovulasyon riski azalır. ABD'de sıklıkla 0,5-1 mg/gün (minidoz) subkutan leuprolid asetat kullanılır, alternatif olarak daha yüksek dozlarda tek doz depo enjeksiyon da uygulanabilir.³⁰ GnRH agonistine IVF siklusundan önceki siklusun 21. gününde veya tahmini ovulasyondan 1 hafta sonra başlanır. Bu dönemde endojen gonadotropin seviyeleri düşüktür, GnRH agonistlerinin neden olacağı erken flare etki de en az olacaktır. GnRH agonistinin etkisiyle ilerleyen günlerde endojen E2 ve progesteronun baskılanması sonucu vajinal kanama oluşur. Kanamanın 3. günü veya agonistin 14. günü serum E2 ölçümü yapılır. Down-regülasyon serum E2 seviyesinin <30 pg/ml olmasıyla ve 10 mm'den daha büyük follikül saptanmamasıyla teyid edilir. GnRH agonist IVF siklusundan önceki siklusun luteal fazında başlanmasıyla agonistin ilk flare etkisi düşük endojen progesteron ve E2 seviyeleri ile en aza indirilir. İkinci bir seçenek olarak da IVF siklusundan önce oral kontraseptif ajan kullanılabilir. GnRH agonistlerinin ilk flare etkisi yaklaşık 5-7 gün sürer, sonrasında agonistin baskılayıcı etkisi görülür.

Eğer hipofiz supresyonu yetersizse GnRH agonist kullanımı 5-7 günlük sürelerle uzatılabilir veya dozu artırılabilir. Bazen agonistin flare etkisi sonucu %2-40 hastada overde basit follikül kistleri görülebilir. Üç cm'den küçük kistlerde supresyon da sağlanmışsa ovulasyon indüksiyonuna başlanabilir. Supresyon sağlanamamışsa agonistin süresi uzatılır. Üç cm'den büyük kistlerde GnRH agonistin 7-10 gün süreyle uzatılmasına rağmen kist boyutunda küçülme sağlanmazsa kist transvajinal yolla aspire edilir, agonist 1 hafta süreyle uzatılabilir.



ŞEKİL 1: Standart long protokol.

“Stimülasyona genellikle 150-225-300 IU/gün dozunda subkutan uygulanan gonadotropinlerle başlanır, GnRH agoniste prematür LH pikini önlemek amacıyla daha düşük idame dozuyla devam edilir. Gonadotropin dozu transvajinal ultrasonografi ve serum E2 seviyelerinin ölçümü (granulosa hücre proliferasyonu göstergesi) ile takip edilen folliküler gelişime göre ayarlanır. ‘Step down’ protokolünde gonadotropin başlangıç dozu yüksek olup cevaba göre doz kademeli olarak düşürülürken ‘step up’ protokolünde düşük başlangıç dozunu takiben doz cevaba göre kademeli olarak artırılır.

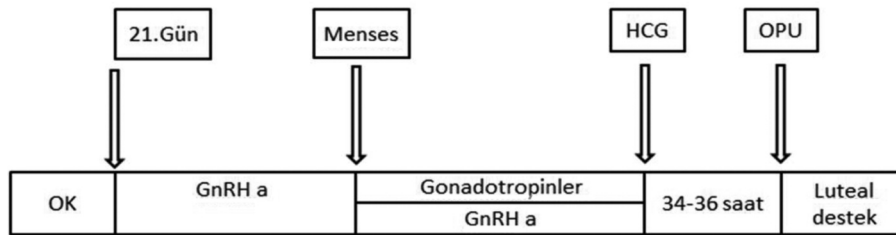
Yedi randomize çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde uzun protokol uygulanan IVF/ICSI sikluslarında HMG ile r-FSH’nın etkinliği karşılaştırılmıştır.⁷ HMG ile canlı doğum oranları anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak spontan abortus, çoğul gebelik, siklus iptali ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) oranları açısından fark bulunmamıştır. Ancak hasta seçimi ile ilgili farklılıklar ve IVF sonucunu etkileyen diğer pek çok faktör nedeniyle HMG veya r-FSH seçimi konusu halen tartışmalıdır ve herhangi bir stimülasyon şeklinin diğerine üstünlüğü henüz net değildir.

GnRH agonist uzun protokollerin başlıca yan etkileri arasında uzun tedavi süresi, daha fazla gonadotropin ihtiyacı, over kist oluşumu ve menopozal semptomların (sıcak basmaları, vajinal kuruluk gibi) görülmesidir.³¹ Overler üzerinde baskının azaltılarak gonadotropin ihtiyacının azaltılması amacıyla kullanılan GnRH agonist dozu düşürülmüş ve minidoz şeklindeki GnRH agonist kullanımları gündeme gelmiştir. Günümüzde tercih edilen doz minidoz şeklinde olmuştur. Ultraminidoz agonistler ise overi baskılamamakta ancak gonadotropinlerin başlanmasıyla doz yetersiz kalmakta ve

prematür luteinizasyon ve ovulasyon ihtimali arttığından tercih edilmemektedir.

