

29. Hoge Raad der Nederlanden; 26 januari 1990 NJ 1990. 630.  
30. Boer J de. Geen KIK zonder alimentatie. Ned. Juristenblad 1997; 1792.

### Summary

*Social and legal trends in artificial donor insemination in The Netherlands. Bruyn JK de. Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 309-313.*

Artificial insemination with donor semen is the most common of the ethically burdened fertility treatments. From a juridical perspective, self insemination with a personally related donor is complicated and not advisable. A proposition of law in The

Netherlands was instigated to end the possibility of anonymous sperm donation. To avoid restrictive legislation which was first proposed in The Netherlands some 10 years ago, a two-files system had been adopted in the nineties in which, alongside the completely anonymous sperm donors, a group of for the child identifiable sperm donors were admitted. Besides this, a donor passport was introduced for both the anonymous and the identifiable donor. This passport contains social and physical traits of the donor as well as 35 character charts as a self-description of the donor and his motivation to become sperm donor. Unfortunately this two-file system will be abandoned soon.

*Key-words: artificial insemination; donor semen; anonymity; donor passport; legislation; fertility; sperm donor*

Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 313-328

## Endocrinologisch laboratoriumonderzoek in de diagnostiek en de behandeling ten bate van de geassisteerde voortplanting bij de vrouw

E. ANCKAERT en J. SMITZ

In het kader van de diagnose van infertiliteit wordt bij de vrouw een endocrinologisch laboratoriumonderzoek uitgevoerd. Anovulatie is een belangrijke oorzaak van infertiliteit. Op basis van hormoonbepalingen kan anovulatie worden ingedeeld in vier groepen: hyperprolactinemie, hypo-, normo- en hypergonadotroop hypogonadisme. Deze vier verschillende endocrinologische entiteiten herkennen is belangrijk aangezien zij elk worden behandeld met een specifieke ovulatie-inductietherapie. Bij ovulatie-inductie streeft men naar mono-ovulatie. Nochtans is de kans op de ontwikkeling van multiple follikels niet gering. Daarom is een minimale monitoring van de therapie door middel van laboratoriumonderzoek en ovariële echografie toch aan te bevelen. Indien er naast ovulatoire stoornissen tevens mechanische of ernstige andrologische factoren een rol spelen bij de infertiliteit, is men aangewezen op superovulatie voor in-vitrofertilisatie (IVF) of intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI). Voorafgaand aan superovulatie-inductie wordt een suppressie van het endogene luteïniserend hormoon (LH) geïnduceerd door middel van gonadotropine-releasing hormone (GnRH)-agonisten en recentelijk ook met GnRH-antagonisten. Hierdoor kunnen de negatieve effecten van premature LH-pieken tijdens de ovariële stimulatie met gonadotropines worden vermeden. Bij superovulatie is een nauwkeu-

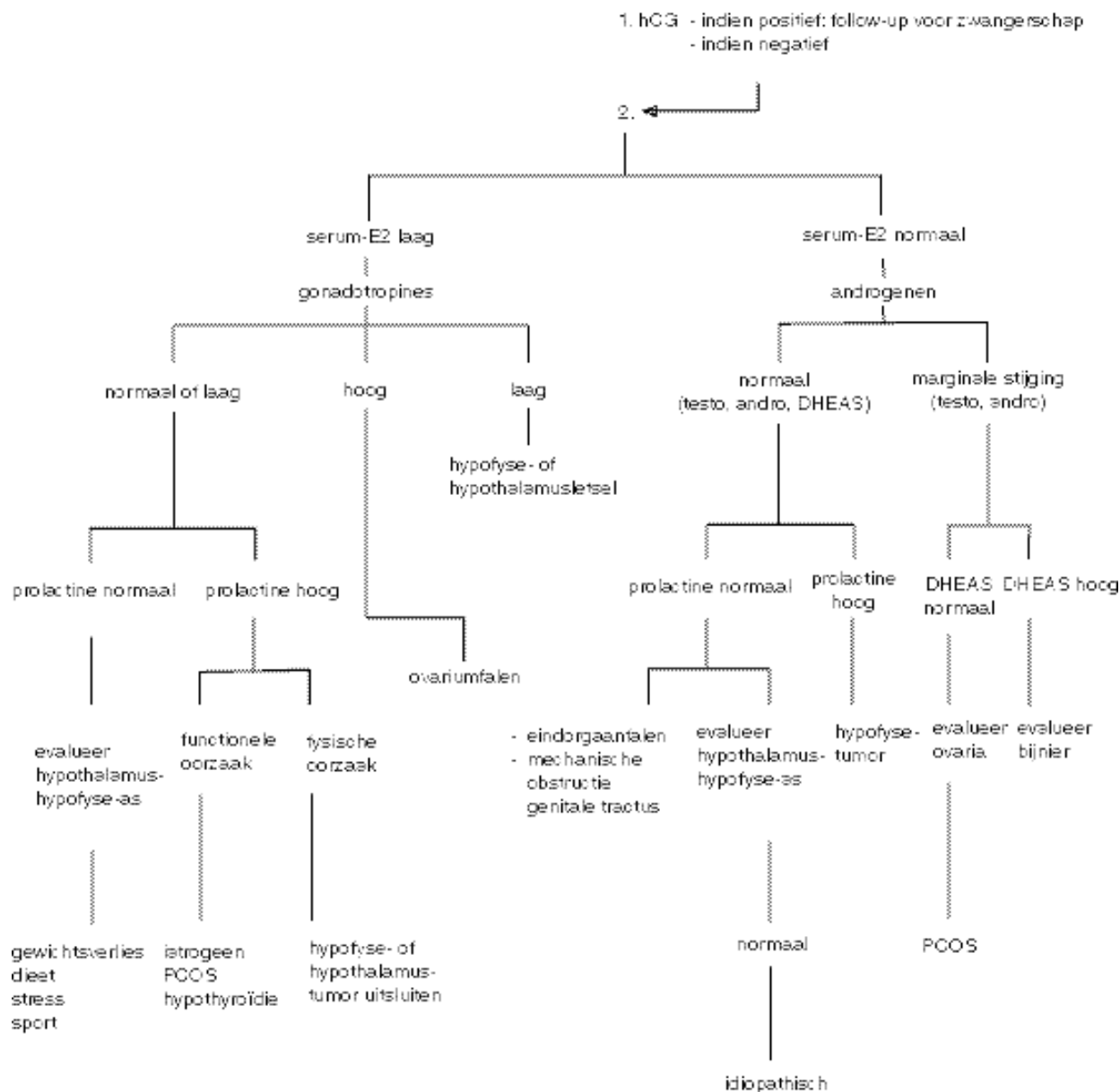
rige monitoring van de ovariële respons noodzakelijk, enerzijds om de efficiëntie van de therapie te volgen, anderzijds om het potentieel levensbedreigend ovariëel hyperstimulatie syndroom te kunnen vermijden. Dit overzicht vat de verschillende therapieschema's samen en documenteert de hormonale en echografische follow-up ervan. De bepaling van humaan choriongonadotropine (hCG) in serum speelt een belangrijke rol, niet alleen in de diagnose van zwangerschap, maar ook omdat fertiliteitsbehandelingen gepaard gaan met een verhoogd risico op spontane miskraam, ectopische zwangerschap en meerlingzwangerschap. De enorme vooruitgang in de technische mogelijkheden en indicatiestelling van laboratoriumonderzoek zijn aanleiding voor uitvoerige bespreking van de belangrijkste hormoonbepalingen in de fertiliteitskliniek.

