

# IL RUOLO DEGLI AGONISTI E DEGLI ANTAGONISTI DEL GnRH NELLE TECNICHE DI FECONDAZIONE ASSISTITA

Stefania Malmusi, Simone Giulini, Antonio La Marca, Annibale Volpe

Dipartimento Integrato Materno-Infantile, Sezione di Ginecologia ed Ostetricia, Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

*Indirizzo per corrispondenza:* Prof. Annibale Volpe

Dipartimento Integrato Materno-Infantile, Sezione di Ginecologia ed Ostetricia, Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia - Via del Pozzo 71, 41100 Modena  
tel: +39 059 4224391; fax: +39 059 4224394; e-mail: volpe.annibale@unimore.it

## ABSTRACT

The gonadotrophin-releasing hormone agonists (GnRH-a) are widely utilized in cycles of "in vitro" fertilization (IVF). Its continuous administration induces a state of desensitization of the pituitary, a condition that is similar to hypopituitarism in the reproductive axis, and consequently to hypogonadism. This fact suggested new approaches to clinicians who had been facing many difficulties in the treatment of patients submitted to ovulation induction for IVF. Doubtlessly, the greatest frustration was the occurrence of spontaneous onset of ovulation produced by the endogenous peak of luteinizing hormone (LH). However, the use of GnRH agonists is not without disadvantages. The prolonged protocol of GnRH agonists needs two to three weeks for desensitization with relatively high costs due to increased requirement of gonadotrophin injections. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists (GnRH-ant) have emerged as an alternative in preventing premature LH surges. The use of GnRH-ant will result in a dramatic reduction in the duration of the stimulation and in the amount of gonadotrophin needed for stimulation. The potential role of GnRH antagonists in poor responders patients is intriguing, but still to be fully elucidated.

**Key words:** *gonadotrophin-releasing hormone agonists, gonadotrophin-releasing hormone antagonists, IVF*

## RIASSUNTO

Gli agonisti dell'ormone stimolante le gonadotropine (GnRH-a) vengono utilizzati largamente durante i cicli di fecondazione assistita. La loro continua somministrazione induce uno stato di desensibilizzazione dell'ipofisi, una condizione simile all'ipopituitarismo e di conseguenza ipogonadismo. Questa condizione indotta dai GnRH-a ha aperto nuove prospettive terapeutiche per le pazienti trattate per induzione della superovulazione. Infatti, la maggiore frustrazione era rappresentata dall'insorgenza di una ovulazione spontanea prodotta da un picco endogeno di ormone luteinizzante (LH). Tuttavia, l'uso dei GnRH-a non è privo di svantaggi. Infatti, la somministrazione degli agonisti del GnRH secondo il protocollo lungo necessita da due a tre settimane per ottenere l'ipogonadismo ipogonadotropo con conseguente aumento del periodo di trattamento e aumentata richiesta della quantità di gonadotropine. In alternativa al GnRH-a vengono oggi anche utilizzati gli antagonisti del GnRH. L'impiego degli antagonisti del GnRH per l'induzione della superovulazione porta ad una riduzione nella durata del trattamento e di conseguenza della quantità di gonadotropine utilizzate. Ancora da convalidare è il beneficio mostrato da alcuni studi sull'utilizzo degli antagonisti del GnRH nelle poor responders.

**Parole chiave:** *agonisti del GnRH, antagonisti del GnRH, fecondazione in vitro.*

## INTRODUZIONE

L'ormone stimolante il rilascio delle gonadotropine (GnRH) rappresenta il principale regolatore della funzione riproduttiva. Nel 1971, Andrew Schally e Roger Guillemin furono i primi ad isolare, caratterizzare e sintetizzare il GnRH, operazione che conferì a loro il premio Nobel. Successivamente, la sostituzione di molti aminoacidi presenti nella struttura iniziale del GnRH ha portato allo sviluppo degli agonisti del GnRH, composti caratterizzati da un'elevata affinità per i recettori, da una resistenza alla degradazione proteolitica e da una ridotta eliminazione renale. Prima dell'introduzione degli agonisti del GnRH nei cicli di fecondazione assistita, venivano utilizzate solamente preparazio-

