

ANTAGONISTAS DO GnRH EM REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Artur Dzik – Mestre e Doutor em Ginecologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Diretor Serviço de Esterilidade Conjugal do Hospital Pérola. Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH) 2010/2012

Gilberto da Costa Freitas – Doutor em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Coordenador Setor de Reprodução Humana do Hospital Pérola.

Al. Santos, 211-711 / CEP 01419000 / Cerqueira Cesar – São Paulo – (11) 3284-2077 e 3285-0754
gilfreitas@uol.com.br / www.clinicadereproducaohumana.com.br

Introdução

Após a elucidação da estrutura do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), por Schally em 1971, grande número de análogos, agonistas e antagonistas, deste hormônio foram sintetizados, a partir da substituição de aminoácidos na molécula natural, propiciando substâncias muito mais ativas biologicamente do que o próprio GnRH natural e que possuíam diversas aplicações clínicas e experimentais¹. Estas substâncias, desde o início, foram usadas muito mais pelos seus efeitos antireprodutivos, pois seu uso prolongado provoca a supressão do eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal, do que por suas propriedades estimuladoras na produção de gonadotrofinas. Portanto, em reprodução assistida, principalmente na fertilização *in vitro* (FIV), o objetivo principal do uso dos análogos do GnRH, agonistas e antagonistas, é evitar uma onda prematura de LH, impedindo a maturação final do oócito e sua liberação. Por esse motivo são amplamente usados em associação ao estímulo ovariano controlado (EOC) com as gonadotrofinas exógenas² (Fig. 01).

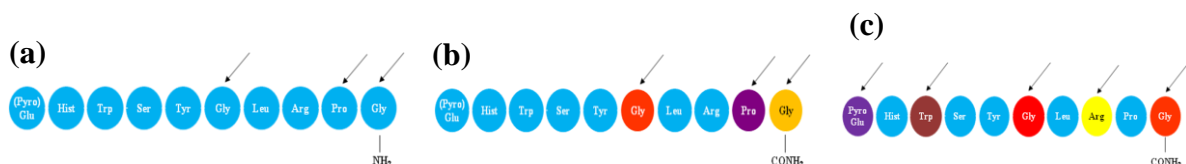


Fig. 01 Hormônio GnRH: (a) Natural, (b) Agonista (c) Antagonista.

Apesar da primeira experiência bem sucedida de FIV, descrita por *Edwards e Steptoe*, em 1980, ter ocorrido em um ciclo natural, hoje é consenso que as maiores taxas de sucesso deste tratamento estão associadas à obtenção de um número adequado de pré-embriões para transferência. Justificando-se, portanto, o emprego rotineiro das gonadotrofinas para a EOC no recrutamento folicular múltiplo, aceito atualmente como um pré-requisito importante para o sucesso dos programas de fertilização assistida³.

As drogas mais utilizadas na EOC são os preparados urinários de gonadotrofina menopausal humana (hMG), hormônio folículo estimulante urinário (FSH-u) e recombinante (FSH-r). Estes, podem ser utilizados isoladamente ou em combinação com os análogos agonistas e antagonistas (*GnRH*-ag / *GnRH*-ant) do hormônio liberador das gonadotrofinas (*GnRH*). Para maturação final dos oócitos utilizamos os preparados urinários de gonadotrofina coriônica humana (hCG-u) e os preparados recombinantes da gonadotrofina coriônica humana (hCG-r). Sem o uso dos análogos do *GnRH*, a elevação prematura do LH ocorre em aproximadamente 20% dos casos e, como consequência, uma menor eficácia dos tratamentos, devido menor qualidade oocitária e menor número de embriões para seleção, ou o cancelamento o ciclo⁴.

Portanto, evitar a elevação prematura do LH pelo uso dos análogos do *GnRH*, melhora a produção dos oócitos, melhor produção dos embriões, permitindo uma melhor seleção, e como consequência, um aumento nas taxas de gravidez⁵. O uso do agonista do *GnRH* consumiu mais de 15 anos de experiências até a identificação de qual seria o melhor protocolo, que sem dúvida é o protocolo longo iniciando na fase lútea média do ciclo precedente, porque é o protocolo que apresenta os melhores resultados na FIV para a grande maioria dos casos estudados^{6,7}. O uso dos *GnRH*-ag provoca a supressão das gonadotrofinas pela dessensibilização da hipófise, após um período curto de hipersecreção gonadotrófica.

Análogos antagonistas do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH-ant)

Em paralelo ao desenvolvimento do agonista do GnRH-ag, outros análogos foram sintetizados com propriedade de ocupar o receptor hipofisário do GnRH, sem induzir a liberação das gonadotrofinas. A primeira geração desses análogos antagonistas apresentou como efeito colateral um intenso processo alérgico induzido pela liberação de histamina, este fato foi uma das principais causas da dificuldade para o início do desenvolvimento clínico desse composto.

