

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Lorena Petrač

**Analozi gonadotropin oslobađajućeg
hormona u humanoј reprodukciji**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2015.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Lorena Petrač

**Analizi gonadotropin oslobađajućeg
hormona u humanoj reprodukciji**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za ginekologiju i opstetriciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu; Zavodu za humanu reprodukciju, ginekološku endokrinologiju i menopauzu Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb pod vodstvom prof.dr.sc. Branka Radakovića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014./2015.

POPIS SKRAĆENICA

GnRH	Gonadotropin oslobađajući hormon (engl. Gonadotropin releasing hormone)
GnRHR	Receptor za gonadotropin oslobađajući hormon
FSH	Folikulostimulirajući hormon
LH	Luteinizirajući hormon
MPO	Medicinski potpomognuta oplodnja
OHSS	Ovarijski hiperstimulacijski sindrom (engl. Ovarian hyperstimulation syndrome)
PCOS	Sindrom policističnih jajnika (engl. Polycystic ovarian syndrome)
IVF	In vitro fertilizacija
HMG	Humani menopauzalni gonadotropin
HCG	Humani korionski gonadotropin
AMH	Anti-Müllerov hormon
AFC	Broj antralnih folikula (engl. Antral follicle count)

SADRŽAJ

I. SAŽETAK.....	
II. SUMMARY	
1. UVOD.....	1
2. ENDOGENI GNRH.....	2
2.1. Općenite karakteristike.....	2
2.2. Proizvodnja i mehanizam djelovanja	2
2.3. Pulsantnost	4
2.4. Desenzibilizacija	5
2.5. Indukcija ovulacije pulsantnim GnRH	6
2.5.1 Indikacije	6
2.5.2. Metodologija	7
2.5.3. Uspješnost liječenja	8
3. GNRH ANALOZI	9
3.1. AGONISTI GNRH	10
3.1.1. Molekularna građa.....	10
3.1.2. Mehanizam djelovanja	11
3.1.3. Indukcija ovulacije agonistima GnRH.....	11
3.1.4 Protokoli indukcije ovulacije	12
3.1.4.1. Ultrakratki protokol	14
3.1.4.2. Kratki protokol	14
3.1.4.3. Dugi protokol.....	14
3.1.4.4. Rezultat.....	15

3.1.5. Primjena u sindromu policističnih jajnika	16
3.1.6. Primjena u endometriozu	17
3.1.7. Primjena kod mioma uterusa	18
3.1.8. GnRH agonisti u primjeni.....	19
3.1.9. Nuspojave	20
3.1.9.1. Cistične formacije.....	20
3.1.9.2. Ovarijski hiperstimulacijski sindrom.....	21
3.1.9.3. Defekt lutealne faze	21
3.2. ANTAGONISTI GNRH	22
3.2.1. Molekularna građa i mehanizam djelovanja.....	22
3.2.2. Stimulacija ovulacije primjenom GnRH antagonista.....	23
3.2.2.1. Indukcija ovulacije agonistima GnRH u protokolu antagonistima GnRH	24
3.2.3. Ostale indikacije antagonista GnRH	26
3.2.4. Nepeptidni antagonisti GnRH	27
4. ZAKLJUČAK.....	29
5. ZAHVALE.....	30
6. LITERATURA.....	31
7. ŽIVOTOPIS.....	34

I. SAŽETAK

Naslov rada: Analizi gonadotropin oslobađajućeg hormona u humanoj reprodukciji

Autor: Lorena Petrač

GnRH agonisti i antagonisti su skupine sintetskih spojeva, a nastali su zbog supstitucijskih promjena na različitim pozicijama u molekuli endogenog GnRH. Imaju veću biološku stabilnost i povećan afinitet za GnRH receptor u odnosu na prirodni GnRH. GnRH agonisti inicijalno povećavaju sekreciju gonadotropina iz hipofize („flare-up“ efekt) dok u drugoj fazi dovode do supresije hipofizne funkcije i gonadotropinske sekrecije. Antagonisti GnRH se kompetativno vežu na GnRH receptore i preveniraju stimulirajući učinak endogenog GnRH za stvaranje gonadotropina. Tim mehanizmom se izbjegava početni skok gonadotropina. Glavna zadaća GnRH analoga u stimulaciji ovulacije jest sprječavanje preranog skoka LH. GnRH agonisti koriste se u sklopu ultrakratkog, kratkog i dugog protokola stimulacije ovulacije u ciklusima za in vitro fertilizaciju (IVF). Njihova primjena je povezana sa značajnim smanjenjem neuspjelih ciklusa, povećanim brojem zrelih oocita i dobivenih embrija te većim brojem uspješno postignutih trudnoća. Nuspojava liječenja u dugom protokolu jest stvaranje folikularnih cista. Ovarijski hiperstimulacijski sindrom (OHSS) je najopasnija nuspojava stimulacije ovulacije. Rizik pojave OHSS-a se ne umanjuje primjenom agonista GnRH. Protokoli GnRH antagonistima imaju određene prednosti, kao što su kraći period stimulacije, trajanje liječenja i manje nuspojave te značajnije niži rizik OHSS-a. Na temelju dosadašnjih rezultata, broj postignutih trudnoća nakon IVF-a ne ovisi o vrsti primijenjenog analoga u protokolima stimulacije ovulacije. Ostale indikacije za primjenu GnRH analoga u humanoj reprodukciji su u sklopu liječenja endometrioze i mioma maternice.

Ključne riječi: GnRH agonisti, GnRH antagonisti, stimulacija ovulacije

II. SUMMARY

Title: Gonadotropin releasing hormone analogs in human reproduction

Author: Lorena Petrač

GnRH agonists and antagonists are a group of synthetic compounds resulting from natural GnRH through amino acid substitution on different positions. They have greater biological stability and a more increased affinity for the receptors than natural GnRH. GnRH agonists initially increase gonadotropin secretion from pituitary cells, known as the flare-up effect, followed by suppression of pituitary function and gonadotropin secretion due to down-regulation of GnRH receptors. GnRH antagonists bind competitively to the receptors and prevent the endogenous GnRH from exerting its stimulatory effect on the pituitary cells, thus avoiding any flare-up effect. The main purpose of GnRH analogs use in ovarian stimulation is the prevention of untimely LH surges. GnRH agonists can be administered according to the ultra-short, short and long protocols. The use of GnRH agonists in cycles stimulated for assisted reproductive techniques (ART) is associated with the significant decrease in the cancellation rates, an increase in the number of oocytes and embryos obtained and higher pregnancy rates. Follicle cyst formation is an undesired side effect of agonist administration when long protocol is used. OHSS is the most serious side effect of the ovarian stimulation and its occurrence cannot be avoided by GnRH agonist administration. Antagonist protocols have clear advantages, such as a shorter stimulation period, no sexual steroid withdrawal symptoms and significantly lower rate of OHSS. Based on recent results, pregnancy rate after IVF does not depend on the type of applied analogs in ovarian stimulation protocols. Other indications of GnRH analogs in human reproduction are for treatment of endometriosis and uterine fibroids.

Key words: GnRH agonists, GnRH antagonists, ovarian stimulation

1. UVOD

GnRH analozi se po prvi puta pojavljuju prije tridesetak godina. Prethodno, 1971. godine izoliran je GnRH, vitalno važan hipotalamički hormon koji višestruko sudjeluje u kontroli i regulaciji gonadalne funkcije te humane reproduktivne sposobnosti. On se pulsirajuće oslobađa iz hipotalamičkih neurona u područje adenohipofize gdje se veže na GnRH receptore na gonadotropnim stanicama te posljedično uzrokuje, ali i regulira sintezu i sekreciju hipofiznih gonadotropina, folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH). GnRH može i negativno djelovati na sekreciju gonadotropina ako postoji dugodjelujuća kontinuirana vezanost za receptor, što se onda klinički očituje hipogonadalnim hipogonadizmom. Nakon otkrića njegove molekularne strukture, otvorena su široka vrata razvoju sintetskih spojeva analoga GnRH. Do danas su razvijeni mnogobrojni spojevi koji se odlikuju poboljšanim svojstvima u odnosu na prirodni GnRH – imaju povećan afinitet za receptor i bolju biokemijsku stabilnost. U analoge GnRH ubrajamo agoniste i antagoniste, između kojih postoje razlike u mehanizmu djelovanja. Obje skupine su pronašle svoje mjesto u kliničkoj primjeni. Inhibitorni učinak iskorišten je u liječenju hormonalno ovisnih tumora u žena i muškaraca, u liječenju endometrioze, sindroma policističnih jajnika te ostalih benignih stanja čiji rast je potaknut spolnim hormonima. Analози GnRH koriste se i u protokolima stimulacije ovulacije zbog prevencije prijevremenog porasta endogenog LH. Primjena GnRH analoga u protokolima stimulacije ovulacije za IVF značajno je pridonijela porastu uspješnosti takvih postupaka.