ni contenenti gonadotropine come la gonadotropina umana menopausale (hMG), o l'ormone follicolo stimolante umano urinario (uFSH) per stimolare la crescita follicolare. La gonadotropina umana corionica è utilizzata infine per indurre la maturazione ovocitaria. In circa il 20% dei cicli l'utilizzo di solo gonadotropine comporta una sospensione del ciclo per un rialzo prematuro dell'ormone luteinizzante (LH) e una prematura ovulazione. Infatti, un rialzo dell'LH che avviene prima della completa maturazione follicolare può causare una prematura luteinizzazione delle cellule della granulosa che può essere evidenziata in alcuni casi da un aumento dei livelli circolanti di progesterone (1). In aggiunta, un prematuro rialzo dell'LH può danneggiare la maturazione ovocitaria con conseguente ridotto successo in termini di fecondazione e

gravidanza ed aumento di aborto spontaneo (2, 3).

Recentemente, nella pratica clinica, sono stati introdotti gli antagonisti del GnRH (GnRH-ant) che hanno un meccanismo d'azione completamente differente rispetto ai GnRH-a. Infatti, mentre gli analoghi del GnRH, dopo un iniziale effetto di stimolazione ipofisaria inducono una desensibilizzazione delle cellule gonadotropiniche e una riduzione del numero di recettori per il GnRH sulla membrana cellulare (down-regulation), gli antagonisti producono un immediato effetto bloccando in modo competitivo i recettori del GnRH. Con questo meccanismo d'azione, gli antagonisti inducono una soppressione acuta e rapida dell'LH senza un iniziale incremento dell'LH (4).

## AGONISTI DEL GnRH

### Razionale del loro utilizzo

Negli anni '80, per ovviare al picco prematuro dell'LH, nei cicli di induzione della superovulazione sono stati introdotti gli agonisti dell'ormone stimolante le gonadotropine (GnRH-a). L'introduzione di tali farmaci ha comportato un miglioramento dei cicli di induzione della superovulazione con una diminuzione dei cicli cancellati ed un aumento della percentuale di gravidanza clinica (5). Infatti, prima della disponibilità dei GnRH-a, circa il 20% dei cicli stimolati venivano cancellati per rialzo prematuro dell'LH. Inizialmente, la somministrazione degli agonisti del GnRH induce un'augmentata secrezione dell'FSH e dell'LH (effetto flare-up). La somministrazione prolungata invece, provoca una parziale desensibilizzazione dei recettori ipofisari del GnRH con conseguente soppressione della secrezione dell'FSH e dell'LH (6). L'aggiunta degli agonisti del GnRH nei cicli di stimolazione è associata ad un aumento del numero di ovociti recuperati e di embrioni trasferiti come dimostrano numerosi studi clinici (7-9). Lejeune e coll (10) mostrarono che un trattamento con GnRH-a più hMG comporta un maggior numero di ovociti recuperati (9.3 vs 6.2), un maggior numero di embrioni trasferiti (4.3 vs 2.8) e una più alta percentuale di gravidanza clinica (20% vs 14%) rispetto all'utilizzo della sola hMG. Ancora, una meta-analisi di Hughes e coll (5) mostra una riduzione del 67% dei cicli cancellati ed un aumento della percentuale di gravidanza clinica approssimativamente del 70%.

### Protocolli terapeutici

Attualmente sono in uso vari schemi di trattamento (protocollo lungo, corto, o ultracorto) (Figura 1). I protocolli corto e ultracorto, prevedono la somministrazione del GnRH-a contemporaneamente alle gonadotropine. Mentre nel protocollo corto il GnRH viene somministrato sino al giorno della somministrazione dell'hCG, nell'ultracorto la somministrazione viene interrotta più precocemente. I protocolli corti hanno il vantaggio di un trattamento di stimolazione più breve e quindi costi meno elevati.