Oral kontraseptifler (OK) ile kombine long protokol: Öncesinde OK’ların eklendiği uzun protokolda GnRH agonistleri ile gelişen over kistlerinin etkin şekilde önlenebildiği gösterilmiştir.³² Ayrıca OK’ların eklenmesiyle hipofizin daha kısa sürede baskılandığı ve elde edilen oosit sayısı ve gebelik sonuçları etkilenmeden daha az gonadotropine ihtiyaç duyulduğu da bilinmektedir.³² Ayrıca IVF tedavisinin programlanabilmesini sağlaması ve spontan gebelik oluşması halinde istemeden GnRH agonist kullanımının önüne geçmesi açısından avantajlıdır. Şekil 2’de OK ile kombine long protokol gösterilmektedir.

GnRH antagonist sikluslarında FSH başlangıcı siklus bağımlıdır. Genellikle menstrüel siklusun 2. veya 3. günü başlanıp tedavinin programlanmasını zorlaştırmaktadır. Steroid hormon tedavisinin bir avantajı çekilme kanamasının hastaya ve tedavinin uygulandığı merkezin koşullarına uygun bir zamana göre ayarlanabilmesidir. Ancak GnRH antagonist sikluslarında tedavinin OK ile kombine edilmesini ve edilmemesini karşılaştıran 6 randomize çalışmadan elde edilen verilerden OK kullanılan sikluslarda devam eden gebelik oranının daha düşük, over stimülasyonunun daha uzun ve kullanılan gonadotropin dozunun daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.³³ OK kullanılan grupta elde edilen oosit sayısı ise daha yüksek bulunmuştur.³⁴ Bu veriler OK’ların GnRH antagonistleriyle olumsuz etkileşimi olduğunu göstermektedir. OK eklenmesiyle gebelik oranlarındaki düşmenin nedeni ise net değildir. Sonuç olarak IVF sonuçlarını olumsuz yönde etkileyebileceğinden GnRH antagonist sikluslarında öncesinde OK kullanımı önerilmemektedir.



ŞEKİL 2: Oral kontraseptifler (OK) ile kombine long protokol.

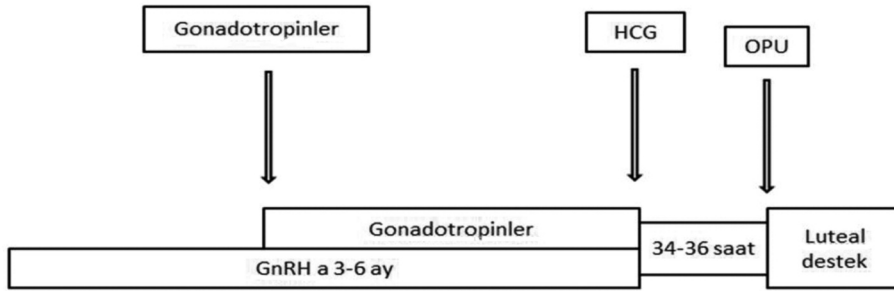
Ultralong protokol: GnRH agonisti kullanımına gonadotropin stimülasyonuna başlamadan 3 ay öncesinde başlanır (Şekil 3). İleri evre endometriozis olguları için önerilen bir uygulama şeklidir. Sallam ve ark tarafından yapılan Cochrane derlemesi ve meta-analizinde endometriozisli olgularda IVF veya ICSI öncesi 3-6 süreyle GnRH agonist kullanımının gebelik oranlarını 4 kat artırdığı bildirilmiştir.³⁵

Short protokol: Önceki siklusun midluteal döneminde GnRH agonisti kullanılmaksızın menstrüel siklusun başlangıcı ile indüksiyona başlanır. Uzun süreli kullanımının getirdiği baskılamadan kaçınılarak GnRH agonistinin hipofiz üzerindeki erken agonistik flare etkisinden stimülasyonda faydalanılır. Over rezervi düşük olan ya da stimülasyona yanıtı zayıf olan hastalarda kullanılabilir. Siklusun 1-2. günü GnRH agonisti başlanır, siklusun 3. günü ise gonadotropinlerle stimülasyona