Em um primeiro momento os esforços foram direcionados para modificação da estrutura molecular dos antagonistas como objetivo de atenuar esses efeitos. Tanto, que nos compostos mais atuais como o Cetrorelix e o Ganirelix, os efeitos histamínicos foram bastante minimizados e atualmente são largamente usados com eficiência e segurança na prevenção da ovulação prematura nos ciclos de estimulação ovariana. Injeções diárias no meio do ciclo, ou a administração em dose única, por volta do 6º - 7º dia de estímulo evita o aumento da onda de LH endógeno. Devido à sua diferente farmacologia e modo de ação, baseado na clássica ação de bloqueio competitivo dos receptores, o GnRH-ant evita qualquer período de aumento súbito das gonadotrofinas seguido de queda e permite iniciar a estimulação ovariana em um ciclo espontâneo, evitando a luteinização prematura, parada da maturação folicular e assincronia na maturação oocitária⁸.

Em comparação com os agonistas, o mecanismo farmacológico pelo qual os antagonistas suprimem a liberação de gonadotrofinas é completamente diferente. Enquanto o agonista age, quando administrado cronicamente, através de uma regulação para baixo do receptor e dessensibilização da célula gonadotrófica, o antagonista ocupa competitivamente o receptor, sem estimulá-lo e previne que o GnRH endógeno exerça seu efeito estimulador sobre a hipófise evitando qualquer efeito de aumento súbito inicial das gonadotrofinas. Em algumas horas a secreção de gonadotrofinas é reduzida⁹.

Os análogos antagonistas do GnRH resultam da substituição múltipla de aminoácidos nas posições 1, 2, 3, 6, 8 e 10 na molécula do GnRH natural. Os primeiros antagonistas foram sintetizados a mais de 30 anos¹⁰. Entretanto, sua aplicação clínica foi atrasada principalmente por seus efeitos colaterais relacionados à liberação de histamina e a meia vida curta dos produtos iniciais, frequentemente com necessidade de múltiplas aplicações para que seu efeito fosse observado. Dois destes compostos, o Cetrorelix e o Ganirelix, foram testados em estudos clínicos^{11, 12, 13, 14, 15, 16}.

O mecanismo básico de ação dos antagonistas é a ligação ao receptor do GnRH na pituitária e competem com o GnRH endógeno prevenindo a estimulação da secreção de LH. Eles diferem dos agonistas porque não estimulam a elevação súbita inicial de gonadotrofinas, mas induzem a rápida queda da liberação dessas. Experiências com os antagonistas do GnRH foram realizadas em mulheres durante o ciclo menstrual normal^{17, 18, 19}. Estes estudos mostraram a habilidade destes compostos em suprimir a secreção de gonadotrofinas e a produção de esteroides gonadais de forma imediata^{20, 21, 22, 23, 24}.

O principal mecanismo de ação destes compostos é o bloqueio competitivo do receptor do GnRH. Então, o GnRH-ant inibe o sinal de transdução induzido pelo GnRH. Desde que estes compostos estão livres de qualquer atividade agonista, eles não induzem o aumento inicial na secreção de gonadotrofinas, característica dos agonistas do GnRH. Isto é de importância para certas aplicações clínicas dos antagonistas, tais como seu uso na estimulação ovariana controlada²⁵.

O uso do antagonista do GnRH, acetato de Cetrorelix, durante a fase folicular média induz a rápido declínio nos valores do LH, estradiol e em menor extensão do FSH, postergando a onda de LH para 6 – 17 dias. Ao mesmo tempo, o tamanho do folículo dominante permanece estável²⁶. O antagonista em doses múltiplas, mantém a concentração de gonadotrofinas baixa.

Os antagonistas foram usados, até agora, em mulheres submetidas ao tratamento para FIV no sentido de bloquear a onda endógena de LH e prevenir a luteinização prematura^{27, 28, 29}.

Durante o tratamento com os antagonistas espera-se que a duração do tratamento seja menor do que com o agonista, com menor quantidade de ampolas de gonadotrofina. Entretanto, esta afirmação ainda é objeto de estudos para comprovação. Teoricamente a redução do LH endógeno na fase folicular tardia pode desacelerar o crescimento do folículo que nesse estágio do ciclo é também LH-dependente³⁰.

Estimulação ovariana controlada para FIV

No Brasil as únicas apresentações disponíveis para o uso clínico são o *Cetrorelix* e o *Ganirelix*, testados em inúmeros ensaios clínicos principalmente para avaliar sua eficácia e a dose ideal capaz de inibir o aumento prematuro do LH. A apresentação de ambos os produtos é para uso diário de 0,25mg³¹.