*Trefwoorden: ovulatie-inductie; kunstmatige voortplanting; geassisteerde voortplanting; hormoonbepaling; endocrinologie*

Ongeveer 15% van alle koppels wordt met infertiliteit geconfronteerd. Men spreekt van infertiliteit indien een koppel met regelmatige coïtus binnen 2 jaar niet tot een zwangerschap komt, of een zwangerschap niet à terme kan gedragen worden. In 30% van de gevallen is de predominerende oorzakelijke factor toe te schrijven aan de man, eveneens in 30% aan de vrouw. In de overige gevallen zijn beide partners subfertil of liggen onbekende factoren aan de basis van de infertiliteit (idiopatische infertiliteit). De groep van infertiele patiënten bestaat uit steriele en subfertiele patiënten. Steriele patiënten kunnen nooit op natuurlijke wijze tot een zwangerschap komen. De term steriel kan van toepassing zijn op de man of op de vrouw

*Fertiliteitslaboratorium, Centrum voor Reproductieve Geneeskunde, Academisch Ziekenhuis -Vrije Universiteit Brussel, België*

Correspondentie: Dr. E. Anckaert, Fertiliteitslaboratorium, Centrum voor Reproductieve Geneeskunde, AZ-VUB, Laarbeeklaan 101, 1090 Brussel, België,  
e-mail: Ellen.anckaert@az.vub.ac.be



**Figuur 1.** Diagnostisch stroomschema voor secundaire amenorroe

(b.v. afwezigheid van de uterus of volledige tubaire obstructie bij de vrouw). De term subfertiliteit daarentegen refereert naar het koppel en wijst op een verminderde vruchtbaarheid (1). Infertiliteit is uiteraard een probleem van het koppel. Beide partners dienen dan ook een uitgebreid onderzoek te krijgen in de diagnostiek van infertiliteit. We zullen ons in dit overzicht verder beperken tot het endocrinologisch laboratoriumonderzoek bij de vrouw als essentieel onderdeel zowel van de diagnostiek van infertiliteit als van de monitoring van de geassisteerde bevruchting.

### Oorzaken en diagnose van anovulatie en luteale insufficiëntie

Verschillende factoren kunnen leiden tot vrouwelijke infertiliteit: onder andere het niet optreden van ovulatie (anovulatie), tubaire obstructies, verworven of congenitale uteriene abnormaliteiten, cervicale mucusdefecten, luteale insufficiëntie. Bij infertiliteit te wijten aan vrouwelijke factoren is anovulatie waar-

schijnlijk de belangrijkste oorzaak. Daarom wordt standaard een endocrinologisch laboratoriumonderzoek uitgevoerd in de evaluatie van infertiliteit bij de vrouw. Een standaard endocrinologisch laboratoriumnazicht omvat de meting in serum van follikelstimulerend hormoon (FSH), luteïniserend hormoon (LH), oestradiol (E2), progesteron, prolactine (PRL), androgenen en schildklier testen. De follikel is de functionele eenheid in de ovaria en bestaat uit een eicel omringd door granulosa- en thecacellen. De ovulatie is de ruptuur van een mature eicel uit de folliculaire wand van het ovarium naar de eileider. In normale omstandigheden vormen de resterende folliculaire cellen na de ovulatie een corpus luteum dat massieve hoeveelheden progesteron produceert. De levensduur van het corpus luteum is gelimiteerd en indien geen conceptie optreedt gaat het ten gronde na 12 tot 15 dagen. Door de drastische daling van progesteron ter hoogte van het endometrium treedt de menstruatie op. Indien dit cyclisch proces niet optreedt of onderbro-

ken wordt treedt de menstruatie niet op (amenorroe). Men onderscheidt:

- primaire amenorroe: het nooit opgetreden zijn van menstruele bloeding op 16-jarige leeftijd
- secundaire amenorroe: het niet meer optreden van menses sedert een tijdsverloop dat minstens 3 cycli omvat bij een vrouw die voordien regelmatig menstrueerde.

In figuur 1 wordt een diagnostisch stroomschema weergegeven voor secundaire amenorroe. Anovulatie leidt echter niet noodzakelijk tot amenorroe, het optreden van regelmatige menses is dus geen voldoende bewijs voor het optreden van ovulatie. Ongeveer 10% van de cycli in vrouwen met regelmatige menses en fertiliteitsproblemen zouden anovulatoir zijn. Omgekeerd kunnen normo-ovulatoire vrouwen amenorroe vertonen door een mechanische obstructie van de genitale outflow tractus, aangeboren (primaire amenorroe) of verworven (secundaire amenorroe), zoals in het Asherman-syndroom na een te uitgebreide curettage. In feite bestaat er geen enkele methode, die met zekerheid de afronding van een normaal ovulatoir proces kan bevestigen. Het enige bewijs voor een normale ovulatoire cyclus is een hierop volgende zwangerschap. In afwezigheid van een ideale methode is de meting van progesteron de meest kost-effectieve methode voor het aantonen van een ovulatoire cyclus. Serum progesteron stijgt snel onmiddellijk na de ovulatie met een piek na 6 tot 8 dagen. De meeste gynaecologen nemen een bloedmonster op dag 21 van de cyclus. De drempelwaarde voor progesteron om een onderscheid te maken tussen ovulatie en anovulatie werd door de WHO op 6 µg/ (19 nmol/l) geplaatst. Tijdens de reproductieve leeftijd is zwangerschap (en lactatie) de meest frequente fysiologische oorzaak van amenorroe en uiteraard dient zwangerschap te worden uitgesloten in geval van amenorroe. Anovulatie kan verder verschillende oorzaken hebben en wordt ingedeeld in 4 groepen op basis van het endocrinologisch laboratorium-onderzoek (zie verder).

Een andere oorzaak van infertiliteit is luteale insufficiëntie. Progesteron speelt een belangrijke rol in de transformatie van het proliferatief endometrium in het secretoir endometrium wat de implantatie van de bevruchte eicel mogelijk maakt. Corpus-luteuminsufficiëntie wordt gekarakteriseerd door een deficiënte progesteronproductie leidend tot een inadequate maturatie van het endometrium met een verstoorde implantatie van de conceptus. De drempelwaarde om een onderscheid te maken tussen een normaal en een deficiënt corpus luteum is  $\pm 10 \mu\text{g/l}$  (32 nmol/l) mid-luteaal (WHO); de validiteit van deze drempelwaarde werd echter nooit klinisch prospectief bevestigd. De meting van serumprogesteron drie maal tijdens de eerste helft van de luteale fase leidt waarschijnlijk tot een betere vaststelling van de corpus-luteumfunctie. Er werd een betere correlatie beschreven tussen deze geïntegreerde progesteronwaarden en de endometriumontwikkeling (volgens de Noyes-criteria). Ook na de conceptie dient het corpus luteum voldoende progesteron te produceren tot ongeveer week 6 van de zwangerschap, waarna de placenta de belangrijkste

**Tabel 1.** Bijnier- en schildklierandoeningen die kunnen leiden tot amenorroe

Aandoening	Karakteristieken
Cushing ziekte	Hypersecretie van cortisol door de bijnier te wijten aan een hypersecretie van ACTH: verhoogd serumcortisol en ACTH
Hypo- en hyperthyroïdie	Controle serum-TSH
Ziekte van Addison	Bijnierinsufficiëntie: verlaagd serumcortisol en verhoogd serum-ACTH

producent van progesteron wordt en geleidelijk de functie van het corpus luteum overneemt.