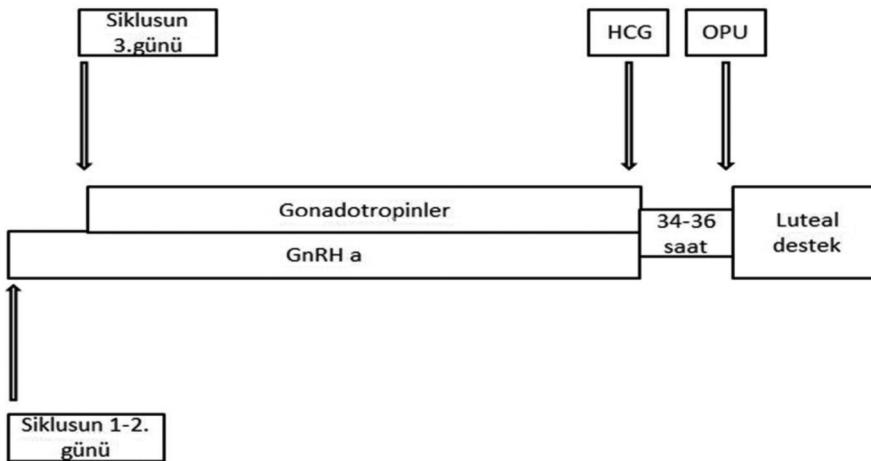
başlanır. Her ikisine de ovulasyonun tetiklendiği güne dek devam edilir (Şekil 4).

Ultrashort protokol: Short protokolün bir modifikasyonu olan bu protokolde daha kısa süreli GnRH agonisti (3-7 gün) kullanılmaktadır (Şekil 5).

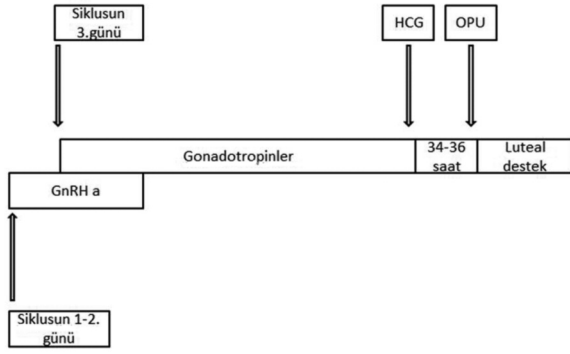
Mikrodoz protokolü: Kötü over rezervli ya da stimülasyona yanıtı zayıf olan olgularda hem GnRH agonistinin flare etkisinden faydalanılabilecek hem de prematür luteinizasyon riskini en aza indirecek bir protokol olarak geliştirilmiştir. Bu protokolde önceki siklusta OK kullanılır, son haftan 3-5 gün sonra 2 gün süreyle GnRH agonisti eg. 2 x 40 mcg leuprolid asetat kullanılır. Üçüncü günden itibaren yüksek doz gonadotropinler eklenir. Leuprolid asetat kullanımına ovulasyon tetiklenmeye dek devam edilir (Şekil 6). Stimülasyonun 5. günü down regülasyon gerçekleşinceye kadar geçen sürede GnRH agonisti büyüyen follikülleri



ŞEKİL 3: Ultralong protokol.



ŞEKİL 4: Short protokol.

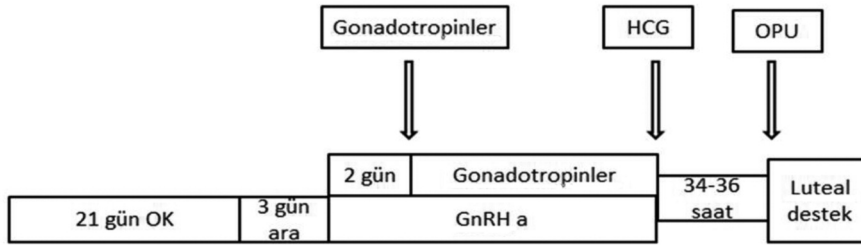


ŞEKİL 5: Ultrashort protokol.

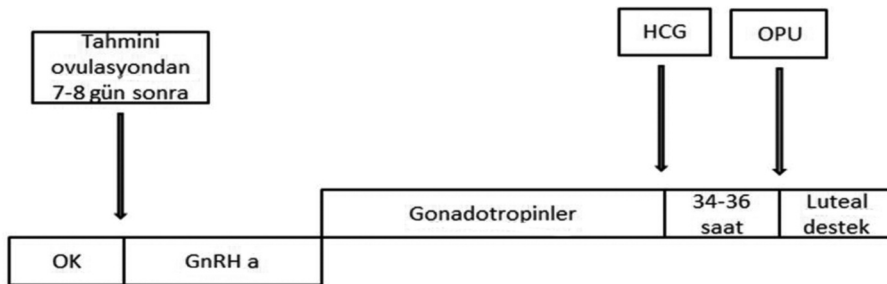
stimüle ederken ilerleyen zamanda prematür LH pikini engeller.