- *Esquema dose única (depósito)* – A gonadotrofina é iniciada entre o 1º - 3º dia de um ciclo menstrual espontâneo (E₁), no 6º dia de estímulo (E₆), ou quando o folículo dominante atingir o tamanho ≥ 14 mm de diâmetro máximo, o GnRH-ant é então administrado via subcutânea em uma única dose de 3mg associado as gonadotrofinas, esta associação é mantida até a maturidade folicular, três ou mais folículos de 17mm de diâmetro máximo, daí então administramos o hCG. Neste esquema se em 04 dias o folículo não atingir o diâmetro esperado, adicionamos 0,25mg do GnRH-ant ao dia até o dia da administração do hCG³².

- *Esquema de multidose* – De longe o protocolo mais usado, a gonadotrofina é iniciada entre o 1º - 3º dia de um ciclo menstrual espontâneo (E₁), no 6º dia de estímulo (E₆), ou quando o folículo dominante atingir o tamanho de ≥ 14 mm de diâmetro, 0,25 do GnRH-ant é então administrado via subcutânea em associação com as gonadotrofinas diariamente na dose de

0,25 mg, esta associação é mantida até a maturidade folicular, três ou mais folículos de 17mm de diâmetro máximo, daí então administramos o hCG³³.

É importante ressaltar que nos dois esquemas, depósito ou multidoses, o início do GnRH-ant pode ser fixo, no 6º dia do estímulo (E₆), ou pode ser flexível. Neste esquema, o GnRH-ant só é administrado quando os folículos atingirem tamanho de ≥ 14 mm, o que as vezes pode atrasar o início em um ou dois dias (Fig. 02).

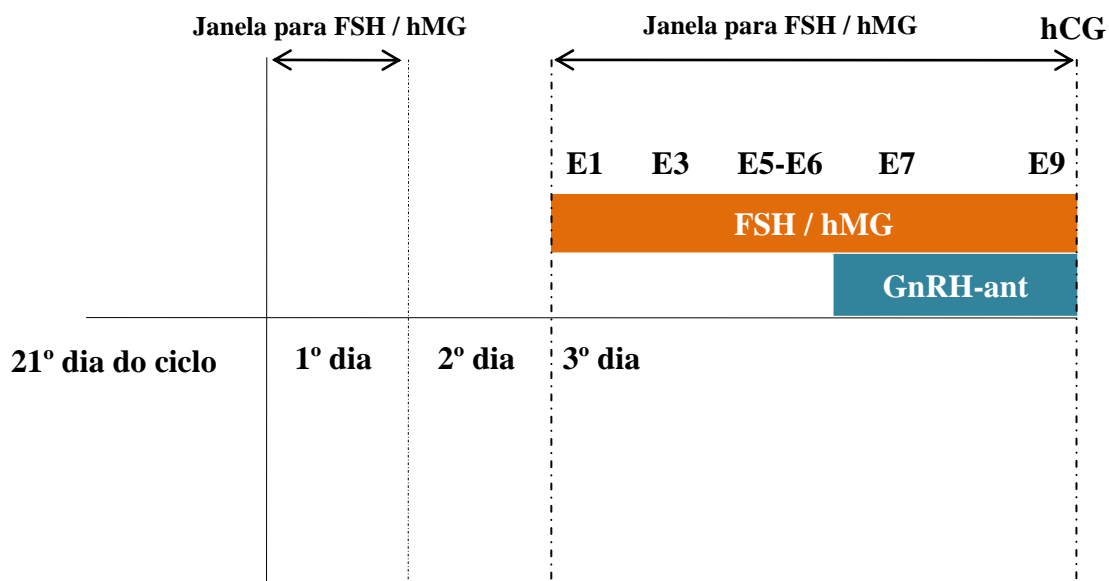


Fig. 02 Protocolo com os antagonistas do GnRH.

Contra-indicações para o uso dos antagonistas do GnRH

- Hipersensibilidade aos antagonistas, hormônios peptídicos ou manitol.
- Gravidez e lactação. Não foi identificado efeito teratogênico.
- Mulheres na pós-menopausa.
- Pacientes com disfunção renal ou hepática moderada e severa.

Farmacocinética e farmacodinâmica

Após injeção subcutânea de 3mg em dose única, administrada na fase folicular tardia o nadir para o LH foi de 24 horas, para o FSH 32 horas e para o E₂ 48 horas. Medidas das concentrações plasmáticas mostraram que após a injeção subcutânea a biodisponibilidade do

Cetrorelix é de cerca de 90%. Após dose única de 3 mg subcutânea o pico de concentração plasmática em aproximadamente uma hora é de cerca de 30 ng/ml. A meia vida plasmática é de cerca de 25 horas nas mulheres. No plasma está ligada a proteína em 85%. É altamente metabolizado em humanos, com cerca de 4% da dose detectada na urina e 7% na bile.