2. ENDOGENI GNRH

2.1. Općenite karakteristike

Gonadotropin oslobađajući hormon (GnRH, engl. gonadotropin releasing hormone), jedan je od najvažnijih hormona u organizmu, neophodan u održavanju normalne reproduktivne funkcije. Glavna zadaća mu je regulacija sekrecije folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) iz adenohipofize. Po svojoj kemijskoj strukturi je dekapeptid, građen od 10 aminokiselina. Neka svojstva, kao što su stabilnost i afinitet prema receptorima ili biološka aktivnost određena su rasporedom aminokiselina u spoju. Otkriće njegove strukture, još davne 1971. godine, postala je podloga razvoju sintetskih analoga sa svojom znanstvenom i farmaceutskom perspektivom. Postoje 23 strukturne varijante hormona opisane u beskralježnjaka i kralježnjaka dok se u kralježnjaka pojavljuju tri tipa hormona: GnRH-I koji regulira hipotalamo-hipofiznu os i otpuštanje gonadotropina, GnRH-II koji se oslobađa u centralnom i perifernom živčanom sustavu, a smatra se da djeluje kao neuromodulator, te GnRH-III koji se pronalazi samo kod nekih vrsta riba. GnRH-I se još naziva i klasičnim, a do danas je jedini poznati koji ima sposobnost vezivanja hipofiznog receptora i stimulacije hipofiznih hormona FSH i LH. Iz tog razloga će se u daljnjem tekstu govoriti isključivo o tom klasičnom tipu. Njegov plazmatski poluvijek života je oko 4 minute.

2.2. Proizvodnja i mehanizam djelovanja

GnRH se proizvodi u neuronima hipotalamusa, no najviše u području n.arquatusa. Od tuda se prenosi živčanim aksonima u eminenciju medianu putem

tuberoinfundibularnog trakta gdje završava u bogatoj kapilarnoj mreži portalnog krvotoka. Taj venozni pleksus seže do adenohipofize, područja hipofize u kojem se nalaze gonadotropne stanice koje na svojoj površini sadrže receptore za GnRH (GnRHR). Upravo je vezivanje GnRH na svoj receptor inicijalni događaj važan za stimulaciju FSH i LH. U sisavaca su otkrivena dva tipa receptora za GnRH: GnRH tip 1 i GnRH tip 2. U čovjeka je vezivanje GnRH na receptor tip 1, kao svoj optimalni ligand, jedino moguće. Taj receptor spada u porodicu receptora spregnutih sa G-proteinom (GPCR, engl. G-protein coupled receptors) koje karakterizira sedam transmembranskih dijelova, odnosno toliko puta zavija i prolazi kroz staničnu membranu. Dolaskom na svoj receptor GnRH se veže na mjesto okruženo transmembranskim regijama proteina. Receptor aktivira G-protein smješten na citoplazmatskoj strani membrane. Ključni je korak aktivacija membranskog enzima fosfolipaze C koja malu fosfolipidnu komponentu stanične membrane, fosfatidilinozitol-4,5-difosfat (PIP_2), cijepa na dva druga glasnika – diacilglicerol (DAG) i inozitol-1,4,5-trifosfat (IP_3). DAG ostaje vezan na membranu i aktivira protein kinazu C (PK-C) koja je osjetljiva na fosfolipide i kalcij. IP_3 difundira kroz citoplazmu te aktivira svoje specifične receptore – o receptoru ovisne kalcijске kanale. To rezultira otpuštanjem kalcija, koji nadalje vezanjem za protein kalmodulin regulira aktivnost drugih enzima, uključujući proteinske kinaze ovisne o kalciju. Taj signalni proces rezultira stimulacijom sinteze hormona FSH i LH i njihovim otpuštanjem iz hipofize u sistemnu cirkulaciju. S druge strane, vezivanje GnRH za svoj receptor također aktivira signalni put cikličkog AMP-a (cAMP) koji preko enzima protein kinaze stimulira proizvodnju proteina. Rezultat toga je sinteza faktora važnih u podizanju unutarstaničnog odgovora na GnRH. Zaključno, u fiziološkim uvjetima postoji „up-

regulacija“, odnosno GnRH ima sposobnost sam podizati broj svojih receptora na površini gonadotropnih stanica.

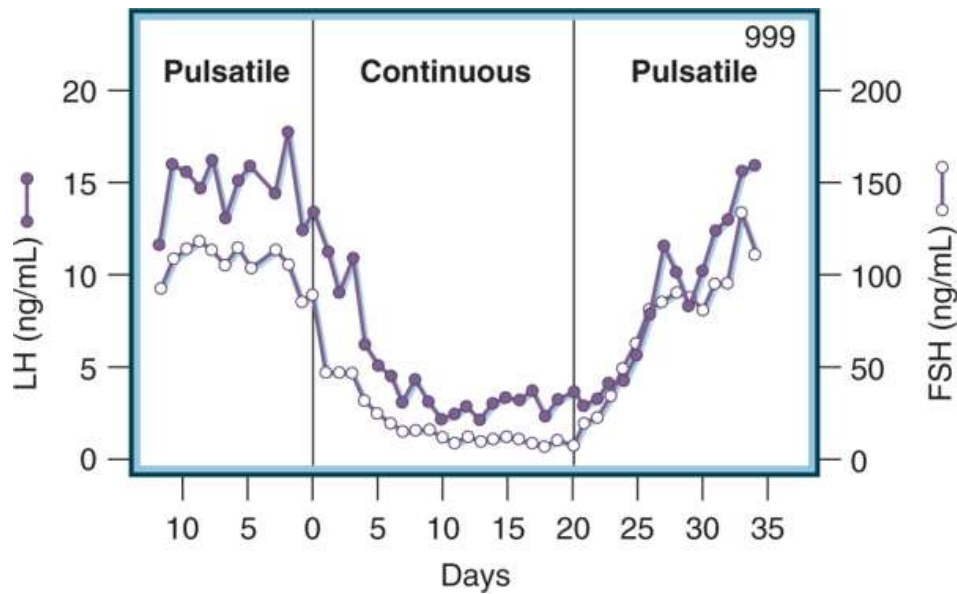
2.3.Pulsantnost

Pulsantnost ili skokovito otpuštanje prvo je primijećeno kod gonadotropinskih hormona u žena i muškaraca, gdje je uočeno da postoji epizodna sekrecija svakih 1 do 4 sata. Zatim se vidjelo da je taj proces usko povezan sa sinkronim epizodnim otpuštanjem GnRH iz neurona n.arcuatusa koji se često nazivaju i hipotalamičkim „pulsnim generatorima“. Pulsantnost nastaje zbog međusobne kompleksne interakcije signala neurotransmitera i neuromodulatora. To skokovito oslobađanje je glavni faktor gonadotropinske sekrecije te se pulsacije istovjetno prenose na FSH i LH. Skokovita neurosekrecija GnRH počinje neposredno pred pubertet – prvo se zamjećuje noću u vrijeme sna. Taj proces traje sve dok se ne uspostave normalne fiziološke oscilacije, dobije menarha i regulira normalan menstrualni ciklus. Isto tako, nakon menopauze se i dalje nastavlja skokovito otpuštanje LH i FSH te se pojavljuje svakih sat do dva. U normalnom ovarijskom ciklusu čovjeka, razina plazmatskog LH pokazuje pulsantnost svaki sat u folikularnoj fazi, a svaka 4 sata tijekom lutealne faze. FSH se također pulsantno oslobađa tokom cijelog menstrualnog ciklusa. Pulsacije su određene frekvencijom i amplitudom. Tokom folikularne faze postoji viša frekvencija i niža amplituda, dok je u lutealnoj fazi obrnuto, frekvencija je niža, a amplituda viša. Iz tog razloga bilo kakav poremećaj u pulsantnom oslobađanju GnRH, spora ili visoka frekvencija skokova ili trajno povišene amplitude GnRH, dovodi do odstupanja u normalnom menstrualnom ciklusu

žene i reproduktivnoj funkciji što se može očitovati raznolikim patološkim stanjima – anovulacijama i amenorejama.