### *Hyperprolactinemie*

Prolactine is een hormoon dat wordt afgescheiden door de voorkwab van de hypofyse en onder negatieve controle van de hypothalamus staat via dopaminerge inhibitie. In geval van stijging van prolactine in het serum kan dit hormoon interfereren met de normale regulatie van de reproductieve as op verschillende niveaus. Hierdoor kan een spectrum van ovulatoire dysfuncties ontstaan, gaande van een inadequate luteale fase tot anovulatie door totale GnRH-suppressie (2). Andere symptomen zijn galactorroe en verminderde libido. Bij niet zwangere hypo-oestrogene vrouwen ( $E_2 < 50 \text{ ng/l}$  of  $< 185 \text{ pmol/l}$ ) met amenorroe bedraagt de bovenste normale limiet voor serumprolactine 400-500 mIU/ml. Wanneer de oestrogeenstatus normaal is bedraagt deze bovenste normale limiet 600-800 mIU/ml (3). De stress die veroorzaakt wordt door een venapunctie kan echter voldoende zijn om verhoogde serumprolactinewaarden te veroorzaken. Indien verhoogd dient de meting van serumprolactine daarom herhaald te worden 's morgens en nuchter. De oorzaken van niet-fysiologische hyperprolactinemie zijn: prolactine producerende adenomen (40-50% van de gevallen), andere tumoren van de hypofysaire regio die interfereren met de inhiberende invloed van de hypothalamus, stoornissen in de andere endocriene assen: in het bijzonder primaire hypothyroïdie (door de prolactinestimulerende actie van het thyrotrophin-releasing hormone (TRH)), polycysteus-ovariumsyndroom (in 20%). Ook medicatie zoals neuroleptica (fenothiazines, butyrofenonen), antidepressiva, antihypertensiva (reserpine, methyldopa) en hoge doses oestrogenen zijn een frequente oorzaak van hyperprolactinemie. Een CT-scan of MRI van de hypofysaire regio dient te worden uitgevoerd om een leeg-sellasyndroom of een adenoom te detecteren. In geval van hyperprolactinemie dient eveneens een serum-TSH-bepaling uitgevoerd te worden ter uitsluiting van primaire hypothyroïdie (4). In geval van hypothyroïdie kan immers normalisatie van prolactineconcentraties en heroptreden van ovulatie worden verkregen na thyroxinebehandeling. Belangrijk is eveneens een grondige anamnese om het gebruik van prolactine stimulerende medicatie uit te sluiten. Nierinsufficiëntie is een andere oorzaak van hyperprolactinemie.

### *Hypogonadotroop hypogonadisme*

Hypogonadotroop hypogonadisme wordt gekenmerkt door een verlaagd serumoestradiol (< 40 ng/l of <150 pmol/l) met normale of verlaagde serum-FSH- en -LH-waarden. Het meest frequent gaat het om verworven hypothalamische hypofuncties. Ondervoeding (bv. anorexia nervosa), emotionele stress en intensieve sportbeoefening kunnen aan de basis liggen hiervan. Anderzijds kunnen tumoren (zoals craniofaryngeomen en niet-functionerende hypofyse-adenomen) en ischemie en necrose van de hypofyse (zoals in het Sheehan-syndroom door obstetrische shock) leiden tot hypogonadotroop hypogonadisme. Tenslotte kunnen stoornissen in de andere endocriene assen (bijnier en schildklier) verantwoordelijk zijn: zie tabel 1. Amenorroe met dysthyroïdie komt frequent voor. Zeldzamer is een congenitale vorm, het Kallmann-syndroom, dat wordt gekenmerkt door een deficiëntie van pulsatiele GnRH-secretie met anosmie. Het syndroom ontstaat door het uitblijven van de migratie van GnRH-neuronen vanuit de olfactoriële placode naar de nucleus arcuatus tijdens de embryonale ontwikkeling. De patiënten vertonen primaire amenorroe en de afwezigheid van secundaire geslachtskenmerken. Zowel serumgonadotropines als -oestradiol zijn lager dan de detectielimiet van de assays.

### *'Normogonadotroop' hypogonadisme*

In deze toestand zijn serum-FSH- en -LH-concentraties in random bloedmonsters vaak normaal. Er is geen daling van serumoestradiol aangezien deze patiënten een zekere ovariële activiteit behouden. Normogonadotroop hypogonadisme wordt echter gekenmerkt door een zekere verstoring in de pulsatiele GnRH-vrijstelling (5). Meestal gaat het om een zogenaamd polycysteus-ovariumsyndroom (PCOS). Het PCOS komt voor in 4 tot 7% van vrouwen van reproductieve leeftijd. Het endocrinologisch laboratoriumonderzoek speelt een essentiële rol in de diagnose. Men spreekt ook over 'hyperandrogene anovulatie' omdat in bijna 50% van de gevallen serumandrogenen verhoogd zijn in een random bloedmonster. Het syndroom omvat een heterogene groep gekarakteriseerd door een normaal serum-FSH, normaal of verhoogd (in 50 % van de gevallen) serum-LH, een verhoogde LH:FSH-ratio, een verhoogde vrije androgeenindex en een glucose-intolerantie met hyperinsulinisme (6). Door het hyperinsulinisme is het serum-HBG verlaagd, het totale serumtestosteron is echter meestal normaal of licht verhoogd (doch  $\leq 1.5$   $\mu\text{g/l}$  of 5 nmol/l). Dit resulteert in een verhoging van vrij testosteron of van de vrije androgeenindex en de klinische symptomen van hyperandrogenisme. Androsteendion is eveneens vaak verhoogd, terwijl dehydroepiandrosteronsulfaat (DHEAS), een merker van adrenaal hyperandrogenisme, slechts in enkele gevallen verhoogd is (waarden  $\leq 6$  mg/l). Het hyperandrogenisme is dus vooral van ovariële oorsprong. Serumprolactine is normaal of verhoogd in PCOS. De patiënten kunnen obesitas, menstruele stoornissen, acne en hirsutisme vertonen en zijn vaak subfertiël. Echografisch zijn de ovaria vergroot en vertonen

meerdere subcapsulaire cysten met een diameter tussen 2 en 8 mm. Ter hoogte van het ovarieel stroma komt hypervascularisatie en hypertrofie voor. De exacte etiologie van PCOS is niet bekend en waarschijnlijk heeft de aandoening een genetische oorsprong. Een alternatieve hypothese is dat een verstoorde regulatie van hypothalamus en/of hypofyse eraan ten grondslag ligt.

Een hoge incidentie van anovulatie wordt frequent geassocieerd met overgewicht en een hoge waist-to-hip-ratio (7). Zoals in PCOS hebben veel obese vrouwen een hoge LH- en androgeensecretie met een relatieve insulineresistentie. Matig gewichtsverlies kan de fertiliteit herstellen in deze anovulatoire vrouwen met overgewicht.

De hyperandrogene status in PCOS dient onderscheiden te worden van die bij ovarium- en bijniertumoren en bij congenitale bijnierhyperplasie. Een aantal vrouwen met een late-onset congenitale bijnierhyperplasie te wijten aan 'non-classical' 21-hydroxylasedeficiëntie kunnen verward worden met PCOS. Niet-klassieke 21-hydroxylasedeficiëntie wordt gekenmerkt door een partiële enzymatische deficiëntie. Hierdoor verloopt de secretie van gluco- en mineralocorticoiden normaal, maar ten koste van een verhoogde ACTH-secretie met stapeling van de androgeenprecursoren 17-hydroxyprogesteron (17OH-P) en androsteendion vóór het partiële enzymatische blok. Deze enzymatische deficiëntie kan uitgesloten worden door de meting van 17OH-P in een ochtend-serummonster (normaal kleiner dan 3  $\mu\text{g/l}$  of 9 nmol/l). Indien verhoogd dient de diagnose bevestigd te worden met een 1-uurs-ACTH-test. Na ACTH-stimulatie bevestigt een 17 OH-P-waarde hoger dan 10  $\mu\text{g/l}$  (30 nmol/l) de diagnose. In geval van androgeenproducerende tumoren van ovarium en bijnier zijn testosteronconcentraties typisch hoger dan 2  $\mu\text{g/l}$  (7 nmol/l). Medische beeldvorming kan hier de diagnose bevestigen.