Um protocolo teórico deveria começar o tratamento com os antagonistas do GnRH no dia 2 ou 3 do ciclo e quando as concentrações de LH tornam-se baixas continua-se com baixas doses de FSH-r ou urinário. Entretanto, pode ser necessário continuar o tratamento com o antagonista acima do ponto de seleção do folículo dominante e aumentar o efeito de retroalimentação negativa ovariana sobre a secreção de LH pela subida do estradiol³⁴. Protocolo alternativo seria começar com dose baixa de FSH e adicionando o antagonista do GnRH quando o folículo dominante atingir o tamanho de 12-14 mm de diâmetro, como nos protocolos usados para FIVETE. A queda nas concentrações de LH durante a fase folicular tardia pode prevenir os efeitos prejudiciais deste hormônio nos resultados do tratamento³⁵.

Em estudo para achar a dose ideal do antagonista, FELBERBAUM et al., (1996) estudou 35 mulheres, todas com infertilidade por fator tubário isolado, foram tratadas como segue: iniciando no 2º dia o estímulo com hMG diário. A partir do 7º dia do ciclo até a indução da ovulação, 12 pacientes foram tratadas com 3mg (Cetrorelix) subcutâneo. Como não houve onda prematura de LH, 12 pacientes receberam 1mg e 11, receberam apenas 0,5 mg no 5º dia. A dose de hMG foi ajustada de acordo com as respostas individuais. Este tratamento foi continuado até a indução da ovulação com 10000 UI hCG intramuscular, quando o folículo dominante atingiu diâmetro de 18-20mm, e quando o estradiol indicava resposta folicular satisfatória.

Não foi observada onda prematura de LH. Todos os ciclos puderam ser avaliados. Progresso nos três grupos das dosagens de FSH e LH foram similares, com profunda supressão do LH e

menor e pronunciada supressão do FSH. Observações tardias mostraram ser provavelmente devido à meia vida longa no plasma do FSH injetado. No caso do E₂ houve no grupo de 0,5mg um aumento na concentração, chegando a valor máximo de 2.165 pg/ml no 10^o dia do ciclo, comparado com 852 pg/ml no grupo de 3 mg e 1.023 pg/ml no grupo de 1mg. Os resultados não foram significantes; a diferença parece indicar uma pequena reação sensitiva à estimulação com hMG no grupo tratado com baixas doses de antagonista.

ALBANO et al., 1997, em estudos subsequentes usando 0,5mg de Cetorelix/dia e também 0,25mg/dia ou 0,1mg/dia provou a eficácia e segurança de 0,25mg/dia para evitar a onda prematura de LH. Com 0,1mg/dia pode ocorrer onda prematura de LH³⁶.

Discussão

A introdução dos GnRH-ant na EOC, em relação a sua efetividade na prevenção da onda precoce de LH, apresenta-se como uma realidade em reprodução assistida. Entretanto, as discussões sobre as vantagens e desvantagens desses compostos são intensas e ainda em andamento. Devido ao seu específico modo de ação os GnRH-ant se apresentam como uma excelente opção para esquemas de tratamento mais individualizados. Por outro lado, os resultados quanto ao desenvolvimento folicular e a fase lútea, podem ser diferentes em comparação com aqueles obtidos pelos esquemas clássicos usando os GnRH-ag. Os GnRH-ant foram introduzidos aos esquemas de EOC para FIV na metade dos anos noventa com o objetivo de inibir a elevação prematura do LH, papel exercido, até então, exclusivamente pelos GnRH-ag desde 1984³⁷.

Esquema dose única (depósito) versus esquema multidoso – Este esquema favoreceria o uso de uma menor quantidade de injeções do GnRH-ant, embora em 10% dos ciclos doses adicionais (0,25mg) sejam necessárias³⁸. Entretanto, pode resultar em uma supressão

endógena do LH excessiva e potencialmente prejudicial, principalmente em ciclos com o FSH puro. Em relação às taxas de gravidez não se observa diferença³⁹.

Esquema fixo versus flexível - Trabalho de meta-análise, comparando o esquema fixo com o flexível, para a administração dos GnRH-ant, mostra que apesar da diferença não ser estatisticamente significativa, no esquema flexível houve uma menor taxa de gravidez⁴⁰. Em relação ao melhor dia para o início do GnRH-ant, ainda não existe uma definição na literatura, alguns advogam seu início já no primeiro dia⁴¹. Outro aspecto importante é que a dose e o momento do início para administração das gonadotrofinas podem ter um impacto sobre qual o melhor dia para o início do GnRH-ant⁴².