GnRH agonist stop protokolü: Rölatif olarak daha düşük doz GnRH agonisti önceki siklusun midluteal döneminde başlanıp mensle birlikte kesilir. Sonrasında yüksek doz gonadotropinlerle stimülasyona devam edilir (Şekil 7). Ovaryan supresyon daha az olup stimülasyona over cevabı artmaktadır. Bu protokolde zamansız LH yükselmesinin halen daha düşük olduğu söylenmektedir.^{36,37}

GnRH antagonist protokolü: GnRH antagonistleri agonistlerden daha hızlı şekilde hipofizer desensitizasyon sağlarlar. Hızlıca kompetitif antagonizma ile GnRH reseptörlerine bağlanıp bloke ederler ve bu etkileri 8 saat içinde geri döner. GnRH antagonist kullanıldığında agonist ile bir ön tedaviye gerek yoktur. Stimülasyona menstrüel sıklusta başlanır, folliküllerin 14 mm'ye ulaşması, prematür ovulasyon riski ve siklus iptali riskiyle karşı karşıya kalınmasıyla antagoniste başlanır (fleksibl uygulama). Alternatif bir uygulama ise GnRH antagonistinin spesifik bir günde-genellikle 6. günbaşlanması şeklindedir (fiks uygulama). HCG günü de dahil olmak üzere ovulasyonun tetiklenmesine dek günlük 0,25 mg (cetorelix veya ganirelix) enjeksiyonlar şeklinde uygulanır. Bu uygulama şekli ve dozuyla Huirne ve Lambalk 155 hastanın sadece birinde prematür LH piki bildirmişlerdir.³⁸ AlInany ve ark. fiks ve fleksibl protokolleri karşılaştırdığı meta-analizde gebelik oranları açısından iki uygulama arasında fark olmadığını ancak fleksibl yöntemde kullanılan FSH dozunun anlamlı şekilde düşük olduğunu bildirmişlerdir.³⁹ Yine Kolibianakis ve ark.nın yaptığı bir çalışmada fleksibl uygulama



ŞEKİL 6: Mikrodoz protokolü.



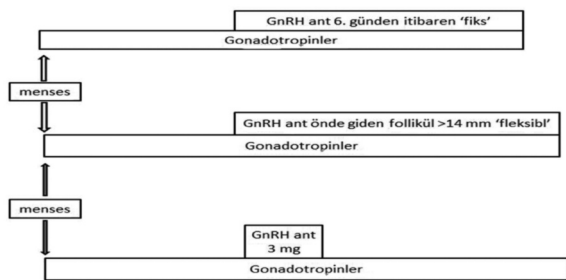
ŞEKİL 7: GnRH agonist stop protokolü.

manın IVF sonuçları açısından fiiks uygulamaya üstün olmadığı gösterilmiştir.⁴⁰ Bir meta-analizde ise uzun GnRH agonist protokolüyle karşılaştırıldığında GnRH antagonist protokol ile canlı doğum oranları etkilenmeden OHSS riskinin yaklaşık %40 oranında azaldığını bildirilmiştir.⁴¹ Antagonist protokollerde farklı bir uygulama da stimülasyonun 7. ya da 8. günü tek doz 3 mg GnRH antagonist uygulanmasıdır. Antagonist protokolün farklı uygulama şekilleri Şekil 8'de gösterilmiştir.

Minimal stimülasyon protokolü: CC bir estrogen reseptör modülatörü olup E2'nin kompetitif inhibitörüdür. Bu tedavinin en önemli dezavantajı CC'nin anti-estrogenik özelliğidir. Ancak sonradan bu anti-estrogenik özelliğin prematür LH pikini suprese edebileceği farkedilmiştir. Minimal stimülasyon protokolü CC'nin HMG ile birlikte kullanıldığı bir tedavidir. Bu tedavide CC, LH seviyesinin yükselmesine bağlı olarak 6. Gün veya daha öncesinde başlanır, HCG gününe kadar devam edilir. Takiben oosit aspirasyonu yapılır.

Bazı klomifen rezistan kadınlarda alternatif olarak bir aromataz inhibitörü olan letrozol kullanılır. Letrozol 2.5 mg şeklinde menstruasyonun 2. veya 3. gününde başlanır, 5 gün boyunca gonadotropinlerle birlikte devam edilir. Ancak letrozol metastatik meme kanserinin tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir ve halen ovulasyon indüksiyonunda kullanımı için onayı yoktur.

Sistemik bir derlemede CC/gonadotropin protokolünün rutin IVF pratiğinde kullanımı ile ilgili yeterli kanıt olmadığını bildirilmiştir.⁴² Ancak CC ya da letrozolün kullanıldığı tedaviler poor responder olgularda faydalı olabilir.⁴³



ŞEKİL 8: GnRH antagonist protokolü.