### *Hypergonadotroop hypogonadisme*

Bij hypergonadotroop hypogonadisme is het serum-FSH verhoogd. Een FSH-stijging wordt hier gedefinieerd als het voorkomen van waarden hoger dan 20 mIU/ml (voor de meeste assays) in minstens 2 metingen (8). Deze FSH-stijging gaat gepaard met een hypo-oestrogene toestand (serum E2 < 40 ng/l of 150 pmol/l) door een primaire ovariële insufficiëntie (9). In geval van primaire amenorroe met gonadale atresie dient een karyotypering te gebeuren. De aanwezigheid van een Y-chromosoom (46, XY) is een indicatie voor het chirurgisch verwijderen van de gonaden gezien het risico op maligne degeneratie. Het Turner-syndroom wordt gekenmerkt door een 45XO-karyotype, al dan niet met een zekere graad van mozaïcisme. Voor vrouwen tussen 25 en 40 jaar gaat het meestal om prematuur ovariumfalen (POF). Aan sommige gevallen kan een autoimmuunproces gericht tegen de ovaria ten grondslag liggen. De bepaling van auto-antilichamen gericht tegen schildklier, bijnier en ovaria kan hier nuttig zijn: autoimmuun POF is frequent geassocieerd met antilichamen tegen schildklierantigenen en met autoimmuun Addison. Een

karyotypebepaling kan nuttig zijn want geslachtschromosoommozaïcismen kunnen leiden tot prematuur ovariumfalen. Bovendien is een mozaïcisme van het Y-chromosoom geassocieerd met een 25%-risico op de ontwikkeling van maligne ovariële tumoren. In de meeste gevallen gaat het echter om een idiopathische vorm van POF. Patiënten die na de menarche behandeld werden met chemotherapie kunnen secundaire amenorroe vertonen van variabele duur. Hoe jonger de patiënte, hoe groter de kans dat er nog primordiale follikels overleefden met heroptreden van menses. Bij vrouwen ouder dan 30 jaar bestaat echter een hoge kans op permanent ovariumfalen, doordat de pool aan eicellen reeds sterk is teruggelopen op deze leeftijd. Het resistent ovary syndrome (ook syndroom van Savage genoemd) tenslotte wordt gekenmerkt door de aanwezigheid in een ovariumbiopt van duizenden gonadotropine-ongevoelige follikels, zich enkel bevindend in vroege ontwikkelingsstadia (primordiale follikels). De follikels kunnen zich niet ontwikkelen ondanks gestegen gonadotropineconcentraties. Deze zeer zeldzame gevallen hebben waarschijnlijk FSH-receptormutaties (10).

### **Selectie van therapie: ovulatie-inductie of superovulatie voor in-vitrofertilisatie (IVF) of intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI)**

De specifieke selectie van therapie voor anovulatie is afhankelijk van de correcte diagnosestelling d.m.v. endocrinologisch laboratoriumonderzoek. In geval van anovulatie streeft men d.m.v. ovulatie-inductie naar het induceren van de ovulatie van één mature eicel, m.a.w. het herinstellen van een normale menstruele cyclus. Er kunnen echter 2 of 3 eicellen ovuleren met een verhoogd risico op meerlingzwangerschap. Wanneer naast ovulatoire stoornissen ook andere factoren meespelen, zoals tubaire beschadiging of semen van slechte kwaliteit, is men aangewezen op in-vitrofertilisatie of ICSI. Voor in-vitrofertilisatie of ICSI streeft men naar de rijping van meerdere eicellen. Selectie uit een aantal embryo's voor terugplaatsing in de uteriene caviteit verhoogt immers de kans op zwangerschap.

#### *Ovulatie-inductie*

Indien noodzakelijk zullen eerst algemene maatregelen ingesteld worden om de ovulatie opnieuw op gang te brengen, zoals normale voeding i.g.v. ondervoeding, stoppen van excessieve sportbeoefening, stoppen met roken, enz...

#### **Hyperprolactinemie**

Medicamenteuze behandeling met prolactineverlagende geneesmiddelen is de eerstekeuzebehandeling voor idiopathische hyperprolactinemie en prolactinomen. Het meest gebruikt is bromocriptine, waarmee een normalisatie van serumprolactine wordt bereikt in ongeveer 80% van de patiënten met microprolactinomen of idiopathische ziekte en een herstel van de ovariële functie in ongeveer 85% (11). Voor patiënten met macroprolactinomen bedragen deze percentages respectievelijk ongeveer 65% en meer dan 50%. Bromocriptine kan ook vaginaal worden toegediend: de

absorptie van bromocriptine verloopt dan langzamer dan bij orale toediening, zodat langduriger therapeutische bloedconcentraties worden bereikt. Hierdoor kan de medicatie minder frequent toegevend en in lagere concentraties met bijgevolg minder neveneffecten (12). De monitoring van de behandeling gebeurt d.m.v. prolactine- en progesteronbepalingen. Indien geen herstel van ovulatie optreedt onder de behandeling, kan de dosis bromocriptine worden verhoogd op basis van de individuele respons. Andere mogelijke medicaties zijn lisuride, pergolide, andere ergotderivaten en langwerkend cabergoline. Het meest effectief en best getolereerd is cabergoline (13). Indien ovulatie niet optreedt ondanks normale serumprolactine kunnen deze verschillende geneesmiddelen gecombineerd worden met cyclisch toegediende anti-oestrogenen (14). Indien onder deze combinatietherapie nog steeds geen ovulatie optreedt kan men een ovulatie-inductietherapie instellen met cyclisch toegediende gonadotropines of pulsatiele GnRH-toediening. Het voordeel van prolactineverlagende geneesmiddelen is dat het risico op meerlingzwangerschap of op vroegtijdige miskraam vermeden wordt (15).

#### **Hypogonadotroop hypogonadisme (WHO-groep I)**

Specifieke oorzaken zoals malnutritie en excessieve sportbeoefening dienen eerst te worden aangepakt. In persisterende anovulatie is de eerstelijnsbehandeling pulsatiele GnRH-toediening. GnRH wordt pulsatieel toegediend, intraveneus of subcutaan, door middel van een klein pompje dat op de bovenarm bevestigd kan worden. Deze groep reageert zeer goed op de behandeling: in 80 tot 90% van de cycli zal op deze wijze een ovulatie geïnduceerd worden. Alternatieven zijn humaan menopausaal gonadotropine (hMG) en humaan choriongonadotropine (hCG). De voordelen van pulsatiele GnRH-toediening tegenover gonadotropines zijn: de hoge zwangerschapsratio per cyclus, het klein risico op het ovarieel hyperstimulatiesyndroom (OHSS) en meerlingzwangerschap en dus de minimale vereiste voor monitoring (16). Het nadeel is dat een pompje moet worden gedragen voor de pulsatiele GnRH-toediening. Een nadeel van de intraveneuze toediening is dat kans op ontwikkeling van flebitis bestaat. Indien anovulatie wordt veroorzaakt door primair hypofysair falen dienen onmiddellijk gonadotropines te worden toegediend.

#### **Normogonadotrope anovulatoire stoornissen (WHO-groep II)**

Als algemene maatregel dienen obese patiënten (BMI > 25) te vermageren. In vrouwen met PCOS veroorzaakt gewichtsverlies een verlaging van de LH-secretie en een verminderde insulineresistentie. De groep wordt gekenmerkt door een minder gunstige respons op ovulatie-inductie. Indien er respons is bestaat er een verhoogd risico op het OHSS. Men spreekt om deze laatste reden van deze PCOS-like groep als 'high responders'. De vroege folliculaire ontwikkeling lijkt normaal te verlopen bij deze patiënten. De anovulatie zou kunnen worden verklaard door een verstoorde selectie van een dominante follikel, te wijten aan een verstoorde intra-ovariële regulatie van de

**Tabel 2.** Ovulatie-inductie: therapiekeuze bij verschillende oorzaken van anovulatie

Oorzaak van anovulatie	Eerstelijns therapie	Tweedelijns therapie
Hyperprolactinemie	Prolactine verlagende medicatie (bromocriptine)	Prolactine verlagende medicatie (bromocriptine) + cyclisch toegediende anti-oestrogenen
Hypogonadotroop hypogonadisme	Pulsatiele GnRH-toediening	hMG
Normogonadotroop hypogonadisme	Anti-oestrogenen (clomifeencitraat)	RecFSH, uFSH of hMG
Hypergonadotroop hypogonadisme	Hoge dosis gonadotropines	

RecFSH: recombinant FSH; uFSH: urinair FSH.