2.4. Desenzibilizacija

U prethodnom odlomku objašnjena je važnost fiziološkog skokovitog otpuštanja hormona u menstrualnom ciklusu. No, u situacijama kad postoji trajna kontinuirana stimulacija sa GnRH, bilo da se radi o prirodnom hormonu ili njegovim sintetskim analogima, dolazi do pojave neosjetljivosti receptora, tj. desenzibilizacije što rezultira smanjenjem sinteze i otpuštanja gonadotropina. To stanje nazivamo „down-regulacija“, odnosno negativna aktivnost GnRH prema svojim receptorima (Slika 1). U početku će kao odgovor nastati povećano lučenje hormona FSH i LH iz hipofize, ali nakon nekog vremena će njihova koncentracija u plazmi početi opadati bez obzira na prisutnost GnRH. Gledano na molekularnoj razini, desenzibilizacija uključuje odvajanje receptora od svojeg G-proteina s gubitkom nižih signalnih puteva, a nastaje zbog fosforilacije C terminalnog kraja receptora. Iako fiziološki gledano desenzibilizacija uzrokuje poremećaj normalne funkcije reproduktivnog sustava čovjeka, našla je važno mjesto u kliničkoj primjeni. Tako održavana nepulsirajuća primjena GnRH ili njegovih analoga kod žena i muškaraca dovodi do gonadalne supresije i hipogonadizma što je u nekim kliničkim stanjima i terapijski cilj - naziva se još i reverzibilna medicinska gonadektomija. Jedan od primjera je liječenje hormonalno ovisnog karcinoma prostate kod muškaraca i liječenje mioma, hormonalno ovisnih vrsta raka te endometrioze kod žena.



Slika 1. Efekt pulsantnost pri administraciji GnRH, u odnosu na kontinuiranu primjenu - desenzibilizacija (Prema: Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, et al. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin releasing hormone. Science 1978; 202:631-633.)

2.5. Indukcija ovulacije pulsantnim GnRH

2.5.1 Indikacije

Glavna indikacija za primjenu egzogenog GnRH jest njegova endogena deficijentnost, a posljedično tome snižena je razina gonadotropina, ali i estradiola i prolaktina. Poremećaji koji dovode do smanjene proizvodnje endogenog hormona primjer su hipogonadotropnog hipogonadizma hipotalamičkog središta pa većina pacijentica sa hipogonadalnom amenorejom ima takav suprapituitarni defekt. U ovu skupinu svrstavaju se tumori hipotalamusa koji su veoma rijetki tumori središnjeg živčanog sustava. Najčešći među njima je supraselarni kraniofaringeom koji se redovito povezuje sa niskom razinom GnRH. Kallmanov sindrom osim navedene

deficijencije hormona uključuje anosmiju, a posljedica je poremećaja koji nastaje u toku embrionalne migracije neurona iz olfaktorne regije u područje n.arquatusa. Ne smiju se zaboraviti i drugi mogući uzroci hipogonadotropne amenoreje - izloženost stresnim situacijama, gubitak tjelesne težine, naporna tjelovježba te anorexia nervosa. Sva ta patološka stanja dovode do smanjenja plodnosti žene i mogućnosti postizanja trudnoće. Prednost liječenja pulsantnim GnRH u odnosu na klomifen citrat jest u svim slučajevima hipogonadotropnog hipogonadizma koji je udružen s niskom razinom estrogenske aktivnosti te kada je isključena hipofizna patologija. Uspješnost indukcije ovulacije i postizanja trudnoće nakon pulsantne primjene GnRH je 90% nakon 12 menstrualnih ciklusa.

2.5.2. Metodologija

Kada je indicirana potreba za GnRH zbog njegovog endogenog nedostatka, primjenjuje se sintetski GnRH, koji je po svojem molekularnom sastavu jednak prirodnom GnRH. Poluvijek života mu je 4 minute. Važno je napomenuti da se GnRH mora primjenjivati skokovito, odnosno, mora se imitirati fiziološka pulsantnost oslobađanja. Za to se koriste male peristaltičke pumpe. Primjena može biti intravenozna ili supkutana. Pri odabiru intravenoznog puta, postavlja se kateter u kubitalnu venu. Potrebno je osigurati adekvatne sterilne uvjete te u tom slučaju kateter može ostati nekoliko mjeseci. Kod supkutane primjene, kateter se postavlja u području donjeg kvadranta abdomena ili u područje nadlaktice. Pri odabiru adekvante doze cilj je postići optimalnu ravnotežu između folikulogeneze, ovulacije, luteinizacije, i multiplih trudnoća. Postignut je dogovor da se u početku daje pulsna doza od 5 µg u intervalu od 120 minuta što ne mora rezultirati indukcijom ovulacije, no ako se ona i postigne spriječena je mogućnost multiplih trudnoća. Zatim se doza povisuje na 10

μg svakih 90-120 minuta. Uspjeh neće biti vidljiv nakon prve primjene jer je potrebno određeno vremensko razdoblje pa čak i mjeseci dok se ne postignu pravilni ovulatorni menstrualni ciklusi s adekvatnom lutealnom funkcijom. To zahtijeva strpljenje kako pacijenta tako i liječnika.

2.5.3. Uspješnost liječenja

Do sad provedena istraživanja dokazala su visok stupanj uspješnosti liječenja hipogonadotropne amenoreje supraselarnog ishodišta. Pravovaljano postavljena dijagnoza te indikacija za liječenje sa pulsantnim GnRH pospješuju pojavu trudnoće za 80% nakon 6 ciklusa, a za čak 93% nakon 12 provedenih ciklusa. Preporuka je nastaviti liječenje još najmanje 12 ciklusa.

3. GNRH ANALOZI

Nakon izolacije, identifikacije i sinteze GnRH 70-tih godina 20.stoljeća došlo je do interesa za njegovo daljnje istraživanje. Poznavanje molekularne građe, fiziološke funkcije i ponašanja gonadotropin oslobađajućeg hormona dovelo je do velikog napretka u razvoju potentnijih sintetskih analoga - agonista i antagonista. Kod obje skupine je prepoznata njihova inhibitorna funkcija na sekreciju gonadotropina pri neskokovitoj primjeni.

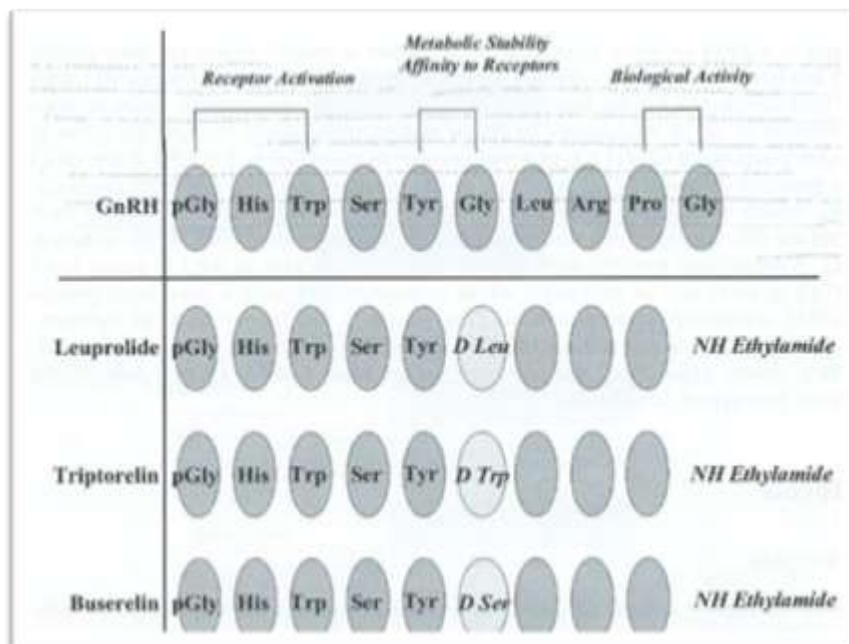
Te spoznaje su postale osnova u daljnjem istraživanju i razvoju 4 strategije (Lunenfeld, GnRH analogs in human reproduction, 2005):

1. Supresija spolnih hormona u bolestima koje ovise o istima – metastatski karcinom prostate, hormonalno ovisni karcinom dojke i endometrija, endometrioza i miomi maternice;
2. Inhibicija prijevremene pojave pulsantnosti GnRH u centralnom prijevremenom pubertetu ili odgađanje normalnog početka pulsantnosti GnRH zbog sprječavanja zatvaranja epifiznih pukotina kod djece usporena rasta;
3. Kontrola dinamike otpuštanja gonadotropina u indukciji ovulacije ili superovulacije – liječenje anovulacije, sindroma policističnih jajnika;
4. Istraživanje lokalnog utjecaja GnRH agonista na tkiva koja izražavaju GnRH receptore (neki malignomi, miomi maternice);

3.1. AGONISTI GNRH

3.1.1. Molekularna građa

Zbog poznate molekularne građe endogenog GnRH otvorila se mogućnost sinteze njegovih agonista koji bi imali jednaku funkciju, ali bi bili višestruko potentniji. GnRH analozi su grupa spojeva kod kojih je došlo do supstitucije aminokiseline na poziciji 6 i/ili na poziciji 10. Cijepanje desete aminokiseline, glicina, dovodi do gubitka biološke funkcije spoja do 90%. Adicija NH-etilamida na 9. aminokiselinu, prolin, ponovno uspostavlja funkciju. Zajedno sa promjenom na lokalizaciji 6 dolazi do stvaranja potentnog spoja (Slika 2). Tako sintetizirani spojevi GnRH imaju veću biološku stabilnost i povećavaju afinitet za GnRH receptore na gonadotropnim stanicama od endogenog GnRH.