GnRH AGONİST VS ANTAGONİST PROTOKOLLER

GnRH agonist ve antagonist tedavi protokollerini karşılaştıran çok sayıda çalışma ve meta-analiz vardır. 2001 yılında yayınlanmış olan Cochrane derlemesinde o dönem yeni uygulanan fiiks GnRH antagonist protokol ile standart GnRH agonist long protokol karşılaştırılmış, şiddetli OHSS insidansında anlamlı düşüş saptanmış olmakla birlikte antagonist protokolda daha düşük gebelik oranları bildirilmiştir.⁴⁴ Bu derlemenin 2006 yılındaki güncellemesinde 27 randomize kontrollü çalışma (RKÇ) dahil edilmiş ve benzer şekilde antagonist kullanımı ile OHSS insidansında azalma olduğu ancak gebelik oranlarının agonistle karşılaştırıldığında daha düşük olduğu saptanmıştır.⁴⁵ 2011 yılında GnRH antagonist ve agonist protokollerinin karşılaştırıldığı Cochrane meta-analizinde ise iki protokol arasında canlı doğum ve devam eden gebelik oranları açısından fark olmadığı bildirilmiştir.⁴ Bu meta-analizin 2016 yılında güncellenmiş derlemesinde 73 RKÇ dahil edilmiş ve canlı doğum oranları arasında fark saptanmamıştır (OR 1.02, 95% CI 0.85 to 1.23). Öte yandan her şiddette OHSS insidansının GnRH antagonist protokollerde daha düşük olduğu bildirilmiştir (OR 0.61, 95% C 0.51 to 0.72). Ancak kötü over yanıtı nedeniyle siklus iptalinin GnRH antagonist alan olgularda agonist alanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (OR 1.32, 95% CI 1.06 to 1.65).⁴¹ Benzer şekilde Xiao JS ve ark.nın beklenen normoresponder hastalarda standart long agonist ve antagonist protokollerin karşılaştırıldığı 23 RKÇ dahil edildiği sistemik bir derlemede antagonist sikluslarda OHSS insidansının anlamlı şekilde düşük olduğu ancak devam eden gebelik ve canlı doğum oranları arasında fark olmadığı saptanmıştır.⁴⁶ Beden kitle indeksinin (BKİ) GnRH agonist ve antagonist protokollerde IVF sonuçlarına etkisini değerlendiren bir çalışmada BKİ normal olan (BKİ <25 kg/m²) olgularda GnRH agonist protokollerin daha yüksek gebelik oranları sağladığı, BKİ yüksek olan (BKİ >25 kg/m²) olgularda her iki protokolün benzer sonuçlar verdiği bulunmuştur.⁴⁷ Bu çalışmada BKİ'nin tedavi protokolünü ve başlangıç gonadotropin dozunu belirlemede önemli olduğu belirtilmiştir.

GnRH antagonist protokollerde özellikle PKOS olgularında orta ve şiddetli OHSS'yi önlediğini bildiren çalışmaların aksine bir diğer meta-analiz şiddetli OHSS açısından agonist ve antagonist protokoller arasında fark olmadığını, orta ve şiddetli OHSS olguları birlikte değerlendirildiğinde antagonist tedavilerin OHSS riskinde azalma ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Bu yazıda GnRH antagonist protokollerin OHSS'yi önlediği ile ilgili datanın yetersiz olduğu, standardize edilmiş OHSS tanım, klasifikasyon ve tanı ile daha geniş çalışma gruplarında yapılmış araştırmalara ihtiyaç duyulduğu görüşünü bildirmişlerdir.⁴⁸ GnRH antagonist protokoller OHSS insidansında bir azalma sağlasa da ovulasyonun tetiklenmesi HCG ile yapıldığında halen bir OHSS riski vardır. HCG granuloza hücrelerinde artmış VEGF ekspresyonu ile artmış vasküler permeabilite ve artmış sıvı geçişine neden olmaktadır. GnRH agonist trigger ile riskli olgularda OHSS'nin önlenebileceği fikri GnRH antagonist protokollerin kullanımından önce öne sürülmüştür, ancak GnRH antagonist protokollerin kullanıma girmesi ile yerini bulmuştur. Prematür LH pikini önlemek amacıyla GnRH antagonistlerinin kullanılmaya başlanmasıyla final oosit maturasyonu ve ovulasyon için HCG'ye alternatif olarak GnRH agonisti uygulamak mümkün hale gelmiştir. GnRH agonistinin reseptör düzeyinde antagonistin yerine geçmesiyle reseptör aktive olacak ve gonadotropin salınımı olacaktır (flare etki).⁴⁹

OVULASYONUN TETİKLENMESİ

Ovaryan folliküllerin matür olduğu düşünüldüğünde (18 mm ve üzeri 2 ve üzeri follikül olduğunda, follikül başına 200 pg/ml E2 seviyesi varlığında) ovulatuar kaskadı başlatmak için trigger ajanlar uygulanır.

- HCG (üriner/recombinant)
- R-LH
- GnRH agonistleri
- Dual trigger (OPU'dan 35-37 saat öncesi GnRH agonist+HCG eş zamanlı)

Hem LH hem de HCG'nin LH/HCG reseptörlerine bağlanıp aktive etmesi nedeniyle KOS'ta en-

dojen LH yerine oosit maturasyonunu sağlamak amacıyla bolus HCG kullanılmaktadır. Piyasada HCG'nin üriner ve rekombinant preparatları mevcuttur. Yakın zamanda yayınlanan rekombinant ve üriner HCG'nin karşılaştırıldığı bir Cochrane meta-analizinde canlı doğum ve devam eden gebelik oranları açısından iki ajan arasında fark olmadığı bildirilmiştir.⁵⁰ Ancak HCG'nin yarı ömrünün (günler) endojen LH'dan (saatler) çok daha uzundur. Bu nedenle bolus HCG enjeksiyonu uzun süreli luteotropik etki sonucu çok sayıda korpus luteum oluşumuyla birlikte OHSS gelişimine yol açabilir.