GnRH-ag versus hCG para maturação final – Em ciclos com os GnRH-ant a maturação final oocitária pode ser feita com o GnRH-ag. Esta substituição diminui o risco para síndrome da hiperestimulação ovariana (SHO), em pacientes de risco⁴³. Entretanto, não produz elevação do LH como ocorre em ciclos naturais, especialmente quanto a sua duração. A literatura sugere que quando substituímos o hCG pelo GnRH-ag, a probabilidade de gravidez seja menor. Talvez repetidas doses de GnRH-ag ou a associação com baixíssimas doses de hCG (ex. 1500 UI), juntamente com esquemas de suporte de fase lútea alternativos, poderiam melhorar essas taxas de gravidez⁴⁴.

Anticoncepcional oral (ACO) prévio em ciclos com os GnRH-ant – Seu uso foi sugerido como um recurso na tentativa de aumentar a sincronização do grupo selecionado de folículos antrais para o ciclo seguinte. A vantagem seria facilitar a programação dos ciclos, que neste caso não seria baseado na menstruação, mas na descontinuação do ACO. As desvantagens seriam o aumento do tempo de tratamento, aumento da quantidade de gonadotrofina e poderia causar desconforto ao paciente pelo fato da principal indicação do ACO ser usado para prevenir a gravidez. Em relação às probabilidades de gravidez, os ACOs não afetam as taxas de gravidez⁴⁵.

Dose de gonadotrofina exógena em ciclos com GnRH-ant – A dose inicial necessária de gonadotrofina (FSH/hMG) em ciclos com os GnRH-ant é menor, se comparada aos ciclos com GnRH-ag, devido ao FSH endógeno mais elevado no interciclo. Outro fato é que seria possível começar o estímulo mais tarde na fase folicular (até o 6º dia do ciclo) prolongando a janela do FSH para o desenvolvimento folicular, favorecendo o desenvolvimento de esquemas de EOC mais suaves. Inclusive o uso do ciclo natural modificado, no qual o desenvolvimento de um único folículo é sustentado pela combinação da gonadotrofina exógena em combinação com os GnRH-ant para evitar a produção endógena do LH, principalmente para pacientes de prognóstico ruim para EOC⁴⁶.

Suplementação de LH – Em esquemas de EOC utilizando os GnRH-ant e o FSH-r, devido a supressão abrupta, dose dependente, do LH, parece que este fato estaria relacionado a um aumento nas taxas de abortamento. Ao contrário, foi sugerido que níveis mais baixos de LH no 8º dia de estímulo (E₈), estaria associado a maior probabilidade de gravidez. Com base nas informações atualmente disponíveis parece que a suplementação com LH em ciclos com FSH-r e GnRH-ant para EOC não é necessária⁴⁷.

Crítérios para a administração do hCG – Existem muitas variações na administração do hCG para maturação oocitária final tanto em ciclos com GnRH-ag como com GnRH-ant. O momento para administração do hCG pode ser importante para as chances de gravidez. Ciclos com fase folicular prolongada estão associados a queda na taxa de gravidez⁴⁸.

Suplementação da fase lútea – As evidências sugerem que a suplementação da fase lútea em ciclos de GnRH-ant é mandatória⁴⁹.

Agonista versus antagonista – As evidências sugerem em estudos comparativos entre os análogos, agonista e antagonista, uma tendência de aumento nas taxas de gravidez em favor dos GnRH-ag^{50, 51}.

Uso dos GnRH-ant em ciclos de Inseminação intrauterina (IIU) – Os GnRH-ant podem ser usados em EOC para IIU, mas ainda não é um consenso na literatura, alguns autores recomendam apenas para uma melhor programação da inseminação e evitar os finais de semana^{52, 53}.

Os análogos do GnRH quando usados em RA, em geral, são avaliados de forma comparativa, principalmente quanto as taxas de gravidez. Entretanto, outros parâmetros, devem ser considerados nesta comparação como, novos agentes, medicações adjuvantes e esquemas de tratamento que permitam maior recrutamento folicular, maior número de oócitos maduros, menor duração do estímulo ovariano e a utilização de uma menor quantidade gonadotrofina exógena. Atualmente os especialistas, no sentido de individualizar melhor os esquemas de tratamento, desenvolvem protocolos opcionais aos tradicionais descritos neste capítulo. Os primeiros análogos do GnRH desenvolvidos com sucesso para reduzir a incidência do aumento do LH prematura foram os GnRH-ag. Quando comparados com ciclos livres, sem os o uso da supressão do LH, ciclos com os GnRH-ag determinam maiores taxas de gravidez por ciclo além de uma taxa de gravidez cumulativa e nascimentos vivos maior, especialmente com o protocolo longo, iniciado na fase lútea média do ciclo precedente. Esses regimes necessitam de um período maior de estimulação e, frequentemente maior quantidade de gonadotrofinas, provavelmente por inibirem a resposta ovariana. É bastante comum em mulheres com baixa resposta ao estímulo ovariano diminuir-se a dose dos GnRH-ag, o que estaria associado a melhores taxas de gravidez.