Slika 2. Raspored aminokiselina u molekuli GnRH i promjene u molekularnoj građi kod glavnih agonista (European Practice in Gynaecology and Obstetrics:Ovulation induction, 2002.)

3.1.2. Mehanizam djelovanja

Za razliku od prirodnog GnRH, sintetski agonisti zbog svojeg jačeg afiniteta i bolje biološke stabilnosti ostvaruju prolongiranu agonističku akciju na receptorima GnRH. Na početku je odvijanje tog procesa identično mehanizmu endogenog GnRH. Dolazi do pojačane sinteze i otpuštanja gonadotropina u sistemsku cirkulaciju te njihove posljedične povišene koncentracije u plazmi. Taj se proces naziva buktanje (engl. flare-up). Produljena aktivnost GnRH agonista na receptorima nakon nekog vremena dovodi do supresije hipofizne funkcije i gonadotropinske sekrecije. To je posljedica pada osjetljivosti receptora na podražaj agonistima i inhibicije postreceptorskih mehanizama koji su odgovorni za sintezu i otpuštanje LH i FSH. Ta desenzibilizacija je reverzibilan fenomen te se hipofizna funkcija ponovo uspostavlja nakon oslobađanja receptora od GnRH agonista. Upravo je prolongirana aktivnost GnRH agonista na receptorima i posljedična hipofizna supresija u početku razvijana kao mogućnost liječenja hormonalno ovisnog karcinoma prostate jer je dovođila do potpune supresije LH, obvezatne da bi se postigao potpuni efekt liječenja. Osim te indikacije, agonisti GnRH koriste se u kontroli endogenog LH tijekom ovarijske stimulacije u postupku medicinski potpomognute oplodnje, u liječenju sindroma policističnih jajnika, endometrioze i mioma maternice.

3.1.3. Indukcija ovulacije agonistima GnRH

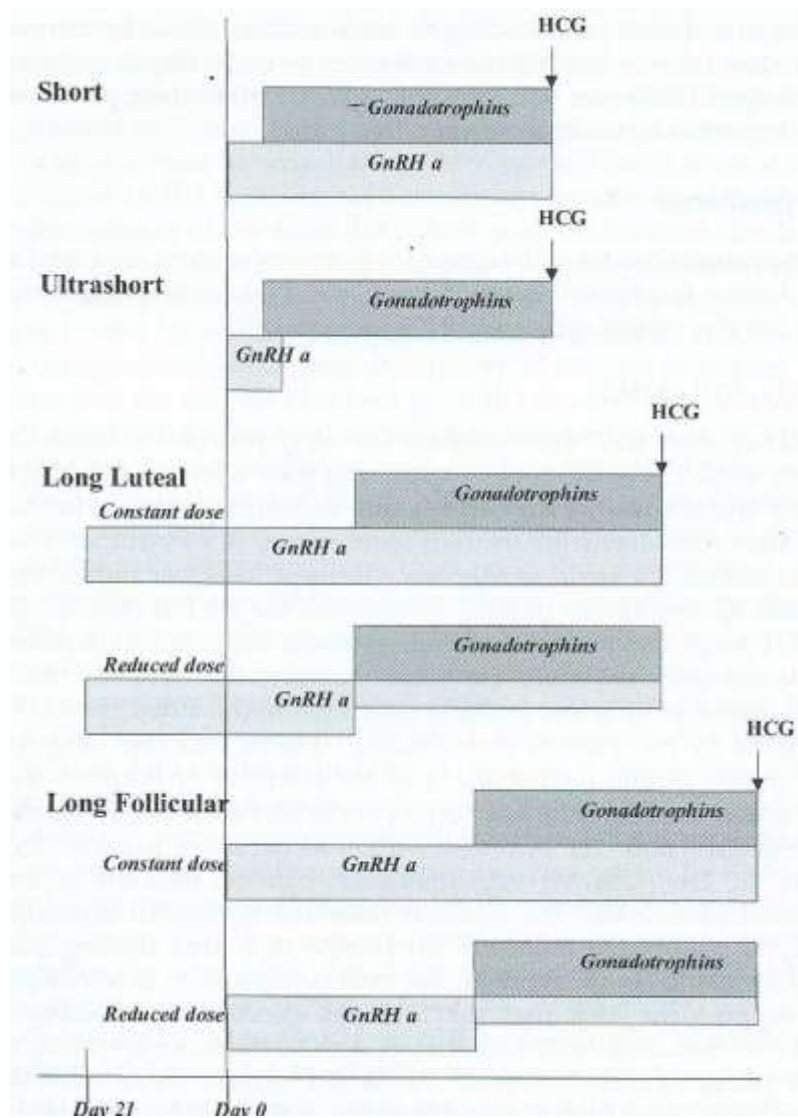
Prva trudnoća kao rezultat in vitro fertilizacije (IVF) nastala je u toku prirodnog ciklusa. No, takav način potpomognute oplodnje je napušten još ranih osamdesetih godina 20. stoljeća i zamijenjen ovarijskom stimulacijom kako bi se dobio veći broj zrelih kvalitetnih jajnih stanica te time povećala šansa za uspješnu trudnoću. Danas se protokoli medicinski potpomognute oplodnje provode uz pomoć gonadotropina.

Prvi lijek izbora indukcije ovulacije je klomifen citrat koji blokiranjem negativne povratne sprege estradiola sprječava prekid stvaranja GnRH i gonadotropina te omogućuje njihovu prolongiranu aktivnost. U ovarijskoj je stimulaciji važan doprinos viših koncentracija FSH od fizioloških, koji potiču folikulogenezu tokom folikularne faze menstrualnog ciklusa žene, omogućujući spašavanje velikog broja folikula od atrezije, a sve u svrhu dobivanja što većeg broja zrelih jajnih stanica. U 15% svih ciklusa stimuliranih gonadotropinima i/ili klomifen citratom provocira se visok porast koncentracije LH tokom folikularne faze te može doći do prijevremenog spontanog „skoka“ LH i ovulacije. To je posljedica prijevremeno visoke razine estradiola uzrokovane mnogobrojnim razvijenim folikulima. U fiziološkim uvjetima menstruacijskog ciklusa žene taj nagli porast LH nastaje zbog pozitivne povratne sprege estradiola (E2) na hipofizu, čime on šalje signal za jaču sekreciju LH, a čiji je nagli porast koncentracije odgovoran za početak ovulacije. U procesu indukcije ovulacije takav preuranjeni događaj rezultira umanjenom kvalitetom oocita i promjenom vremena i kvalitete receptivnosti endometrija. Kako bi se izbjegle takve štetne posljedice koje su razlogom slabije uspješnosti postupka IVF, preporuča se u terapiji primjenjivati kombinacija gonadotropina i agonista GnRH.

3.1.4 Protokoli indukcije ovulacije

Zbog svoje uspješnosti u sprječavanju prijevremenog porasta endogenog LH tijekom ovarijske stimulacije GnRH agonisti se primjenjuju u protokolima uz gonadotropine. Ovisno o svojstvima GnRH analoga i vremenskom trajanju stimulacije, protokoli su podijeljeni na ultrakratki, kratki i dugi (Slika 3). U ultrakratkom i kratkom protokolu cilj je jači poticaj folikulogeneze u ranoj folikularnoj fazi. S druge strane, u dugom protokolu iskorištava se inhibitorna sposobnost agonista GnRH kako

bi se spriječio prijevremeni porast endogenog LH. Koji će od navedenih protokola biti primjenjen u kliničkoj praksi ovisi o procjeni rezerve jajnika (AMH, AFC), dobi žene, ali i odgovoru na stimulaciju u prethodnim pokušajima IVF, ako ih je bilo.



Slika 3. Protokoli stimulacije ovulacije agonistima GnRH (European Practice in Gynaecology and Obstetrics: Ovulation induction, 2002).

3.1.4.1. Ultrakratki protokol

Ultrakratki protokol osmišljen je za pacijentice sa slabim odgovorom na stimulaciju ovulacije u prethodnim pokušajima IVF ili ako je procjena da se radi o pacijentici sa niskim rezervama jajnika. U tom protokolu, GnRH agonisti koriste se samo tokom prva tri dana menstrualnog ciklusa. Primjena gonadotropina počinje treći dan te se nastavlja do davanja humanog korionskog gonadotropina (HCG).