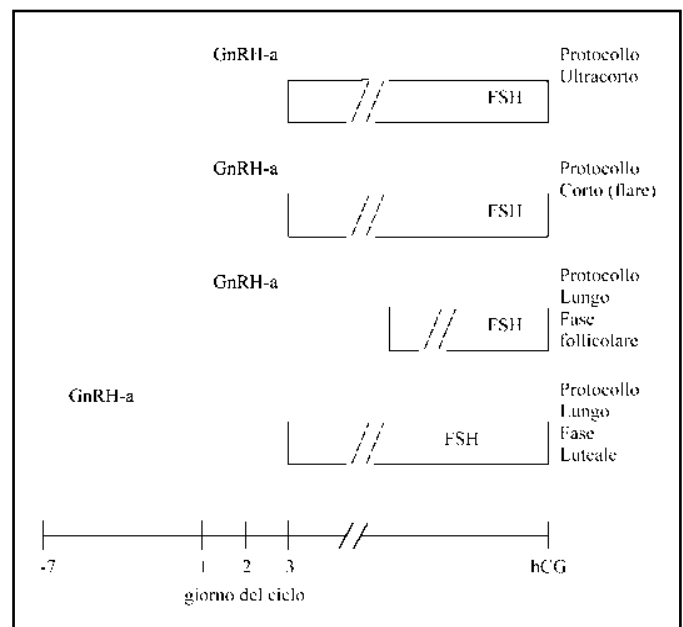
Il protocollo lungo, che consiste nella somministrazione del GnRH fino ad ottenere la soppressione dell'attività ovarica, è il metodo generalmente più efficace in accordo ad una meta-analisi di Daya (11) e quindi il più utilizzato nei centri di fecondazione assistita. Tale protocollo consiste nell'ottenere la completa soppressione ipofisaria prima di iniziare la stimolazione con gonadotropine. L'utilizzo del GnRH-a può avvenire tramite singola somministrazione in formulazione depot (3,75 mg, intramuscolare) o alternativamente tramite somministrazioni giornaliere (0.1 mg/die, sottocutanea). Ci sono due tipi di protocollo lungo: uno prevede la somministrazione del farmaco in fase follicolare precoce, l'altro in fase medio luteale del ciclo precedente. I due protocolli sono simili dal punto di vista dell'efficacia, tuttavia, iniziare la soppressione ipofisaria in

fase luteale permette un miglior timing per il ciclo di fecondazione in vitro. La somministrazione del GnRH-a in fase follicolare è preferibile nelle pazienti con oligomenorrea. Il protocollo lungo ha lo svantaggio di essere un trattamento di lunga durata e di costo elevato, necessitando di elevate dosi di gonadotropine per raggiungere la maturità follicolare (12). Inoltre, l'iniziale effetto flare-up determinato dalla somministrazione dei GnRH-a causa un rialzo transitorio dell'LH con conseguente produzione ovarica di androgeni che possono avere effetti dannosi sullo sviluppo follicolare e sulla funzione endometriale.

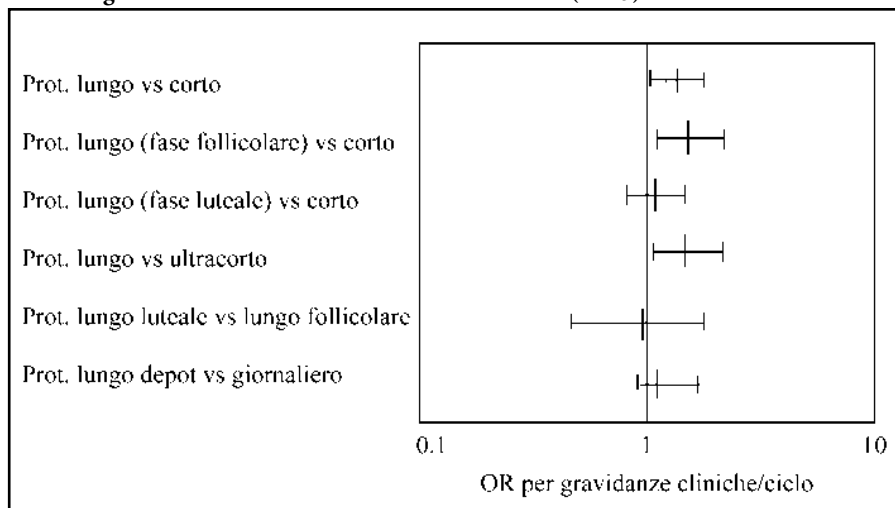
Sebbene il rationale per l'uso di ciascun protocollo è relativamente semplice la scelta di quale impiegare può essere più complessa. Sono stati pubblicati numerosi studi comparativi dei vari protocolli. In una review (13) sono stati confrontati 19 trials di confronto dei protocolli lungo e corto, 4 trials di confronto dei protocolli lungo ed ultracorto e 5 trials di confronto delle due varianti del protocollo lungo. Inoltre sono stati inclusi 10 trial di confronto tra la somministrazione del GnRH-a in formulazione depot e quelle di dosi giornaliere. I risultati depongono per una superiorità del protocollo lungo rispetto ai protocolli corto ed ultracorto in termini di probabilità di concepimento dopo fecondazione in vitro (Figura 2). Non sono emerse differenze statisticamente significative tra le due varianti del protocollo lungo e tra le varie formulazioni degli agonisti. La ragione della superiorità del protocollo lungo è stata ricondotta al possibile innalzamento dei livelli di LH e quindi ad una parziale stimolazione del corpo luteo del ciclo precedente quando l'agonista viene somministrato nei protocolli corto ed ultracorto (14). L'aumentata produzione di androgeni può comportare un danneggiamento della follicologenesi. Inoltre, nei protocolli corti il grado della soppressione di LH è variabile ed è stato osservato che il 5-10% dei cicli possa essere da un picco prematuro di LH (13, 15).