Em relação aos GnRH-ant seus benefícios incluem menor período de estimulação, menor quantidade de gonadotrofinas, menor intervalo entre ciclos consecutivos e, além disso, acessa a reserva ovariana imediatamente com o início do estímulo. Por não suprimir o eixo pode ser de usado em pacientes com baixa resposta.

Na verdade o melhor esquema de tratamento para pacientes submetidas à FIV ainda encontra-se em intenso debate na literatura. Enquanto estudos em populações normais não encontram qualquer diferença com relação às taxas de gravidez entre os ciclos com GnRH-ag ou GnRH-ant, uma meta-análise Cochrane de 2006 relata que os GnRH-ant estão associados com uma menor taxa de gravidez se comparados aos ciclos longos com os GnRH-ag⁵⁴. Entretanto,

outra meta-análise Cochrane mais recente de 2011, analisando 45 estudos prospectivos e randomizados num total de 7511 ciclos de FIV mostram taxa de nascidos vivos estatisticamente igual para GnRH-ag vs GnRH-ant. Vale ressaltar que neste estudo da Cochrane o protocolo com a utilização do GnRH-ant apresentou estatisticamente menor incidência de OOHS em comparação ao grupo que utilizou GnRH-ag⁵⁵. Portanto, a literatura ainda não é conclusiva quanto o melhor esquema de tratamento, uma grande variedade na preferência entre os especialistas ainda é descrita. O que tem sido observado mais recentemente é um aumento na aceitação dos ciclos com os GnRH-ant. Em recente artigo, o autor questiona justamente a perda de popularidade dos GnRH-ag em ciclos de reprodução assistida, pela observação do aumento na preferência pelos GnRH-ant em alguns centros⁵⁶.

Referências bibliográficas

¹Schally AV, Kastin AJ, Arimura A. Hypothalamic follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH)-regulating hormone: structure, physiology, and clinical studies. **Fertil Steril**, 22: 703-21, 1971.

²Meirow D, Laufer N, Schenker JG. Ovulation induction in in vitro fertilization. **Gynecol Endocrinol**, 6: 211-24, 1992.

³Edwards RG, Steptoe PC, Purdy, JM. Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown In Vitro. **Br J Obst Gynecol**, 87: 373, 1980.

⁴Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, Schats R, Bernards JM, Rekers-Mombarg LT, Schoemaker J. Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo- controlled study. **Hum Reprod**, 15: 2333–2340, 2000.

⁵Templeton A, Morris JK. Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. **N Engl J Med** 1998; 339: 573–577.

- ⁶Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. **Cochrane Database Syst Rev** **2000**; CD001299 (The Cochrane Collaboration issue 2, Oxford).
- ⁷Huirne JA, Lambalk CB, van Loenen AC, Schats R, Hompes PG, Fauser BC, Macklon NS. Contemporary pharmacological manipulation in assisted reproduction. **Drugs** **2004**; 64:297–322.
- ⁸Tarlatzis BC, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K and Devroey P, On Behalf of the Brussels GnRH Antagonist Consensus Workshop Group. GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. **Hum Reprod Update**, Vol.12, No.4 pp. 333–340, 2006.
- ⁹Felberbaum RE, Reissmann T, K pker W. Preserved pituitary reponse under ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists (Cetrorelix) in women with tubal infertility. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, 61: 151-155, 1995.
- ¹⁰Karten, MJ; Rivier, JE. Gonadotropin-releasing hormone analog design. Structure-function studies toward the development of agonists and antagonists: rationale and perspective. **Endocr.**, 7, 44-66, 1986.
- ¹¹Rabinovici, J; Rothman, P, Monroe, SE, et al. Endocrine effects and pharmacokinetic characteristic of a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) with minimal histamine-releasing properties: studies in postmenopausal women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 75, 1220-1225, 1992.
- ¹²Nestor, JJ Jr; Tahilramani, R; Ho, TL, et al. Potent gonadotropin releasing hormone antagonists with low histamine-releasing activity. **J. Med. Chem.**, 35, 3942-3948, 1992.
- ¹³Diedrich, K; Diedrich, C; Santos, E; Zoll, C; Al-Hasani, S; Reissmann, T; Krebs, D; Klingmuller, D. Suppression of endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin

releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. **Hum. Reprod.**, 9, 788-791, 1994.

¹⁴Nelson, LR; Fujimoto, VY; Jaffe, RB. et al. Suppression of follicular phase pituitary gonadal function by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist with reduced histamin-releasing properties (ganirelix). **Fertil. Steril.**, 63, 963-969, 1995.

¹⁵Rivier, J; Jiang, GC; Lahrichi, SL, et al. Dose relationship between GnRH antagonists and pituitary suppression. **Hum. Reprod.**, 11, (Suppl. 3), 133-147, 1996.