3.1.4.2. Kratki protokol

U kratkom protokolu iskorištavaju se oba svojstva agonista GnRH, njegova poticajna i inhibitorna sposobnost u odnosu na sekreciju gonadotropina. GnRH agonisti počinju se davati prvog dana menstrualnog ciklusa te se primjenjuju skroz do primjene HCG-a. Gonadotropini se uključuju drugi ili treći dan ciklusa. Početna doza gonadotropina ovisi o dobi i procijenjenim rezervama jajnika pacijentice te iskustvu prethodnih stimulacija ovulacije. Doza se prilagođava odgovoru pacijentice na stimulaciju tijekom ciklusa, a odgovor možemo pratiti mjerenjem krvne koncentracije estradiola (E2) ili ultrazvučnom vizualizacijom.

3.1.4.3. Dugi protokol

U dugom protokolu iskorištava se samo inhibitorna sposobnost agonista GnRH na sekreciju gonadotropina. U protokolu postoje dvije faze – duga luteinska i duga folikularna faza. U prvoj fazi primjenjuju se do kompletne hipofizne desenzibilizacije, a to se može provjeriti mjerenjem koncentracije estradiola (E2) čija razina mora biti niža od 50 pg/ml. Zatim počinje faza stimulacije ovulacije najčešće drugi ili treći dan ciklusa kombiniranom primjenom gonadotropina i analoga GnRH

sve do davanja humanog korionskog gonadotropina kao okidača ovulacije. Početna doza gonadotropina ovisi o jednakim kriterijima kao i kod kratkog protokola te se kasnije prilagođava ovisno o statusu stimulacije. Postoje dvije vrste dugog protokola, razlikuju se po vremenskom terminu početka indukcije i po dozi primjenjenog agonista GnRH. Agonisti se daju prvog dana ciklusa u dugom folikularnom protokolu, ili 21. dan ciklusa kod dugog luteinskog protokola. Doza agonista u pravilu je konstantna u obje vrste dugog protokola. Također se može reducirati kada stimulacija ovarija započne, pa čak i zaustaviti. U praksi se više primjenjuje dugi folikularni protokol s konstantnom dozom u procesu ovarijske stimulacije. Na temelju provedenih randomiziranih kliničkih pokusa, pokazano je da je broj održanih zrelih jajnih stanica veći u dugom protokolu u odnosu na ultrakratki i kratki protokol. Razina plazmatskog estradiola veća je kod dugog protokola u odnosu na ostale što se može potkrijepiti činjenicom većeg broja zrelih folikula.

3.1.4.4. Rezultat

Na temelju dosadašnjeg iskustva primjena GnRH agonista u procesu stimulacije ovulacije povezana je sa manjim rizikom prekida ciklusa za IVF u odnosu na cikluse bez agonista GnRH. Taj zaključak donesen je zbog dokazanog učinka agonista GnRH na bolju kontrolu prijevremenog skoka endogenog luteinizirajućeg hormona i posljedičnih štetnih učinaka na oocitu i endometrij. Istraživanja su pokazala da je prekid ciklusa u protokolima s agonistima GnRH zabilježen u svega 2,1% do 2,7%. Nadalje, primjena agonista potiče folikulogenezu i smanjuje interfolikularnu varijabilnost u ciklusu te smanjuje razlike u ovarijskom odgovoru na stimulaciju u nekoliko ciklusa iste pacijentice. Isto tako, u indukciji ovulacije agonistima GnRH dobiven je značajnije veći broj oocita nego u indukciji ovulacije

drugim metodama. S druge strane, broj uspješnih implantacija jednak je ili veći kod agonista GnRH u usporedbi s protokolima bez agonista. Važno je također napomenuti da je i broj uspješnih trudnoća značajnije veći u ciklusima s agonistima GnRH. U provedenoj metaanalizi na temelju postojećih prospektivnih istraživanja pokazan je signifikantan porast broja trudnoća poslije in vitro fertilizacije i direktnog transfera gamete u jajovod (GIFT, engl. gamete intrafallopian transfere) koji iznosi čak od 80% do 127%. Tako dobri rezultati agonista GnRH u medicinski potpomognutoj oplodnji pripisuju se boljoj receptivnosti endometrija i/ili dobivenom većem broju kvalitetnih embrija.

3.1.5. Primjena u sindromu policističnih jajnika

Neploidnost je u žena sa sindromom policističnih jajnika relativno čest problem. Povišena plazmatska koncentracija luteinizirajućeg hormona i androgena uzrokuje često izostanak ovulacije radi izravnog štetnog učinka na razvoj i sazrijevanje folikula. Ukoliko se tokom ovulacije i postigne trudnoća bilo prirodnim putem ili metodama potpomognute oplodnje, veći je broj ranih spontanih pobačaja. U dijagnozi i liječenju neplodnosti pacijentica sa PCOS-om valja odrediti i spermogram partnera te provjeriti prohodnost jajovoda. Na temelju dosadašnjeg iskustva pokazalo se da agonisti GnRH mogu biti od velike pomoći takvim pacijenticama u postizanju trudnoće. Primjenom GnRH agonista, osobito u dugom protokolu, dokazan je dobar odgovor jajnika na stimulaciju te veća mogućnost postizanja trudnoće. To se najvjerojatnije postiže supresijom preranog skoka LH. Isto tako, dolazi do snižavanja koncentracije endogenog LH i androgena što dodatno povišuje mogućnost pozitivnog ishoda. Ovulacija u pacijentica sa PCOS se može postići primjenom visoko pročišćenih urinarnih ili rekombinantnih gonadotropina dobivenih genetskim

inžineringom. Pri tome treba primjenjivati niže početne doze zbog izrazite sklonosti žena s PCOS razvoju OHSS-a tijekom stimulacije ovulacije.

3.1.6. Primjena u endometriozii

Procjenjuje se da je incidencija endometrioze u ženskoj populaciji reproduktivne dobi oko 6-44%. Iako uzroci nastanka endometrioze nisu još uvijek do kraja istraženi, to je jedan od najčešćih uzroka bračne neplodnosti. Estrogen je glavni faktor koji podržava razvoj bolesti jer pospješuje rast ektopičnog endometrijskog tkiva. Ta je činjenica iskorištena u liječenju bolesti te je glavni terapijski cilj snižavanje razine estrogena. Agonisti GnRH, zbog svojeg supresivnog djelovanja na hipofizu i sekreciju gonadotropina pri kontinuiranoj primjeni, dovode do pada razine estrogena (E2). Pokazalo se da primjena busarelina, goserelina i triptorelina intramuskularno ili nafarelina intranazalno u trajanju 3-6 mjeseci ima povoljan učinak na bolest. Agonisti dovode do regresije žarišta endometrioze i do smanjenja ili čak potpunog otklanjanja boli. Kod žena postproduktivne dobi takav je učinak zadovoljavajuć te je primjena tih lijekova svakako metoda izbora. Kod žena s endometriozom koje pate od neplodnosti princip je drugačiji i kompleksniji. Samo medikamentozna terapija je nedjelotvorna pa je potrebno operativno reducirati žarišta endometrioze i nastalih priraslica. Postoje indikacije za primjenu agonista GnRH prije i/ili poslije kirurške terapije. Preoperativno davanje agonista reducira veličinu i broj žarišta endometrioze, skraćuje trajanje operacije te smanjuje gubitak krvi. Postoperativna primjena agonista u trajanju od 6 mjeseci smanjuje petogodišnju pojavu recidiva za 25% do 70%. Prednost primjene agonista GnRH u pacijentica sa endometriozom u protokolu stimulacije ovulacije je prevencija preranog skoka LH, povećanje broja zrelih i kvalitetnih jajnih stanica te bolja receptivnost endometrija. Neki istraživači napominju važnost šestomjesečne

terapije agonistima prije in vitro fertilizacije jer se pokazalo da primjena leuprolina u tom razdoblju povećava uspješnost postupka za čak 38%. Treba uzeti u obzir i hipolestrogene nuspojave dugotrajne primjene agonista, kao što su valovi vrućine, znojenje, pa čak i osteoporoza.