Infine sebbene dalla review su citata (13) non emergono differenze significative tra la somministrazione depot e giornaliera dei protocolli lunghi, da altri autori è stata riportata una percentuale di impianto significativamente maggiore nei protocolli lunghi con somministrazione giornaliera (16-17). Infatti la formulazione depot potrebbe esporre gli ovociti in maturazione e successivamente gli embrioni trasferiti a più alte concentrazioni di GnRH-analogo circolante (16-17). Inoltre, dopo il

**Figura 1: Rappresentazione schematica dei differenti protocolli di utilizzo degli agonisti del GnRH nei cicli di Fecondazione in Vitro.**



**Figura 2: Risultati complessivi (overall results = OR) di differenti meta-analisi di protocolli con analoghi del GnRH in cicli di Fecondazione in Vitro (da 13).**



raggiungimento della soppressione ipofisaria le dosi di GnRH-a necessarie per mantenere la soppressione diminuiscono nel tempo; la somministrazione giornaliera rispetto alla depot può consentire una riduzione delle dosi e quindi della durata d'azione.

La scelta del protocollo corto è stata proposta come alternativa al protocollo lungo nelle pazienti definite "poor responder". Il razionale di questa scelta è nello sfruttare l'effetto "flare-up" che si osserva con l'inizio dei GnRH-a nella fase follicolare precoce del ciclo mestruale. Studi clinici sull'impiego di questo tipo di trattamento nelle poor responders, hanno mostrato dati discordanti. Alcuni infatti, hanno riscontrato un miglioramento della percentuale di impianto e di gravidanza con il regime flare-up rispetto al protocollo lungo (18-20), mentre altri hanno evidenziato risultati peggiori (21-23). Risultati incoraggianti ma ancora preliminari sono quelli ottenuti utilizzando una microdose giornaliera di GnRH-a sia nel flare-up sia nel protocollo lungo (24).

## ANTAGONISTI DEL GnRH

### Razionale del loro utilizzo

Gli antagonisti del GnRH, dato il loro meccanismo d'azione, non determinano gli svantaggi legati alla profonda soppressione ipofisaria che si ottiene invece con gli analoghi. Gli antagonisti del GnRH sopprimono la secrezione dell'LH in maniera dose-dipendente. A piccole dosi la soppressione dell'LH è minima mentre a dosi elevate può essere raggiunta una completa soppressione dell'LH. In uno studio multicentrico, doppio cieco, randomizzato (25), la dose minima di GnRH-ant (0.25 mg) era in grado di inibire il picco dell'LH e comportare risultati migliori in termini di percentuale d'impianto rispetto alla dose più alta di 2 mg. Questi dati supportano l'importanza dell'FSH e dell'LH nello sviluppo follicola-

re. Infatti, la produzione ovarica di estradiolo richiede l'azione coordinata dell'LH sulle cellule della teca a stimolare la produzione di androstenedione e dell'FSH sulle cellule della granulosa per l'aromatizzazione dell'androstenedione in estrogeni. Elevate dosi di GnRH-ant possono inibire completamente la secrezione dell'LH comportando una riduzione dell'androstenedione follicolare e di conseguenza dell'estradiolo.