¹⁶Fujimoto, VY; Monroe, SE; Nelson, LR, et al. Dose-related suppression of serum luteinizing hormone in women by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) administered by intranasal spray. **Fertil. Steril.**, 67, 469-473, 1997.

¹⁷Fluker, MR; Marshall, LA; Monroe, SE; Jaffe, RB. Variable ovarian response to gonadotropin-releasing hormone antagonist-induced gonadotropin deprivation during different phase of the menstrual cycle. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 72, 912-918, 1991.

¹⁸Dubourdieu, S; Charbonnel, B, D'Acromont, MF, et al. Effect of administration of gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal-Glu) during the preovulatory period: the luteinizing hormone surge requires secretion of gonadotropin-releasing hormone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 78, 343-347, 1994.

¹⁹Leroy, L, D'Acromont, MF; Brailly-Tabard, S; Frydman, R; De Mouzon, J; Bouchard, P. A single injection of a LH-RH-a (cetrorelix) postpones the LH surge: further evidence for the role of LH-RH during the LH surge. **Fertil. Steril.**, 62, 461-7, 1994.

²⁰Rabinovici, J; Rothman, P, Monroe, SE. et al. Endocrine effects and pharmacokinetic characteristic of a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) with

minimal histamine-releasing properties: studies in postmenopausal women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 75, 1220-1225, 1992.

²¹Diedrich, K; Diedrich, C; Santos, E; Zoll, C; Al-Hasani, S; Reissmann, T; Krebs, D; Klingmuller, D. Suppression of endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. **Hum. Reprod.**, 9, 788-791, 1994.

²²Felberbaum, RE; Reissmann, T; K pker, W, et al., Preserved pituitary response under ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists (Cetrorelix) in women with tubal infertility. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, 61, 151-155, 1995.

²³Albano, C; Smitz, J; Camus, M; Riethm ller-Winzen, H; Van Steirteghem, A; Devroey, P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. **Fertil. Steril.**, 67, 917-922, 1997.

²⁴Fujimoto, VY; Monroe, SE; Nelson, LR, et al. Dose-related suppression of serum luteinizing hormone in women by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) administered by intranasal spray. **Fertil. Steril.**, 67, 469-473, 1997.

²⁵Reissmann, TH; Felberbaum, R; Diedrich, K; Engel, J, Comaru-Schally; Schally, AV. Development and applications of luteinizing hormone-releasing hormone antagonists in the treatment of infertility: an overview. **Hum. Reprod.** 10; 8 pp. 1974-1981, 1995.

²⁶Leroy, L, D'Acremont, MF; Brailly-Tabard, S; Frydman, R; De Mouzon, J; Bouchard, P. A single injection of a LH-RH-a (cetrorelix) postpones the LH surge: further evidence for the role of LH-RH during the LH surge. **Fertil. Steril.**, 62, 461-7, 1994.

- ²⁷Frydman, R; Cornel, C; De Ziegler, D; Taïeb, J; Spitz, IM; Bouchard, P. Prevention of premature luteinizing hormone and progesterone rise with a LH-RH antagonist, Nal-Glu, in controlled ovarian hyperstimulation. **Fertil. Steril.**, 56, 923-7, 1991.
- ²⁸Olivennes, F; Fanchin, R; Bouchard, P; De Ziegler, D; Taïeb, J; Selva, J, et al. The single or dual administration of the LH-RH antagonist Cetrorelix prevents premature LH surges in an IVF-ET program. **Fertil. Steril.**, 62, 468-76, 1994.
- ²⁹Olivennes, F; Fanchin, R; Bouchard, P; Taïeb, J; Selva, J; Frydman, R. Scheduled administration of a LH-RH antagonist (cetrorelix) on day 8 of in vitro fertilization cycle: a pilot study. **Hum. Reprod.**, 10, 1382-6, 1995.
- ³⁰HILLIER, S.G. Regulatory functions for inhibin and activin in human ovaries. **J. Endocrinol.**, 131, 188-191, 1991.
- ³¹Fujimoto VY, Monroe SE, Nelson LR. Dose-related suppression of serum luteinizing hormone in women by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) administered by intranasal spray. **Fertil Steril**, 67: 469-473, 1997.
- ³²Olivennes F, Alvarez S, Bouchard P, Fanchin R, Salat-Baroux J and Frydman R The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg. **Hum Reprod**, 13: 2411–2414, 1998.
- ³³Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmuller-Winzen H, Van Steirteghem A and Devroey P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. **Fertil Steril**, 67: 917–922, 1997.
- ³⁴Ludwig, M; Riethmüller-Winzen, H; Felberbaum, RE; Olivennes, F; Albano, C; Devroey, P; Diedrich, K. Health of 227 children born after controlled ovarian stimulation for in vitro

fertilization using the luteinizing hormone–releasing hormone antagonist cetrorelix. **Fertil. Steril.**, v.75, p.18-22, 2001.