Daha kısa yarı ömrü olan r-LH'nın üriner HCG ile karşılaştırıldığı bir çalışmada tek doz r-LH'nın (15.000-30.000 IU) final oosit maturasyonunu sağlamada HCG kadar etkin olduğu, HCG ile karşılaştırıldığında OHSS insidansında anlamlı azalma sağladığını gösterilmiştir.⁵¹

GnRH agonistleri HCG'ye alternatif olan ve giderek popülaritesi artan ovulasyon tetikleyici ajanlardır. GnRH agonist, reseptör düzeyinde antagonist ile yer değiştirerek reseptörü uyarır, flare-up etki ile gonadotropin salınımını artırır. Bu nedenle GnRH agonistler genellikle antagonist protokollerde ovulasyonu tetiklemek amacıyla kullanılır. Ancak GnRH agonist ile salınan gonadotropin miktarı doğal siklusla karşılaştırıldığında daha düşük seviyelerdedir. ABD'de genellikle leuprolid asetat 1-4 mg dozda tek enjeksiyon yada 12 saat ara ile 2 doz şeklinde kullanılır.⁵² 2014 yılındaki bir Cochrane meta-analizinde GnRH agonistleri ile ovulasyonun tetiklenmesi HCG ile karşılaştırıldığında OHSS insidansında azalma ile birlikte daha düşük gebelik ve canlı doğum oranları ile ilişkili bulunmuştur.⁵³

OPU işleminden 35-37 saat öncesinde eş zamanlı olarak standart doz HCG'ye ek olarak GnRH agonist uygulanması 'dual trigger' olarak adlandırılmaktadır. Lin ve ark. tarafından yapılan çalışmada GnRH antagonist protokol uygulanan normoresponder hasta grubunda sadece HCG ile karşılaştırıldığında dual trigger ile ovulasyonun tetiklenmesi implantasyon, klinik gebelik ve canlı doğum oranlarını artırdığı bildirilmiştir.⁵⁴

Son zamanlarda empty follükül sendromu olgusunda önerilen GnRH agonist ve HCG'nin sırayla OPU'dan 40 saat ve 34 saat öncesinde uygulanması olarak tanımlanan 'double trigger' tanımlanmıştır.⁵⁵ Bu yöntemin iki avantajı vardır: 1- ovulasyon tetiklenmesi ve OPU arasındaki süreyi uzatması, 2-GnRH agonist ile eş zamanlı FSH piki-nin sağlanması.⁵⁶ Yazarlar bu uygulamanın granuloza hücre fonksiyonlarındaki, oosit mayotik matürasyondaki ve kumulus ekspansiyonundaki

bozuklukların üstesinden geleceğini vurgulamışlardır.