### Protocolli terapeutici

Tali farmaci possono essere somministrati o a piccole dosi giornalmente (0.25 mg) durante la fase follicolare precoce o media di un ciclo di stimolazione (26) oppure in dose singola (3 mg) approssimativamente l'ottavo giorno del ciclo (27). Entrambi i regimi bloccano il rialzo spontaneo dell'LH. L'introduzione nella pratica clinica dei GnRH-ant mostra una riduzione del periodo di trattamento, del numero di fiale di

gonadotropine utilizzate e dell'incidenza della sindrome di iperstimolazione ovarica. Queste caratteristiche sono convalidate da una review di studi clinici randomizzati che confrontano l'efficacia dei GnRH-ant con il protocollo lungo dei GnRH-a in cicli di induzione della superovulazione (28). Non vi erano differenze statisticamente significative riguardo la prevenzione del picco dell'LH. Tuttavia, il numero di ovociti recuperati e di embrioni trasferiti era consistentemente minore nei soggetti trattati con l'antagonista a fronte di una minore quantità di gonadotropine utilizzate e di una minore durata della stimolazione (28). Questi dati, insieme alle minori concentrazioni di estradiolo sierico durante la stimolazione con l'antagonista, può supportare l'ipotesi che gli antagonisti del GnRH interagiscano con il programma mitotico delle cellule coinvolte nella follicologenesi, nella formazione dei blastomeri e sullo sviluppo endometriale (29-30).

Un possibile utilizzo degli antagonisti del GnRH è stato proposto nell'induzione della superovulazione in pazienti definite poor responders. Attualmente, esistono pochi studi di comparazione tra il protocollo con GnRH-a (in regime flare-up) e l'utilizzo degli antagonisti. Nello studio randomizzato di Akman e coll (31) non vi erano differenze nella dose media totale di FSH e di hMG utilizzata nelle pazienti poor responders trattate con una microdose di GnRH-a in regime di flare-up e in quelle trattate con gli antagonisti. Inoltre non vi erano differenze nel numero di ovociti recuperati, di embrioni trasferiti e del tutto simile era la percentuale di impianto e di gravidanza. In un altro recente studio (32) sull'utilizzo degli antagonisti del GnRH nelle pazienti poor responders, dal confronto tra protocollo con GnRH-a in regime flare-up e protocollo con antagonista emerge invece una significativa riduzione dei cicli cancellati ed una maggior percentuale di gravidanze in corso in pazienti trattate con l'antagonista.

## BIBLIOGRAFIA

1. Barbieri RL, Hornstein MD. Assisted reproduction-in vitro fertilization success is improved by ovarian stimulation with exogenous gonadotropins and pituitary suppression with gonadotropin-releasing hormone analogues. *Endocrine Reviews* 1999; 20:249-52.
2. Yen SSC. Clinical application of gonadotropin releasing hormone and gonadotropin releasing hormone analogs. *Fertil Steril* 1983; 39:257-66.
3. MacLachlan V, Besanko M, O'Shea F, et al. A controlled study of luteinizing hormone releasing hormone agonist (buserelin) for the induction of folliculogenesis before in vitro fertilization. *N Engl J Med* 1989; 320:1233-7.