FSH-werking. De eerstelijns therapie is een anti-oestrogeen zoals clomifeencitraat, gezien het kleiner risico op OHSS en op meerlingzwangerschap (zie verder). Clomifeencitraat werkt voornamelijk ter hoogte van de hypothalamus, waar het anti-oestrogeen bindt op oestradiolreceptoren, zodat de binding van endogeen oestradiol wordt verhinderd en aldus de afscheiding van GnRH wordt gestimuleerd. Indien de bijnerandrogenen (DHEA-S) verhoogd zijn kan de toevoeging van dexamethason bij clomifeencitraat nuttig zijn (17). De clomifeencitraat-resistente vrouwen kunnen worden behandeld met lage dosis gonadotropinestimulatie (18,19). De lagedosismodificatie geeft een lagere zwangerschapskans dan het klassieke 'high dose step-up' protocol en intensieve monitoring is vereist, maar meerlingzwangerschappen en OHSS treden minder frequent op met deze lagedosistherapie. In PCOS-patiënten die moeilijk te behandelen zijn door het optreden van premature LH-pieken kan men overgaan op ovulatie-inductietherapie met GnRH-agonisten of -antagonisten (ter preventie van premature LH-pieken, zie verder) in combinatie met gonadotropines.

#### Hypergonadotroop hypogonadisme

De behandeling met hoge doses gonadotropines is vaak niet efficiënt bij deze patiënten. De prognose in deze groep is immers slecht door de bestaande depletie van de folliculaire reserve, men spreekt van 'poor responders'. Deze patiënten kunnen wel vlot zwanger worden na een eiceldonatie. Men dient steeds de hypo-oestrogene toestand te behandelen om op lange termijn osteoporose en cardiovasculaire aandoeningen te voorkomen. In tabel 2 wordt een overzicht gegeven van de ovulatie-inductietherapie in de verschillende subgroepen van anovulatie.

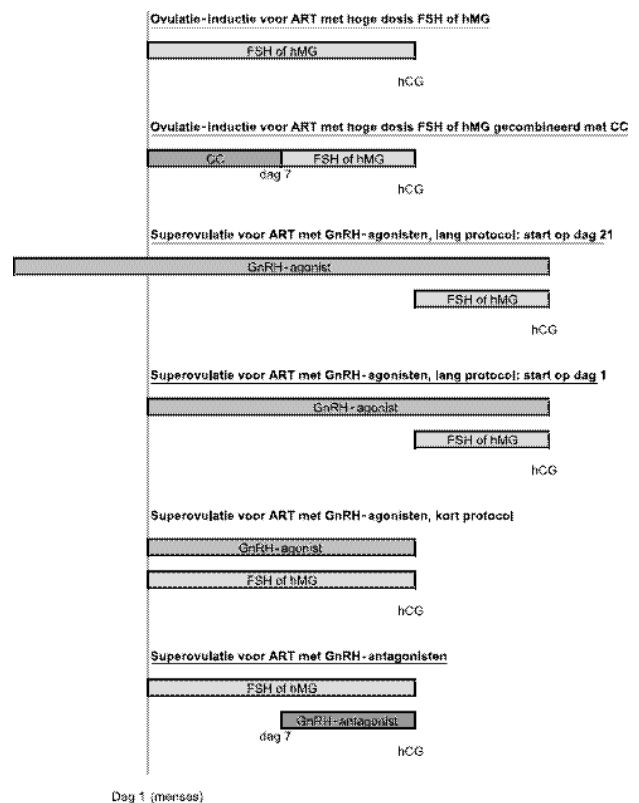
#### Superovulatie voor IVF of ICSI

Vanaf het eind van de jaren '80 besloot men om in het kader van superovulatie voor IVF het endogene LH van de patiënte te onderdrukken. Deze strategie resulteerde in een verhoging van het succespercentage met 5 à 10 % (20). Om de negatieve effecten van premature LH-pieken (zie verder) te vermijden tijdens de stimulatie wordt eerst met GnRH-agonisten of met GnRH-antagonisten een hypofysaire suppressie geïnduceerd. Vervolgens gebeurt de superovulatie-inductie door toediening van gonadotropines (humaan menopauaal gonadotropine (hMG)), recombinant FSH of gezuiverd urinair FSH) die rechtstreeks in-

werken op de ovaria, waar de ontwikkeling van verschillende follikels gestimuleerd wordt. De voltooiing van oöcytmaturatie wordt gerealiseerd door toediening van een éénmalige bolusinjectie van humaan choriongonadotropine (hCG) in de laatfolliculaire fase, wanneer een voldoende groot aantal follikels met grote diameter gevisualiseerd wordt op echografie. Tenslotte wordt het corpus luteum tijdens de luteale fase ondersteund door exogene progesteron- of hCG-toedieningen.

#### GnRH-agonisten (GnRHa)

GnRH is een decapeptide dat pulsatieel afgescheiden wordt door de hypothalamus; het bindt met hoge affiniteit receptoren van de gonadotrope cellen van de hypofyse, leidend tot de fysiologische synthese en secretie van FSH en LH. GnRH-agonisten (GnRHa) binden met hoge affiniteit op de hypofysaire GnRH-receptoren en veroorzaken eerst een initiële stijging



**Figuur 2.** Schematische weergave van de verschillende protocollen voor (super)ovulatie-inductie voor IVF/ICSI. ART: kunstmatige bevruchting; CC: clomifeencitraat.

**Tabel 3.** Keuze van stimulatieschema's voor IVF gebruikt bij verschillende klinische indicaties in de Vrije Universiteit Brussel

Indicatie	Stimulatieschema
< 37 jaar en normo-ovulatoir	GnRH-agonisten lang protocol met FSH (of hMG) en hCG of GnRH-antagonisten met FSH (of hMG) en hCG <i>startdosis FSH (of hMG): 150 eenheden per dag</i>
> 37 jaar en normo-ovulatoir	GnRH-agonisten kort protocol met FSH (of hMG) en hCG of GnRH-antagonisten met FSH (of hMG) en hCG <i>startdosis FSH (of hMG): 225 eenheden per dag</i>
PCOS na falen ovulatie-inductie-therapie	GnRH-agonisten lang protocol met recFSH en hCG <i>startdosis FSH: 50 eenheden per dag en traag verhogen</i>

RecFSH: recombinant-FSH

van LH en FSH (flare-up effect). Lange GnRH-agonisttoediening veroorzaakt een desensitisatie en down-regulatie van de GnRH-receptoren leidend tot de suppressie van LH- en FSH-secretie. Hierdoor gaan de antrale follikels gerecruiteerd tijdens de flare-up in atresie. Om een volledige hypofysaire suppressie te verkrijgen dienen GnRH-agonisten 2 tot 3 weken te worden toegediend. Zodra deze ovariële rustfase is bereikt worden exogene gonadotropines geïnjecteerd om een nieuw cohort follikels te recruter. De introductie van GnRH-agonisten heeft geleid tot een sterk verhoogde efficiëntie van ovariële stimulatie door de preventie van premature LH-pieken tijdens de stimulatie (20). Deze premature LH-pieken hebben een negatieve invloed op de kwaliteit van oöcyten en embryos en de stijgende progesteronconcentraties kunnen negatieve effecten hebben op het endometrium. Hierdoor veroorzaken premature LH-pieken verminderde zwangerschapsratios. Met de introductie van GnRH-agonisten verminderde het aantal vroegtijdig beëindigde stimulatiecycli (te wijten aan premature LH-pieken) van ongeveer 25% (in cycli met gonadotropinestimulatie zonder hypofysaire suppressie) tot 2%. Er zijn verschillende protocollen mogelijk. Het lange protocol streeft naar een volledige hypofysaire desensibilisatie. In het korte protocol wordt gebruik gemaakt van de initiële stijging van gonadotropines (flare-up effect) voor de initiatie van de folliculaire groei. Het lange protocol is het meest effectieve en meest gebruikte protocol, men start hierin meestal met de toediening van GnRH-agonisten op dag 21 van de vorige cyclus (men kan ook op dag 1 van de cyclus starten, zie figuur 2). Nadelen van het lange protocol zijn de lange therapieduur en de hogere kosten door een groter vereiste dosis gonadotropines. Na de beëindiging van de GnRH-toediening duurt het meerdere weken voor de endogene FSH- en LH-secretie opnieuw op gang komt, wat mogelijk een bijdragende factor is tot lutealefasedeficiëntie (met noodzaak voor luteale supplementatie). Luteale supplementatie kan toegediend worden in de vorm van hCG (als surrogaat voor LH) of in de vorm van progesteron. De hoge efficiëntie van het lange protocol

heeft als keerzijde een risico voor ontwikkeling van het ovariumhyperstimulatiesyndroom (OHSS) bij 1 à 5 % van de behandelde vrouwen. Een strikt monitoringprotocol is dan ook noodzakelijk.