SONUÇ

Bu derleme mevcut literatür ışığında IVF tedavilerinde kullanılan KOS protokollerinin temellerini, uygulama şekillerini ve etkinliklerini özetlemektedir. Tüm protokoller belli bir kar-zarar dengesine sahiptir. Tedavi protokolleri hastaya özgü olarak bireyselleştirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Daya S, Gunby J, Hughes EG, Collins JA, Sagle MA. Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1995;64(2):347-54.
2. Agrawal R, Holmes J, Jacobs HS. Follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2000;73(2):338-43.
3. Larizgoitia I, Estrada MD, Garcia-Altes A. Recombinant FSH as adjuvant in assisted reproduction: some data on the efficacy and efficiency of recombinant FSH, urinary FSH. *Catalan Agency for Health Technology Assessment and Research (CATHA)*, 1-16.
4. 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* 2011; 11(5):CD001750.
5. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. Fertility: assesment and management for people with fertility problems. *Clinical guideline*. 2004. London, UK: RCOG press.
6. van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PM, van der Veen F. Effectiveness of human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2003;80(5):1086-93.
7. Coomarasamy A, Afnan M, Cheema D, van der Veen F, Bossuyt PM, van Wely M. Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2008;23(2):310-5.
8. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Efficacy and safety of human menopausal gonadotrophins versus recombinant FSH: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2008;16(1):81-8.
9. Baker VL, Fujimoto VY, Kettel LM, Adamson GD, Hoehler F, Jones CE, Soules MR. Clinical efficacy of highly purified urinary FSH versus recombinant FSH in volunteers undergoing controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization: a randomized, multicenter, investigator-blind trial. *Fertil Steril* 2009;91(4):1005-11.
10. van Wely M, Kwan I, Burt AL, Thomas J, Vail A, Van der Veen F, Al-Inany HG. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *A Cochrane review*. *Hum Reprod Update* 2012;18(2):111.
11. Jungheim ES, Meyer MF, Broughton DE. Best practices for controlled ovarian stimulation in in vitro fertilization. *Semin Reprod Med* 2015;33(2):77-82.
12. Berkkanoglu M, Ozgur K. What is the optimum maximal gonadotropin dosage used in micro-dose flare-up cycles in poor responders? *Fertil Steril* 2010;94(2):662-5.
13. Awwad JT1, Farra C, Mitri F, Abdallah MA, Jaoudeh MA, Ghazeeri G. Split daily recombinant human LH dose in hypogonadotrophic hypogonadism: a nonrandomized controlled pilot study. *Reprod Biomed Online* 2013; 26(1):88-92.
14. Fox JH, Jackson KV, Rein MS, Hornstein MD, Clarke RN, Friedman AJ. A randomized clinical trial to evaluate the clinical effects of split-versus single-dose human menopausal gonadotropins in an assisted reproductive technology program. *Fertil Steril* 1996;65(3): 598-602.
15. Sharara FI1, Collins MG, Abdo G. Decreased gonadotropin requirements in once daily compared to twice daily administration: a prospective, randomized study. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(4):321-4.
16. Dahan MH, Lathi RB. Twice-daily dosing of gonadotropins does not improve embryo quality during in vitro fertilization cycles in women with polycystic ovary syndrome, when compared to once-daily dosing: a pilot study. *Arch Gynecol Obstet* 2014;289(5):1113-8.
17. Devroey P, Boostanfar R, Koper NP, Man-naerts BM, Ijzerman-Boon PC, Fauser BC; ENGAGE Investigators. A double-blind, non-inferiority RCT comparing corifollitropin alfa and recombinant FSH during the first seven days of ovarian stimulation using a GnRH antagonist protocol. *Hum Reprod* 2009;24(12): 3063-72. doi: 10.1093/humrep/dep291. Erratum in: *Hum Reprod* 2014;29(5):1116-20.
18. Nardo LG, Bosch E, Lambalk CB, Gelbaya TA. Controlled ovarian hyperstimulation regimens: a review of the available evidence for clinical practice. Produced on behalf of the BFS Policy and Practice Committee. *Hum Fertil (Camb)* 2013;16(3):144-50.
19. Filicori M, Cognigni GE, Taraborrelli S, Spetoli D, Ciampaglia W, de Fatis CT. Low-dose human chorionic gonadotropin therapy can improve sensitivity to exogenous follicle-stimulating hormone in patients with secondary amenorrhea. *Fertil Steril* 1999;72(6):1118-20.
20. Sullivan MW, Stewart-Akers A, Krasnow JS, Berga SL, Zeleznik AJ. Ovarian responses in women to recombinant follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone (LH): a role for LH in the final stages of follicular maturation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(1):228-32.
21. Filicori M, Cognigni GE, Samara A, Melappioni S, Perri T, Cantelli B, Parmegiani L, Pelusi G, DeAloysio D. The use of LH activity to drive folliculogenesis: exploring uncharted territories in ovulation induction. *Hum Reprod Update* 2002;8(6):543-57.
22. Balasch J, Vidal E, Peñarrubia J, Casamitjana R, Carmona F, Creus M, Fábregues F, Vanrell JA. Suppression of LH during ovarian stimulation: analysing threshold values and effects on ovarian response and the outcome of assisted reproduction in down-regulated women stimulated with recombinant FSH. *Hum Reprod* 2001;16(8):1636-43.