3.1.7. Primjena kod mioma uterusa

Miomi maternice najčešći su benigni tumori spolnog sustava žene. S obzirom na nalaz estrogenskih i progesteronskih receptora u tkivu, spolni hormoni spadaju u glavne faktore rasta tih tumora. Iz tog razloga se zna da je njihov rast pojačan tokom trudnoće, a dolazi do atrofije nakon menopauze. Submukozni i intramuralni miomi mogu utjecati na plodnost i na održavanje trudnoće pa ih je iz tog razloga važno ukloniti laparoskopski ili histeroskopski. Agonisti GnRH mogu se upotrijebiti preoperativno u kontinuiranom trajanju od 3-6 mjeseci jer mogu smanjiti veličinu mioma za čak 40%. Takav pristup olakšava i skraćuje kirurški postupak, ali i omogućuje ženama s većim tumorima da zadrže maternicu što je važno u reproduktivnoj dobi. Nakon završetka terapije agonistima potrebno je operaciju izvesti u što kraćem roku zbog brzog vraćanja u prethodno stanje. Žene koje imaju simptomatske miome praćene boli i krvarenjem, koje su završile s reproduktivnom funkcijom, ali još uvijek nisu ušle u menopauzu, agonisti GnRH se mogu upotrebljavati privremeno kao palijativna terapija. Neka istraživanja su pokazala pozitivne rezultate kod primjene agonista u žena s miomima koje su blizu menopauze. U nekih pacijentica se tako može izbjeći operacija. Takav pristup može se kontrolirano primijeniti kod žena koje žele zadržati maternicu. Glavni nedostatak agonista GnRH jest njihov inicijalni stimulirajući učinak na gonadotropine na što treba obratiti pozornost u liječenju.

3.1.8. GnRH agonisti u primjeni

Zaključak većine istraživanja jest da nema razlike u potencijalu kod različitih komercijalno dostupnih GnRH agonista koji se koriste u protokolima stimulacije ovulacije za IVF. Svi primjenjivani preparati daju sličan broj zrelih folikula i oocita. Također je pokazano da je stupanj uspješnih fertilizacija i prijenosa embrija sličan, kako u kratkom tako i u dugom protokolu. Konačno, primjena različitih agonista GnRH ima jednak efekt na postizanje trudnoće. Sintetski agonisti dostupni na tržištu uključuju goserelin, buserelin, leuprorelin, nafarelin i triptorelin. Svi od navedenih imaju D-aminokiseline na položaju 6 i etilamid umjesto glicina na položaju 10 osim nafarelina. Obje modifikacije čine ih potentnijim i duže djelujućim od prirodnog GnRH. Primjenjivati se mogu supkutano, intramuskularno, dok se nafarelin dodatno primjenjuje pomoću nazalnog spreja. Poluvijek života supkutanih i intranazalnih GnRH agonista je približno 3 sata. Ovisno o potrebitom liječenju, razvijene su formulacije s rasponom trajanja djelovanja od nekoliko sati za svakodnevnu primjenu do 1,4,6 ili 12 mjeseci kao depo-preparati. Trajanje kliničke primjene ovisi o patologiji koja se tretira – kod stimulacije ovulacije nekoliko dana pa sve do nekoliko godina kod liječenja hormonalno ovisnih karcinoma. Na hrvatskom tržištu dostupni sintetski agonisti GnRH primjenjuju se u sklopu liječenja hormonalno ovisnih onkoloških bolesti (Tablica 1). To su leuprorelin (Eligard, Lupron depo, Lerin), goserelin (Zoladex, Zoladex LA), triptorelin (Decapeptyl, Decapeptyl CR).

Tablica 1. Preparati agonista GnRH registrirani u Hrvatskoj

Nezaštićeno ime lijeka	Zaštićeno ime lijeka	Farmaceutski oblik
Leuprorelin	Eligard® 7,5 mg, 22,5 mg, 45 mg	prašak i otapalo za otopinu za injekciju
	Lupron Depo® 3,75mg, 11,25 mg, 30 mg	prašak i otapalo za suspenziju za injekciju
	Lerin® 3,6 mg, 5 mg	implantat
Goserelin	Zoladex® 3,6 mg	implantat
	Zoladex LA® 10,8 mg	
Triptorelin	Decapeptyl® 0,1 mg/ml	otopina za injekciju u napunjenoj štrcaljki
	DecapeptylCR® 3,75 mg/ml	prašak i otapalo za suspenziju za injekciju

3.1.9. Nuspojave

3.1.9.1. Cistične formacije

Folikularne cistične formacije opisane su kod provođenja dugog protokola stimulacije ovarija agonistima GnRH. Incidencija pojave cista je od 6% do 25%, uočena je kod dugog folikularnog, ali i dugog luteinskog protokola, no rjeđe. Formiranje cista povezuje se s inicijalnim stimulacijskim učinkom gdje dolazi do pojačane sekrecije gonadotropina, multiple folikulogeneze te posljedične povišene razine estradiola u krvi. Upravo se glavnim rizičnim faktorom smatra povišen estradiol koji svojom pozitivnom povratnom spregom povisuje razinu gonadotropina, inducira LH skok i luteinizaciju cista koje ne rupturiraju. Njihov nastanak se ne može povezati s nijednim tipom GnRH agonista, ali se isto tako ne može izbjeći primjenom jednog

od specifičnih tipova. Ciste je potrebno punktirati zbog mogućeg negativnog utjecaja na postupak MPO.

3.1.9.2. Ovarijski hiperstimulacijski sindrom

Najopasnija nuspojava indukcije ovulacije je ovarijski hiperstimulacijski sindrom (OHSS). Karakteriziran je zamjetnim uvećanjem jajnika, visokim koncentracijama estradiola u serumu i nakupljanjem ekstravaskularnog eksudata u tjelesnim šupljinama zbog pojačane propusnosti krvnih žila. Takvo smanjenje intravaskularnog volumena pogoduje hemokoncentraciji, smanjenoj perfuziji i pojavi tromboembolije. Visok rizik hiperstimulacije imaju žene s koncentracijom estradiola većom od 4000 pg/ml te s više od 35 folikula vizualiziranih ultrazvučnom dijagnostikom. Isto tako u rizičnu skupinu ulaze pacijentice sa sindromom policističnih jajnika. Primjena agonista GnRH u indukciji ovulacije povezana je s rizikom hiperstimulacijskog sindroma koji iznosi od 0,6% do 14%. Kod ciklusa stimuliranih klomifen citratom i/ili gonadotropinima, sama folikularna faza kontrolirana je endogenom LH proizvodnjom koja prevenira pretjeran rast folikula poticanjem luteinizacije istih. Kod primjene protokola GnRH agonista broj preživjelih folikula je veći, pa je tako i volumen djelovanja humanog korionskog gonadotropina veći što posljedično povećava rizik nastanka OHSS-a.

3.1.9.3. Defekt lutealne faze

Primjena GnRH agonista u stimulaciji ovulacije povezana je s defektom lutealne faze i preranom luteolizom. Smatra se da je uzrok tome trajna supresija sinteze i oslobađanja LH tokom lutealne faze što dovodi do smanjene lutealne

funkcije žutog tijela i smanjene proizvodnje progesterona. Isto tako, povišena razina estradiola može negativno utjecati na djelovanje žutog tijela. Potrebna su daljnja istraživanja radi utvrđivanja točnog mehanizma nastanka defekta lutealne faze. No, bez obzira na mogući mehanizam, kod indukcije ovulacije GnRH agonistima potrebna je podrška humanim korionskim gonadotropinom ili progesteronom. Smatra se da HCG efektivno podržava lutealnu fazu, ali isto tako povećava rizik OHSS-a. Iz tog razloga se kao terapija izbora u luteinskoj fazi preporuča primjena progesterona vaginalnim putem.

3.2. ANTAGONISTI GNRH

3.2.1. Molekularna građa i mehanizam djelovanja

Usporedno s istraživanjima i razvijanjem sintetskih agonista GnRH počeli su se razvijati i GnRH antagonisti. I dok je za sintezu GnRH agonista došlo do supstitucije na poziciji 6 i/ili 10, sinteza antagonista je ponešto kompleksnija i uključuje dodatne modifikacije na pozicijama 1, 2, 3 i 8. Isto tako, mehanizam djelovanja ovih spojeva je u potpunosti drugačiji. Antagonisti GnRH se kompetativno vežu na GnRH receptore na gonadotropinskim stanicama hipofize, na taj način sprječavaju vezanje endogenog GnRH i posljedično sintezu gonadotropinskih hormona u hipofizi. Upravo ih to razlikuje od agonista koji uzrokuju početni porast lučenja FSH i LH, tzv. „flare-up“ efekt. Primjenom antagonista takav mehanizam izostaje i daje mu određenu prednost kada je to potrebno. Zbog kompetativnog vezivanja učinak prvenstveno ovisi o ravnoteži između endogenog GnRH i primjenjenih antagonista. Prve generacije sintetskih antagonista imale su popriličan broj nuspojava – inducivali su oslobađanje histamina i poticali alergijske i anafilaktičke

reakcije te su zbog visoke hidrofobnosti vrlo brzo oslobađali receptorska mjesta. Zamjenom D-arginina na poziciji 6 i D-triptofana s manje hidrofobnim D-piridil-alaninom na poziciji 3 riješen je taj problem. Današnji moderni antagonisti GnRH, kao što su cetoreliks i ganireliks, nemaju takvih nuspojava i u usporedbi s endogenim GnRH su visoko modificirane molekule. Četvrtu generaciju lijekova čine degereliks i tevereliks. S obzirom na njihovo biokemijsko ponašanje u tekućinama, idealni su kandidati za dugodjelujuće depo-preparate. U Hrvatskoj su dostupni cetoreliks i ganireliks (tablica 2).