#### GnRH-antagonisten

Recent kwamen GnRH-antagonisten op de markt voor klinische toepassing bij geassisteerde bevruchting. GnRH-antagonisten binden op competitieve wijze op de hypofysaire GnRH-receptoren en verhinderen aldus de stimulerende werking van endogeen GnRH op de hypofyse. Er treedt dus geen flare-up effect op en de gonadotropinesecretie is reeds onderdrukt na enkele uren. Door de competitie met endogeen GnRH is het effect van GnRH-antagonisten in tegenstelling tot de GnRH-agonisten sterk dosisafhankelijk. De korte mid-cyclische toediening van GnRH-antagonisten is in staat om succesvol LH-pieken te voorkomen met een snel herstel van endogene LH- en FSH-secretie na het stoppen van de GnRH-antagonist. Dit laatste fenomeen kan een rol spelen in de lagere dosis exogeen FSH of hMG die vereist is voor de ovariële stimulatie. De eerste generatie GnRH-antagonisten veroorzaakte allergische reacties door vrijmaking van histamine en gelformatie na toediening, te wijten aan de hoge hydrofobiciteit (21). Met de derde-generatie-GnRH-antagonisten (Ganirelix en Cetrorelix) komen deze problemen niet meer voor. Uit verschillende gerandomiseerde prospectieve studies is intussen gebleken dat de zwangerschapsratio's per cyclus niet significant verschillend zijn in superovulatie schema's met GnRH-agonisten of met GnRH-antagonisten. Er bestaan echter enkele belangrijke voordelen voor het gebruik van GnRH-antagonisten boven GnRH-agonisten: de kortere duur van de stimulatiecyclus, de vermindering van de totale hoeveelheid gonadotropines noodzakelijk voor de stimulatie (lagere kostprijs) en vooral een duidelijk verminderd risico op de ontwikkeling van het OHSS. Bovendien biedt het gebruik van GnRH-antagonisten nieuwe perspectieven voor ovulatie-inductie met GnRH-agonisten of natief GnRH omdat de hypofysaire respons op GnRH blijft bestaan onder GnRH-antagonisten (in tegenstelling

tot de situatie in protocollen met GnRH-agonisten waar de hypofyse ongevoelig is voor GnRH). Op die manier laten GnRH-antagonisten bij gevoelige patiënten toe het gebruik van hCG voor ovulatie-inductie te vervangen door GnRH. De langere halfwaardetijd en de hogere affiniteit van hCG voor ovariële LH-receptoren leidt namelijk tot een groter risico op OHSS in vergelijking met GnRH-agonisten of natief GnRH. Superovulatie-inductie met GnRH-antagonisten zal daarom in de toekomst meer en meer het klassieke lange protocol met GnRH-agonisten vervangen. In figuur 2 wordt een overzicht gegeven van alle therapieschema's voor (super)ovulatie-inductie voor geassisteerde bevruchting (ART). In tabel 3 wordt een overzicht gegeven van de eerstelijnstherapieschema's voor superovulatie voor IVF in normo-ovulatoire vrouwen en in PCOS na het falen van ovulatie-inductietherapie.

#### *'Zachte' poly-ovulatie-inductie met hMG of clomifeencitraat*

In geval van idiopatische infertiliteit kan men de kans op conceptie verhogen door een gecombineerde behandeling van 'zachte' ovariële stimulatie met intra-uteriene inseminatie van sperma. Voor deze vorm van ovariële stimulatie maakt men gebruik van clomifeencitraat of hMG met als streefdoel de maturatie van een paar follikels.

#### **Monitoringschema's voor ovulatie-inductie en voor superovulatie**

De aard van de monitoring hangt af van de ingestelde behandeling. In ovulatie-inductie met pulsatiel GnRH of clomifeencitraat voor respectievelijk WHO-groep I of -II, is slechts een minimale hormonale monitoring en ultrasound-follow-up noodzakelijk, met als doel de folliculaire groei te sturen tot een mono-ovulatie. De kans op de ontwikkeling van multiple follikels is klein gezien het feit dat de centrale oestrogeenge-medieerde negatieve feedback in zekere mate blijft bestaan (in tegenstelling tot de situatie bij superovulatie-inductie met gonadotropines). Met clomifeencitraat komen tweelingzwangerschappen voor in 10% van alle zwangerschappen en met FSH of hMG tweeling- in 20% en drielingzwangerschappen in 1% (gegevens AZ-VUB). Het tijdstip van de ovulatie wordt bepaald door de vaststelling van de spontane LH-piek. Indien de behandeling na 3 of 4 cycli niet efficiënt was, wordt echter een meer uitgebreide hormonale en ultrasound-follow-up ingesteld om de ovariële respons van nabij te volgen.

Voor ovariële superovulatie is echter steeds een nauwkeurige monitoring noodzakelijk. Men gaat na in hoeverre de hypofysaire suppressie volledig is voor de start van superovulatie-inductie. De folliculaire respons op superovulatie-inductie wordt gevolgd voor eventuele aanpassing van duur, frequentie en dosis van toediening. Het ideale tijdstip voor hCG-injectie wordt bepaald. Een ernstige complicatie van superovulatie-inductie is het ovarieel hyperstimulatiesyndroom (OHSS). Het OHSS wordt gekenmerkt door vergrote ovaria, extravasatie van vocht in de abdominale holte resulterend in ascites, hypovolemie, hemo-

concentratie en potentieel nierfalen, trombo-embolische complicaties en respiratoir falen. Dit syndroom treedt op in 2 tot 5% van de patiënten, bij superovulatie met het lange GnRHa-protocol (22). De meest ernstige vorm komt voor in 1% van de gevallen en is potentieel levensbedreigend. De ovariële respons op superstimulatie blijkt onderhevig aan een grote intra-individuele variatie en er zou slechts een kleine marge bestaan tussen de effectieve dosis en de dosis met excessieve ovariële respons. Deze complicatie kan echter vermeden worden door de continue monitoring van de ovariële respons met serumoestradiolconcentraties en echografische monitoring van de ovaria.

#### *Ovulatie-inductie*

Veiligheidshalve wordt voor het instellen van elke behandelingscyclus (met pulsatiel GnRH, clomifeencitraat of gonadotropines) hCG bepaald in anovulatoire vrouwen. Hierdoor kan men het toedienen van medicatie gedurende een zwangerschap vermijden. Voor de start van de behandeling of op de eerste dag van de menstruele bloeding is het verder aanbevolen LH, FSH, E2 en progesteron te bepalen als baseline-waarden. De waarden voor E2 en progesteron moeten duiden op een vroege folliculaire fase, zo niet kunnen residuele ovariële cysten aanwezig zijn. De behandeling mag niet worden gestart in aanwezigheid van dergelijke residuele cysten. Indien E2 en/of progesteron verhoogd zijn ( $E2 \geq 50$  ng/l of 185 pmol/l en progesteron  $\geq 1.5$  µg/l of 4.8 nmol/l) wordt een nieuw serummonster afgenomen 3 dagen later. Eventueel worden de cysten eerst ambulant aangeprikt (indien ze ofwel talrijk, ofwel solitair zijn maar zeer groot).