4. Diedrich K, Diedrich C, Santos E, et al. Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotropin releasing hormone antagonist cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1994; 9:788-91.
5. Hughes EG, Federkow DM, Daya S, et al. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Fertil Steril* 1992; 58:888-96.
6. Rabin D, McNeil LW. Pituitary and gonadal desensitisation after continuous luteinizing hormone-releasing hormone infusion in normal females. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:873.
7. Fleming R, Coutts JRT. Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. *Fertil Steril* 1986; 45:226.
8. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, et al. Routine pituitary suppression with leuprolide before ovarian stimulation for oocytes retrieval. *Fertil Steril* 1989; 51:455-9.
9. Testart J, Lefevre B, Gougeon A. Effects of gonadotropin releasing hormone agonists (GnRHa) on follicle and oocyte quality. *Hum Reprod* 1993; 8:511-8.
10. Lejeune B, Barlow P, Puissant F, et al. Use of buserelin acetate in an in vitro fertilization program ; a comparison with classical clomiphene citrate-human menopausal gonadotropin treatment. *Fertil Steril* 1990; 54:475-81.
11. Daya S. Long versus short gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitisation in assisted reproduction cycles. In: *The Cochrane Library*, 3, 1999. Oxford: Update Software.
12. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, et al. The single or dual administration of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix in an in-vitro fertilisation-embryo transfer program. *Fertil Steril* 1994; 62:468-76.
13. Daya S. Optimal protocol for gonadotrophin releasing hormone agonist use in ovarian stimulation. In: *In vitro Fertilization and Assisted Reproduction* (Gomel V, Cheung PCK, eds.) Bologna (Italy): Monduzzi Editore 1997;405-15.
14. Filicori M, Flamini C, Cognini GE, et al. Different gonadotrophin and leuprolin ovulation induction regimens markedly affect follicular hormone levels and folliculogenesis. *Fertil Steril* 1996; 65:387-93.
15. Tan SL. Gonadotrophin-releasing hormone agonists in assisted reproductive therapy. *Hum Reprod* 1996; 11(suppl):137-42.
16. Vauthier D, Lefebvre G. the use of gonadotrophin-releasing hormone analogs for in vitro fertilization: comparison between the standard form and long-acting formulation of D-Trp-6-luteinizing hormone-releasing hormone. *Fertil Steril* 1989; 51:100-4.
17. Devreker F, Govaerts I, Bertrand E, Van den Bergh M, et al. The long-acting gonadotrophin-releasing hormone analogues impaired the implantation rate. *Fertil Steril* 1996; 65:122-6.
18. Toth T, Awwad J, Veeck L, et al. Suppression and flare regimens of gonadotropin-releasing hormone agonist: use in women with different basal gonadotropin values in an in vitro fertilization program. *J Reprod Med* 1996; 41:321-6.
19. Garcia J, Padilla S, Bargati J, et al. Follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist and human gonadotropins: a better alternative for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990; 53:302-5.
20. Katayama K, Roesler M, Gunmarson G, et al. Short-term use of gonadotropin-releasing hormone agonist (leuprolide) for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1988; 5:332-7.
21. Brzyski R, Muasher S, Droesch K, et al. Follicular atresia associated with concurrent initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist and follicle-stimulating hormone for oocyte recruitment. *Fertil Steril* 1988; 50:917-21.
22. Gindoff P, Hall J, Stillman R. Ovarian suppression with leuprolide acetate: comparison of luteal, follicular, and flare-up administration in controlled ovarian hyperstimulation for oocyte retrieval. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1990; 7:94-7.
23. Anserini P, Magnasco A, Remorgida V, et al. Comparison of a blocking vs. a flare-up protocol in poor responders with a normal and abnormal clomiphene citrate challenge test. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11:321-6.
24. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000; 73:667-76.
25. Mannaerts B, Devroey P, Abyholm T, et al. A double-blind randomized dose finding study to assess the efficacy of the gonadotropin releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon-R). *Hum Reprod* 1998; 13:3023-31.
26. Albano C, Smits J, Camus M, et al. Comparison of different doses of gonadotropin releasing hormone antagonist cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1997; 67:917-22.
27. Olivennes F, Alvarez S, Bouchard P, et al. The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix-R) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 vs. 2 mg. *Hum Reprod* 1998; 13:2411-4.
28. Al-Inany H, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception. In: *The Cochrane Library*, Issue 3; 2004.
29. Hernandez ER. Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonist. *Hum Reprod* 2000; 15:1211-6.
30. Mannaerts B, Gordon K. Embryo implantation and GnRH antagonists: GnRH antagonists do not activate the GnRH receptor. *Hum Reprod* 2000; 15:1882-3.
31. Akman MA, Erden HF, Tosun SB, et al. Comparison of agonist flare-up- protocol and antagonist multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomised trial. *Hum Reprod* 2001; 16:868-70.
32. Copperman AB. Antagonists in poor-responder patients. *Fertil Steril* 2003; 80:S16-S24.