Tablica 2. Antagonisti GnRH registrirani u Hrvatskoj.

Nezaštićeno ime lijeka	Zaštićeno ime lijeka	Farmaceutski oblik
Cetoreliks	Cetrotide® 0,25 mg	prašak i otapalo za otopinu za injekciju
Ganireliks	Orgalutran® 0,25 mg/0,5 ml	otopina za injekciju

3.2.2. Stimulacija ovulacije primjenom GnRH antagonista

Antagonisti GnRH jednako se kao i agonisti GnRH mogu koristiti u kontroliranoj ovarijskoj stimulaciji. Treća generacija lijekova, cetoreliks i ganireliks, odobreni su za prevenciju prijevremenog porasta endogenog LH i posljedičnog negativnog djelovanja na sam ciklus. Primjena antagonista u protokolima stimulacije ovulacije ima određene prednosti naspram agonista GnRH, zbog drugačijeg mehanizma djelovanja. Agonisti u početnoj fazi uzrokuju porast gonadotropina, pa tako i LH, a antagonisti imaju direktan učinak od samog početka i to unutar nekoliko sati od primjene. To omogućuje kraće trajanje terapije, ali i odgodu primjene do

šestog ili osmog dana ciklusa za IVF. Također je i doza potrebnih gonadotropina za ovarijsku stimulaciju uz antagoniste manja što pojeftinjuje postupak. Ranija je i primjena HCG-a za poticanje završnog sazrijevanja oocita, jer se prije postiže zadovoljavajući rast i veličina folikula. Svi navedeni pozitivni učinci antagonista čine stimulaciju ovulacije jednostavnijom i kraćom nego što je to slučaj kod primjene agonista GnRH. Iz tog razloga se danas u kliničkoj primjeni sve više okreće protokolima s GnRH antagonistima. Uvijek je potreban oprez jer je primjenom visokih doza kod svih antagonista GnRH pri supresiji sekrecije LH opisana inhibicija stereoidogeneze u ovarijima, sve do stupnja onemogućavanja folikulogeneze u odgovoru na FSH u toku folikularne faze kontroliranog ciklusa. Indikacija za primjenu HCG-a nakon primjene gonadotropina u protokolima s antagonistima ista je kao i kod agonista. Rizik pojave OHSS-a kao najopasnije nuspojave u stimulaciji ovulacije niži je nego što je to kod protokola s agonistima. Preporučena je tokom lutealne faze nadomjesna terapija s progesteronom zbog dokazane više stope postignutih trudnoća. Dosadašnji izvještaji pokazuju da nema statistički značajnije razlike između agonista i antagonista GnRH kada se radi o postizanju trudnoće poslije in vitro fertilizacije.

3.2.2.1. Indukcija ovulacije agonistima GnRH u protokolu antagonistima GnRH

Unazad desetak godina se sve veća pažnja skreće primjeni agonista GnRH kao zamjeni za HCG u protokolima stimulacije ovulacije za IVF s antagonistima GnRH. Sve je više izvještaja o primjeni agonista za završno sazrijevanje oocita i određivanje vremena aspiracije oocita. Glavni argument je značajno smanjenje pa čak i potpuna eliminacija rizika za ovarijski hiperstimulacijski sindrom. Naime, poluvijek života HCG-a je puno dulji od poluvijeka endogenog LH koji se oslobađa

nakon indukcije agonistima. Iz tog je razloga izloženost povišenoj razini estrogena kraća pa je i rizik OHSS-a niži. To je važna prednost kada se IVF-u podvrgavaju visokorizične pacijentice za OHSS, osobito sa PCOS u anamnezi. Osim toga, zbog „flare-up“ učinka agonisti podižu prirodni FSH i LH što je više nalik fiziološkom ciklusu. Još uvijek je nedovoljno istražena uloga FSH, no čini se da inducira LH receptore na luteinizirajućim granulosa stanicama čime optimizira funkciju žutog tijela. Isto tako FSH ima utjecaj na sazrijevanje jezgre oocite. No usprkos prednostima, GnRH agonisti su se ipak pokazali kao manje dobar izbor jer je incidencija postignutih trudnoća nakon takvog postupka niža u odnosu na HCG. Loš rezultat je pripisan insuficijenciji lutealne faze, bez obzira na podršku progesteronom i estrogenom. Neki su priklonjeni mišljenju da je problem u neodgovarajućoj podršci lutealne faze jer je svih ovih godina istraživanja najveća pažnja pridavana osiguranju folikularne faze i razvitku kvalitetnih oocita. Najnoviji izvještaji govore o odličnim rezultatima kada se nakon indukcije agonistima GnRH primjeni bolus doza HCG-a čime se spašava kvaliteta lutealne faze, a rizik OHSS-a ostaje nizak. Postoje izvještaji i o primjeni rekombinantnog LH u ponavljajućim dozama nakon agonista GnRH čija je prednost kraći poluvijek života što bi omogućilo dodatno manji rizik OHSS-a. Spominju se i zapisi o indukciji ovulacije rekombinantnim LH nakon protokola antagonistima. Ovdje se ističe prednost veće sličnosti sa fiziološkom indukcijom ovulacije, no potrebni su daljnji dokazi u budućim istraživanjima.

Uz do sad mnoga istraživanja na temu agonista GnRH kao trigeru za ovulaciju, posebnu pažnju privlači skupina žena reproduktivne dobi oboljelih od hormonalno ovisnog raka dojke. Neplodnost je posljedica agresivne terapije kojoj su takve žene podvrgnute, a uključuje kemoterapiju i inhibitore aromataze. Strah od izloženosti višim razinama estrogena nakon primjene HCG-a do sad je bio

ograničavajući faktor za tu skupinu pacijentica, no nova istraživanja djeluju obećavajuće. Pri primjeni agonista GnRH rizik produljenoj izloženosti estrogenu je smanjen, uklanja se mogućnost OHSS-a, a najvažnije, ishod trudnoća sličan je ishodu kao kod pacijentica bez raka podvrgnutih istom postupku u sklopu IVF-a.

3.2.3. Ostale indikacije antagonista GnRH

Primjena antagonista GnRH slična je kao i kod agonista GnRH jer kod jedne i druge skupine dolazi do supresijskog djelovanja na hipofizu i posljedične smanjene sinteze gonadotropina, FSH i LH. Ta odlika antagonista je upotrebljena u liječenju uznapredovalog karcinoma prostate kod pacijenata kod kojih su agonisti GnRH neprikladni kada zbog početnog stimulacijskog efekta dolazi do porasta razina LH i testosterona. Antagonisti GnRH smanjuju koncentraciju gonadotropina i androgena znatno brže od agonista GnRH, ublažavaju simptome koštanih metastaza te tegobe pražnjenja mokraćnog mjehura. Iz tog razloga, u slučajevima kada agonisti GnRH nisu primjereni i ukoliko pacijent odbija kiruršku kastraciju, odabir antagonista ostaje logičan izbor. Za tu primjenu odobreni su abareliks i degareliks. Abareliks se primjenjuje kao depo-preparat, mjesečno u dvije doze, na 1. i 15. dan.

Na temelju dosadašnjih saznanja o antagonistima GnRH, pokazali su se korisni i u liječenju hormonalno ovisnih benignih stanja kao što su fibromi uterusa i benigna hiperplazija prostate. Izvještaji govore da primjena depo preparata cetoreliksa dovodi do vidljivog poboljšanja s dobrim podnošenjem lijeka i tek slabim hipoestrogenim učinkom. U tim slučajevima nije poželjna totalna supresija steroidnih hormona pa se točnim i pažljivim doziranjem antagonističkih lijekova može postići supresija lučenja gonadotropina i steroidnih hormona. Osobita pažnja skrenuta je na antagoniste kod liječenja mioma maternice zbog izbjegavanja inicijalnog „flare-up“

učinka i postizanja brze supresije endogenih gonadotropina. Istraživanja pokazuju da je moguće izbjeći histerektomiju kod perimenopausalnih žena, a također olakšano je i operativno uklanjanje mioma. Pozitivan učinak se pokazao i kod benigne hiperplazije prostate gdje je došlo do značajnog smanjivanja volumena prostate nakon provedenog liječenja cetoreliksom.