#### *Hyperprolactinemie*

De efficiëntie van de behandeling met prolactineverlagende medicatie wordt gevolgd d.m.v. serumprolactinebepalingen. Heroptreden van ovulatie kan worden bevestigd met progesteronbepalingen (zie boven).

#### *Hypogonadotroop hypogonadisme (WHO-groep I)*

Pulsatieve GnRH-toediening: de aanpassing van dosis en pulsafrequentie gebeurt met serum-E2, -LH, -FSH en met echografie 1 week na de start van de behandeling. Wanneer een follikel van meer dan 10 mm zichtbaar wordt en E2 exponentieel begint te stijgen kan de verdere follow-up gebeuren door echografie of door serum-LH en -E2 om de ovulatie te voorspellen.

#### *Normogonadotroop hypogonadisme (WHO-groep II)*

Ovulatie-inductie met clomifeencitraat (tabel 4): clomifeencitraat (100 mg/dag) wordt oraal toegediend van dag 3 tot dag 7 van de cyclus. De efficiëntie van de therapie kan worden gevolgd door de bepaling van serum-E2 en -LH op dag 10 van de cyclus en nadien om de 2 dagen tot het optreden van de LH-stijging. Indien een hCG-injectie wordt toegediend vindt deze plaats wanneer de follikeldiameter 17 tot 21 mm bedraagt op echografie en wanneer serum-E2 gestegen is tot 200 à 250 ng/l (750 à 900 pmol/l) per follikel groter dan 15 mm diameter. Patiënten die niet reageren op clomifeencitraat kunnen worden geholpen met



**Tabel 4.** Ovulatie-inductie met clomifeencitraat: clomifeencitraat (dag 3-7) + hCG (5000 IU)

dag	1 = menses	10	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
	hCG				hCG
Hormonale monitoring en vaginale echografie	P E2 LH FSH	P E2 LH om de 2 dagen indien E2 < 350 pmol/l; elke dag indien E2 > 350 pmol/l	P E2 LH	P E2	P E2
	ECHO	ECHO indien E2 > 550 pmol/l	ECHO indien 1 follikel ≥ 20 mm, geef hCG 5000 IU		

**Tabel 5.** Ovulatie-inductie met gonadotropines (recombinant FSH of hMG): low-dose step-up protocol + hCG (5000 IU)

dag	1 = menses	6	8	10	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
	hCG						hCG
Hormonale monitoring en vaginale echografie	P E2 LH FSH	E2 LH	E2 LH	E2 LH	P E2 LH	P E2	P E2
	ECHO			ECHO indien E2 > 1800 pmol/l	ECHO		

exogene gonadotropinetoediening: hMG, recombinant-FSH of gezuiverd urinair FSH. Deze worden toegediend in lage dosis met de bedoeling om één enkele follikel tot rijping te brengen. Hiertoe gebruikt men een 'low-dose step-up' protocol (tabel 5). Gedurende deze therapie dienen om de 4 dagen serum-bepalingen voor E2 te gebeuren totdat E2 exponentieel begint te stijgen. Daarna worden om de 2 dagen E2 en LH bepaald. Wanneer de E2-stijging groter is dan 100 ng/l (350 pmol/l) zal dagelijks E2 en LH worden gemeten om het optimale tijdstip voor de ovulatie-inducerende hCG-injectie te bepalen. Coïtus of intra-uteriene inseminatie moeten worden gepland de dag na een spontane LH-piek of 36 uur na de hCG-injectie. Evaluatie van de corpusluteumfunctie is mogelijk door serumprogesteronbepaling 7 dagen na de ovulatie (ideaal is progesteron dan > 10 µg/l of 32 nmol/l).

#### Hypergonadotroop hypogonadisme (tabel 6)

Deze patiënten reageren meestal slecht op massieve exogene gonadotropinetoediening. Ze vertonen quasi geen risico op de ontwikkeling van het OHSS of op meerlingzwangerschap. De monitoring van deze vrouwen is gericht op de detectie van stijgende E2-concentraties, geproduceerd door weinig follikels en nauwkeurige scanning van de ovaria voor normale ovariële groeipatronen (dit wil zeggen regelmatige structuren die ongeveer met 2 mm in diameter toenemen per dag).

#### Superovulatie voor IVF of ICSI

*Gebruik van GnRH-agonisten (GnRHa) in associatie met gonadotropines, tabel 7 en 8*

##### Lang protocol (tabel 7)

GnRH-toediening wordt best gestart op dag 21 van de menstruele cyclus, omdat de endogene spiegels van de gonadotropines dan het laagst zijn. GnRHa veroorzaakt een initiële stijging van LH en FSH (flare-up effect). Nadien kan de volledigheid van down-regulatie bevestigd worden met de meting van LH, E2 en progesteron. De streefwaarden zijn: LH < 2 IU/l, E2 < 50 ng/l (185 pmol/l) en progesteron < 0,5 µg/l (1.6 nmol/l). Indien de suppressie niet volledig is moet de GnRHa-dosis worden verhoogd, of GnRHa langer worden toegediend alvorens de toediening van gonadotropines te starten. Afhankelijk van de ovariële gevoeligheid en van de leeftijd bedraagt de startdosis voor hMG of FSH 75 tot 225 IU. Na de initiële 4 à 5 dagen gonadotropinetherapie wordt serum-E2 gemeten en indien E2 groter is dan 100 ng/l (350 pmol/l) wordt de dagelijkse dosis gonadotropines niet gewijzigd. Indien E2 lager is dan 100 ng/l worden 75 IU aan de dagelijkse dosis toegevoegd. E2 wordt dan opnieuw gecontroleerd na 3 dagen. Dosisaanpassing kan verder gebeuren met 75 IU of met 37,5 IU afhankelijk van de serum-E2 en van ultrasoundbevindingen. Een dagelijkse toename van serum-E2 met 40% is optimaal. Na een exponentiële stijging van E2

gedurende 7 à 9 dagen, zijn de follikels meestal tussen 17 en 23 mm groot met serum-E2-waarden van 200-300 ng/l (750-1100 pmol/l) per mature follikel > 15 mm. Een progressieve stijging van progesteron wijst op folliculaire maturiteit, maar de progesteronconcentratie mag 3 µg/l (9,5 nmol/l) niet overschrijden om premature transformatie van het endometrium (met terugplaatsing van embryo's na het implantatievenster) te vermijden. Een matige progesteronstijging (< 3 µg/l) met behoud van LH-suppressie (< 3 IU/l) heeft echter geen negatieve invloed op de IVF-uitkomst. Het tijdstip van injectie van de ovulatoire dosis van hCG (10.000 units) is cruciaal en is gebaseerd

op serum-E2-meting en ultrasound. Bij patiënten met een verhoogd risico voor OHSS op basis van serum-E2 en ultrasound kan men beslissen om hCG ter ovulatie-inductie niet toe te dienen en zeker niet als luteale supplementatie. Een van de redenen voor de ontwikkeling van een ernstig OHSS is namelijk de aanwezigheid van multiple functionele corpora lutea in de luteale fase. I.g.v. luteale supplementatie met hCG dient daarom serum-E2 gevolgd te worden: de waarde mag 2000 ng/l (7500 pmol/l) niet overschrijden. Indien deze waarden overschreden worden moet progesteron als luteaal supplement worden gebruikt (23).