³⁵Felberbaum, R; Reissmann, T; K pker, W. Hormone profiles under controlled ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin (hMG) and concomitant administration of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cetrorelix at different dosages. **J. Assist. Reprod. Genet.**, 13, 216-22, 1996.

³⁶Albano, C; Smitz, J; Camus, M; Riethm ller-Winzen, H; Van Steirteghem, A; Devroey, P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. **Fertil. Steril.**, 67, 917-922, 1997.

³⁷Porter RN, Smith W, Craft IL, Abdulwahid NA and Jacobs HS. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. **Lancet**, 2: 1284–1285, 1984.

³⁸Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicollet B, Zorn JR, Bouchard P and 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 (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). **Fertil Steril**, 73: 314–320, 2000.

³⁹Wilcox J, Potter D, Moore M, Ferrande L and Kelly E. Prospective, randomized trial comparing cetrorelix acetate and ganirelix acetate in a programmed, flexible protocol for premature luteinizing hormone surge prevention in assisted reproductive technologies. **Fertil Steril**, 84: 108–117, 2005.

⁴⁰Al-Inany HG, Aboulghar M, Mansour R and Serour GI. Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed vs flexible protocol. **Reprod Biomed Online**, 10: 567–570, 2005.

- ⁴¹Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Smith J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC and Devroey P. Administration of gonadotropin-releasing hormone antagonist from day 1 of stimulation in in-vitro fertilization. **Fertil Steril**, 82: 223–226, 2004.
- ⁴²Hohmann FP, Macklon NS and Fauser BC. A randomized comparison of two ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. **J Clin Endocrinol Metab**, 88: 166–173, 2003.
- ⁴³Kol S. Luteolysis induced by a gonadotropin-releasing hormone agonist is the key to prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. **Fertil Steril**, 81: 1–5, 2004.
- ⁴⁴Kolibianakis EM, Schultze-Mosgau A, Schroer A, van Steirteghem A, Devroey P, Diedrich K and Griesinger GA. lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. **Hum Reprod**, 20: 2887–2892, 2005.
- ⁴⁵Kolibianakis EM, Papanikolaou EG, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC and Devroey P. Effect of oral contraceptive pill pretreatment on ongoing pregnancy rates in patients stimulated with GnRH antagonists and recombinant FSH for IVF. A randomized controlled trial. **Hum Reprod**, 21: 352–357, 2006.
- ⁴⁶Elizur SE, Aslan D, Shulman A, Weisz B, Bider D and Dor J. Modified natural cycle using GnRH antagonist can be an optional treatment in poor responders undergoing IVF. **J Assist Reprod Genet**, 22: 75–79, 2005.
- ⁴⁷Cedrin-Durnerin I, Grange-Dujardin D, Laffy A, Parneix I, Massin N, Galey J, Theron L, Wolf JP, Conord C, Clement P. Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. **Hum Reprod**, 19: 1979–1984, 2004.

- ⁴⁸ Kolibianakis EM, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC and Devroey P. Prolongation of the follicular phase in in vitro fertilization results in a lower ongoing pregnancy rate in cycles stimulated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. **Fertil Steril**, 82: 102–107, 2004.
- ⁴⁹ Kolibianakis EM, Bourgain C, Platteau P, Albano C, Van Steirteghem AC and Devroey P. Abnormal endometrial development occurs during the luteal phase of nonsupplemented donor cycles treated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. **Fertil Steril**, 80: 464–466, 2003.
- ⁵⁰ Al-Inany H and Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. **Hum Reprod**, 17: 874–885, 2002.
- ⁵¹ Cheung LP, Lam PM, Lok IH, Chiu TT, Yeung SY, Tjer CC and Haines CJ. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. **Hum Reprod**, 20: 616–621, 2005.
- ⁵² Ragni G, Alagna F, Brigante C, Riccaboni A, Colombo M, Somigliana E and Crosignani PG. GnRH antagonists and mild ovarian stimulation for intrauterine insemination: a randomized study comparing different gonadotropin dosages. **Hum Reprod**, 19: 54–58, 2004.
- ⁵³ Gomez-Palomares JL, Julia B, Acevedo-Martin B, Martinez-Burgos M, Hernandez ER and Ricciarelli E. Timing ovulation for intrauterine insemination with a GnRH antagonist. **Hum Reprod**, 20: 368–372, 2005.
- ⁵⁴ Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception. **Cochrane Database Syst Rev**; 3: CD001750, 2006.
- ⁵⁵ Al-Inany HG, Youssef MAFM, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011, Issue 5. Art. No.: CD001750. DOI: 10.1002/14651858.CD001750.pub3.

⁵⁶Andrea Reh, Lewis Krey and Nicole Noyes. Are gonadotropin-releasing hormone agonists losing popularity? Current trends at a large fertility center. *Article in press*, **Fertility and Sterility**, Vol, No, 2009.