3.2.4. Nepeptidni antagonisti GnRH

Nepeptidni antagonisti GnRH relativno su novi kemijski spojevi koji svoje korijene vuku iz biokemijskih istraživanja koja su se provodila radi otkrivanja što više potentnih peptidnih antagonista, o kojima je do sada bila glavna riječ. U sklopu tih istraživanja dobivao se velik broj modificiranih spojeva od kojih su mnogi bili cikličke strukture. Daljnja biokemijska istraživanja okarakterizirala su njihovu bioaktivnu konformaciju te su se pokazali kao kompaktni, savitljivi spojevi. Neke do sad poznate skupine kemijskih spojeva su indoli, furamidi i benzimidazol-sulfonamidi. Ono što privlači pažnju u daljnjem istraživanju tih spojeva jest činjenica da se do sad poznati peptidni antagonisti mogu primjenjivati samo parenteralno. Iz tog razloga određene grupe istraživača pokušavaju razviti lijekove koji bi se mogli primjenjivati i oralnim putem. Bez obzira na razlike u kemijskoj strukturi nepeptidnih antagonista, njihovo djelovanje se ne razlikuje od peptidnih antagonista. Imaju visok afinitet za GnRH receptore i uzrokuju supresiju hipotalamo-hipofizno-ovarijske osi. Ono što ih stavlja korak naprijed ispred peptidnih antagonista jest eliminacija otpuštanja histamina i posljedičnih alergijskih reakcija. Jedna do sad otkrivenih mana im je da neki spojevi imaju sposobnost prolaska kroz staničnu membranu i djelovanja na intracelularni receptor što dovodi do mogućih mutacija. No, s obzirom na mogućnost oralne

primjene takvih spojeva, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razvili što sigurniji spojevi sa jasnim indikacijama.

4. ZAKLJUČAK

GnRH analozi su skupina potentnih sintetskih spojeva čiji je razvoj krenuo prije nekoliko desetljeća nakon izolacije endogenog GnRH i otkrivanja njegove molekularne građe. Klinička primjena agonista i antagonista GnRH usmjerena je prema liječenju hormonalno ovisnih tumora kod muškaraca i žena kao i benignih stanja kao što su endometrioza, sindrom policističnih jajnika i miomi maternice čiji rast je također uvjetovan aktivnošću spolnih hormona. Svojim inhibicijskim učinkom sprječavaju lučenje gonadotropina i uzrokuju hipogonadalni hipogonadizam. Druga važna klinička indikacija je sprječavanje prijevremenog porasta endogenog LH u protokolima stimulacije ovulacije što pridonosi uspješnosti postupka medicinski potpomognute oplodnje. Posebno se koriste u žena reproduktivne dobi koje pate od neplodnosti izazvane endometriozom, PCOS ili miomima. Agonisti su dulje u primjeni od antagonista pa je s toga njihova funkcija detaljnije istražena, no antagonisti počinju dobivati sve veću pažnju zbog određenih prednosti koje imaju nad agonistima. Izvještaji o djelovanju analoga GnRH su mnogobrojni, no potrebna su daljnja kontrolirana klinička istraživanja kako bi se u potpunosti utvrdile sve prednosti i mogući nedostaci ovih spojeva. Sigurno je da će primjenom novih tehnologija u budućnosti doći do razvitka novih potentnijih generacija analoga GnRH sa što manje mogućih nuspojava i sa što više pozitivnih učinaka. Dosadašnja istraživanja na to upućuju.

5. ZAHVALE

Zahvaljujem se svom mentoru, prof.dr.sc. Branku Radakoviću na pruženoj pomoći i savjetima prilikom pripreme i izrade ovog diplomskog rada u KBC Zagreb, Klinika za ženske bolesti i porode.

Zahvaljujem se svim svojim dragim prijateljima na velikoj podršci i poticaju tijekom svih ovih godina.

I za kraj, najviše se zahvaljujem svojim roditeljima, bratu, svojim bakama i djedu, dečku te cijeloj obitelji na bezuvjetnoj podršci, pomoći i strpljenju tijekom mojeg školovanja. Što su me usmjeravali i bodrili da postanem osoba kakva sam danas, bez njih to ne bi bilo moguće.

6. LITERATURA

1. Lunenfeld B.: GnRH Analogs in human reproduction, Taylor&Francis; 2005.
2. European Practice in Gynaecology and Obstetrics: Ovulation induction, Elsevier; 2002.
3. Šimunić V. i sur.: Ginekologija, Ljevak, Zagreb; 2001.
4. Radaković R. GnRH analozi u ginekologiji, pretežno u humanoj reprodukciji. *Gynaecol Perinatol* 2001;10(1):43-49
5. Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, et al. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin releasing hormone. *Science* 1978;202:631-633.
6. <http://www.hzzo.hr/zdravstveni-sustav-rh/trazilica-za-lijekove-s-vazecih-lista/> pristupano dana 14.5.2015.
7. <http://www.halmed.hr/?ln=hr&w=lijekovi> pristupano dana 14.5.2015.
8. Hughes EG, Sagle MA, Fedorkow DM. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilisation and gamete intrafallopian transfer; a metaanalysis of randomised controlled trials; 1992
9. Kol Shakar, Humaidan Peter. GnRH agonist triggering: recent developments. *Reproductive BioMedicine Online* 2013; 26:226-230.
10. Youssef MAFM, Van der Veen F, Al Inany HG, Griesinger G, Mochtar MH. Gonadotropin-releasing hormone agonists versus HCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*; 2011.
11. Humaidan P, Papanikolaou EG, Kyrou D et al. The luteal phase after GnRH-agonist triggering of ovulation: present and future perspectives. *Reproductive BioMedicine Online* 2012; 24: 134-141;

12. Oktay K et al. GnRH agonists trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reproductive BioMedicine* 2010; 20: 783-788;
13. Castillo JC, Dolz M, Moreno J, et al. Triggering with GnRH agonist in oocyte-donation cycles: oestradiol monitoring is not necessary during ovarian stimulation 2012; 24: 247-250
14. Humaidan P, Papanikolaou EG, Tarlatzis BC. GnRHa to trigger final oocyte maturation: a time to reconsider. *Human Reproduction*, Vol.24, No.10, 2009; pp. 2389-2394
15. Kol S, Humaidan P, Itskovitz-Eldor J. GnRH agonist ovulation trigger and hCG-based, progesterone-free luteal support: a proof of concept study, *Human reproduction*, 2011, vol.26, no.10, pp.2874-2877
16. Benavida C, Engmann L. Intensive luteal phase support after GnRH agonist trigger: does it help. *Reproductive BioMedicine Online* 2012; 25: 329-330
17. Guivarc'h-Leveque A. Estradiol programming of antagonist IVF cycles. *Reproductive BioMedicine*; 2012; 25:331-332
18. Oktay K, Turkcuoglu I, Rodriguez-Wallberg K. GnRH agonist trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reproductive BioMedicine Online* 2010; 20: 783-788
19. Grimbizis G, Tarlatzis BC: Dose finding agonists and antagonists; 2001.
20. Lessey BA: Medical management of endometriosis and infertility; 2000.
21. Daya, S.: Gonadotrophin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles; 2000.

22. Tarlatzis BC, Grimbizis G. Gonadotropin releasing hormone agonists in controlled ovarian hyperstimulation , 1997)
23. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P: Triggering of ovulation by gonadotrophin-releasing hormone agonist in patients pretreated with GnRH antagonists; 1994.
24. Hughes, Sagle, & Fedorkow. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilisation and gamete intrafallopian transfer; a metaanalysis of randomised controlled trials; 1992
25. Rizk B, Smith J: Ovarian hyperstimulation syndrome after superovulation using GnRH agonists for IVF and related procedures; 1992.
26. Tarlatzis BC, Oocyte collection and quality; 1992.
27. Smitz J , Ron-El R, Tarlatzis BC: The use of gonadotrophin releasing hormone agonists for in vitro fertilization and other assisted procreation techniques; 1992.

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1.travnja 1991. godine u Zagrebu. Živim u Krapinskim Toplicama gdje sam završila osnovnu školu. Srednju školu sam završila sa odličnim uspjehom u gradu Krapini, smjer Opća gimnazija.

Oduvijek sam pokazivala interes za izvanškolske aktivnosti, kao što su dramska i plesna skupina, te sam sudjelovala u natjecanjima hitne pomoći Crvenog križa. Također sam se aktivno bavila sportom.

2009. godine upisujem Medicinski fakultet u Zagrebu. Tokom studija sam sudjelovala u preventivnim akcijama udruge studenata medicine CroMSIC.

Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom. Posjedujem i napredne računalne vještine te se služim Microsoftovim, Adobeovim i Googleovim aplikacijama. Posjedujem vozačku dozvolu B kategorije.