23. Shoham Z. The clinical therapeutic window for luteinizing hormone in controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2002;77(6):1170-7.
24. Mochtar MH, Van der Veen, Ziech M, van Wely M. Recombinant Luteinizing Hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;18(2):CD005070.
25. Ferraretti AP, Gianaroli L, Magli MC, D'angelo A, Farfalli V, Montanaro N. Exogenous luteinizing hormone in controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction techniques. *Fertil Steril* 2004;82(6):1521-6.
26. Tarlatzis B, Tavmergen E, Szamatowicz M, Barash A, Amit A, Levitas E, Shoham Z. The use of recombinant human LH (lutropin alfa) in the late stimulation phase of assisted reproduction cycles: a double-blind, randomized, prospective study. *Hum Reprod* 2006;21(1):90-4.
27. De Placido G, Alviggi C, Perino A, Strina I, Lisi F, Fasolino A, De Palo R, Ranieri A, Colacurci N, Mollo A; Italian Collaborative Group on Recombinant Human Luteinizing Hormone. Recombinant human LH supplementation versus recombinant human FSH (rFSH) step-up protocol during controlled ovarian stimulation in normogonadotrophic women with initial inadequate ovarian response to rFSH. A multicentre, prospective, randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005;20(2):390-6.
28. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Impact of luteinizing hormone administration on gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: an age-adjusted analysis. *Fertil Steril* 2011;1:95(3):1031-6.
29. Pabuççu R, Pabuççu EG. İntrauterin inseminasyon ve in vitro fertilizasyonda ovulasyon indüksiyonu yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics* 2013;6(1):22-41.
30. Albuquerque LE, Tso LO, Saconato H, Albuquerque MC, Macedo CR. Depot versus daily administration of gonadotropin-releasing hormone agonist protocols for pituitary down regulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;31(1):CD002808.
31. Shrestha D, La X, Feng HL. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Ann Transl Med* 2015;3(10):137.
32. Biljan MM, Mahutte NG, Dean N, Hemmings R, Bissonnette F, Tan SL. Effects of pretreatment with an oral contraceptive on the time required to achieve pituitary suppression with gonadotropin-releasing hormone analogues and on subsequent implantation and pregnancy rates. *Fertil Steril* 1998;70(6):1063-9.
33. Griesinger G, Kolibianakis EM, Venetis C, Diedrich K, Tarlatzis B. Oral contraceptive pretreatment significantly reduces ongoing pregnancy likelihood in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: an updated meta-analysis. *Fertil Steril* 2010;94(6):2382-4.
34. Smulders B, van Oirschot SM, Farquhar C, Rombauts L, Kremer JA. Oral contraceptive pill, progestogen or estrogen pre-treatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;20(1):CD006109.
35. Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;25(1):CD004635.
36. Latouche J, Crumeyrolle-Arias M, Jordan D, Kopp N, Augendre-Ferrante B, Cedard L, et al. GnRH receptors in human granulosa cells: anatomical localization and characterization by autoradiographic study. *Endocrinology*. 1989;125(3):1739-41.
37. Kowalik A, Barmat L, Damario M, Liu HC, Davis O, Rosenwaks Z. Ovarian estradiol production in vivo. Inhibitory effect of leuprolide acetate. *J Reprod Med* 1998;43(5):413-7.
38. Huirne JA, Lambalk CB. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet* 2001;358(9295):1793-803.
39. Al-Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol. *Reprod Biomed Online* 2005;10(5):567-70.
40. Kolibianakis EM, Venetis CA, Kalogeropoulos L, Papanikolaou E, Tarlatzis BC. Fixed versus flexible gonadotropin-releasing hormone antagonist administration in in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2011;95(2):558-62.
41. Al-Inany HG, Youssef MA, Ayeleke RO, Brown J, Lam WS, Broekmans FJ. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;4: CD001750.
42. Gibreel A, Maheshwari A, Bhattacharya S. Clomiphene citrate in combination with gonadotropins for controlled ovarian stimulation in women undergoing in vitro fertilization. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;11: CD008528.
43. Saadat P, Slater CC, Jain JK, Tourgeman DE, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Treatment-associated serum FSH levels in very poor responders to ovarian stimulation. *J Assist Reprod Genet* 2003;20(10):395-9.
44. Al-Inany H, Aboulghar M. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;(4):CD001750.
45. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;19(3):CD001750.
46. Xiao JS, Su CM, Zeng XT. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in supposed normal ovarian responders undergoing IVF: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9(9):e106854.
47. Rabinson J, Meltzer S, Zohav E, Gerner O, Anteby EY, Orvieto R. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the influence of body mass index on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2008;89(2):472-4.
48. Pundir J, Sunkara SK, El-Toukhy T, Khalaf Y. Meta-analysis of GnRH antagonist protocols: do they reduce the risk of OHSS in PCOS? *Reprod Biomed Online* 2012;24(1):6-22.
49. Alama P, Bellver J, Vidal C, Giles J. GnRH analogues in the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Endocrinol Metab* 2013 Spring;11(2):107-16.
50. Youssef MA, Abou-Setta AM, Lam WS. Recombinant versus urinary human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation triggering in IVF and ICSI cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;23(4):CD003719.
51. European Recombinant LH Study Group. Human recombinant luteinizing hormone is as effective as, but safer than, urinary human chorionic gonadotropin in inducing final follicular maturation and ovulation in in vitro fertilization procedures: results of a multicenter double-blind study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2607.
52. UpToDate. In vitro fertilization. Available at: https://www.uptodate.com/contents/in-vitro-fertilization?source=search_result&search=controlled+ovarian+hyperstimulation&selectedTitle=1~150
53. Youssef MA, Van der Veen F, Al-Inany HG, Mochtar MH, Griesinger G, Nagi Mohesen M, Aboulfotouh I, van Wely M. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;31(10):CD008046.
54. Lin MH, Wu FS, Lee RK, Li SH, Lin SY, Hwu YM. Dual trigger with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for normal responders in GnRH-antagonist cycles. *Fertil Steril* 2013;100(5):1296-302.
55. Beck-Fruchter R, Weiss A, Lavee M, Geslevich Y, Shalev E. Empty follicle syndrome: successful treatment in a recurrent case and review of the literature. *Hum Reprod* 2012;27(5):1357-67.
56. Haas J, Zilberberg E, Dar S, Kedem A, Machtinger R, Orvieto R. Co-administration of GnRH-agonist and hCG for final oocyte maturation (double trigger) in patients with low number of oocytes retrieved per number of preovulatory follicles—a preliminary report. *J Ovarian Res* 2014;2:777.