**Tabel 6.** Ovulatie-inductie met hoge dosis gonadotropines (met of zonder clomifeencitraat) + hCG (5000 IU)

dag	1 = menses	8	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
	hCG			hCG	
Hormonale monitoring en vaginale echografie	P E2 LH FSH	P E2 LH dagelijks	P E2 LH	P E2	P E2
	ECHO	ECHO indien E2 > 1800 pmol/l	ECHO		

**Tabel 7.** Superovulatie-inductie voor IVF/ICSI met GnRH-agonisten; lang protocol, gecombineerd met gonadotropines

dag	1 of 21	week 1	week 2	week 3	Start stimulatie dag 1	dag 5	dag 8	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
Hormonale monitoring en vaginale echografie	LH FSH P E2	LH	LH	LH	P E2	E2	P E2 dagelijks indien E2 > 3500 pmol/l	P E2	P E2	P E2
	hCG indien start dag 1	hCG indien start dag 21	hCG indien start dag 22							hCG
	ECHO			ECHO			ECHO om de 2 dagen			

**Tabel 8.** Superovulatie-inductie voor IVF/ICSI met GnRH-agonisten; kort protocol, gecombineerd met gonadotropines

dag	1 = menses	3	8	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
Hormonale monitoring en vaginale echografie	LH FSH P E2	FSH P E2	LH E2 dagelijks indien E2 > 1800 pmol/l	LH P E2	P E2	P E2
	hCG					hCG
	ECHO		ECHO om de 2 dagen indien E2 > 1800 pmol/l			

**Tabel 9.** Ovulatie-inductie voor IVF/ICSI met hoge dosis gonadotropines + hCG (10.000 IU)

dag	1 = menses	10	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
	hCG				hCG
Hormonale monitoring en vaginale echografie	P E2 FSH	P E2 LH	P E2 LH	P E2	P E2
	ECHO	ECHO indien E2 > 1800 pmol/l			

**Tabel 10.** Ovulatie-inductie voor IVF/ICSI met GnRH-antagonisten en gonadotropines

dag	1 = menses start stimulatie	7 start antagonist	9	dag hCG	dag hCG +7	dag hCG +15
	LH FSH	LH	LH			
Hormoon monitoring en vaginale echografie	P E2 hCG	P E2 om de 2 dagen indien E2 < 3500 pmol/l dagelijks indien E2 > 3500 pmol/l		P E2	P E2	P E2 hCG
	ECHO	ECHO	ECHO			

**Kort protocol (tabel 8)**

In dit korte protocol wordt serum-LH niet altijd onderdrukt (in ongeveer 10% van alle cycli niet) en daarom is continue LH-monitoring nodig om tijdig de oöcyten te kunnen oppikken. Nochtans blijft dit flare-up protocol veel gebruikt juist omwille van de kortere duur. De toediening van GnRH-agonisten of van gonadotropines kan een stijging van progesteron > 3 µg/l (9,5 nmol/l) induceren. Dit is een gevolg van de reactivatie van het corpus luteum van de vorige cyclus en in dit geval dient met de toediening van gonadotropines even gewacht te worden.

**Stimulatie zonder GnRH-analogen (tabel 9)**

Indien er niet wordt gewerkt met GnRH-analogen kan er een spontane mid-cyclus-LH-stijging optreden tijdens de folliculaire groeifase, leidend tot folliculaire ruptuur en inzetten van de nucleaire rijping van de eicel. Deze LH-stijging dient dus opgespoord te worden in urine of serum (24). Wanneer LH begint te stijgen moet de oöcytrecuperatie gepland worden 30 uur later. Een stijging van progesteron en een daling van E2 samen met een LH-stijging wijzen op luteïnisatie en de start van de endometriumtransformatie.

**Gebruik van GnRH-antagonisten (tabel 10)**

Twee verschillende protocols voor toediening van GnRH-antagonist in ovariële stimulatie worden in de literatuur voorgesteld: het 'multiple dosisprotocol' met verschillende toedieningen en het 'éénmalige dosisprotocol' (25,26). In het multiple dosisprotocol

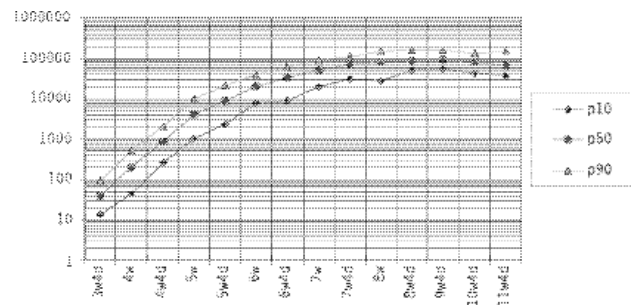
start men op cyclusdag 2 met de toediening van 2 ampules urinaire of recombinante gonadotropines per dag. Op dag 5 moet de gonadotropinedosis eventueel worden gewijzigd in functie van de individuele ovariële respons. Vanaf cyclusdag 7 (vanaf wanneer een premature LH-piek kan voorkomen) wordt de GnRH-antagonist dagelijks toegediend totdat aan de criteria voor ovulatie-inductie is voldaan (op basis van serum-E2 en echografie). Een hCG-injectie wordt dan toegediend. De minimale effectieve dosis van Cetrotorelix om premature LH-pieken te vermijden is 0,25 mg s.c. per dag. In het éénmalige dosisprotocol injecteert men een éénmalige dosis (minimale effectieve dosis 3 mg) Cetrotorelix op dag 8 van de cyclus. Een hogere dosis wordt toegediend dan in het multiple dosisprotocol aangezien er een dosisafhankelijke duur in de activiteit van GnRH-antagonisten bestaat. Men heeft kunnen aantonen dat met dit protocol eveneens efficiënt premature LH-pieken kunnen worden vermeden.

**'Zachte' poly-ovulatie-inductie met hMG**

Men volgt de serum-E2-waarden op met eventuele dosisaanpassingen van hMG in geval van onvoldoende ovariële respons. Op basis van serum-E2-waarden en van de ultrasound bevindingen wordt het tijdstip van HCG-injectie bepaald met als doel de ovulatie van één of een paar mature eicellen. Gedurende de folliculaire fase worden eveneens serumprogesteron en -LH gevolgd om premature LH-pieken op te sporen. De intra-uteriene inseminatie wordt gepland 36 uur na de hCG-injectie.

### Diagnose en monitoring van zwangerschap na geassisteerde voortplantingstechnieken

De bepaling van hCG wordt gebruikt in de diagnose van zwangerschap en in de diagnose van (dreigende) miskraam en ectopische zwangerschap. Exogeen hCG (toegediend in ovulatie-inductie of in superovulatietherapie) kan in de urine teruggevonden worden tot 14 dagen na de laatste toediening. Tijdens deze periode kunnen serum-hCG-waarden  $< 50$  mIU/ml het gevolg zijn van de exogene toediening. Serum hCG-waarden  $> 50$  mIU/ml of stijgende waarden zijn indicatief voor endogene hCG-productie door het trofoblastweefsel. hCG speelt eveneens een belangrijke rol in de monitoring van de vroege zwangerschap na geassisteerde bevruchting. Technieken voor geassisteerde bevruchting gaan immers gepaard met een verhoogd risico voor spontane miskraam of ectopische zwangerschap. Na ovulatie-inductietherapie en geassisteerde bevruchting werd een frequentie van klinische miskraam gerapporteerd van 20 tot 35% (27, 28). Verder werd beschreven dat ongeveer 16% van alle klinisch gediagnosticeerde zwangerschappen na ovariële stimulatie anembryonisch zijn. In deze laatste zwangerschappen is er zeer vroegtijdig een falen van de embryonale ontwikkeling, met daarna resorptie van het embryo (29). Na geassisteerde bevruchting stelt men bovendien frequent volgend fenomeen vast: een initiële observatie van één of meerdere vruchtzakken (rond 8-10 weken) met foetale hartslag, maar enkele weken daarna het verdwijnen van één of meer van de conceptussen. Men heeft aangetoond dat in zwangerschappen na geassisteerde bevruchting tot 40% van de implantaties verdwijnen in de vroege zwangerschap (30). Ectopische zwangerschap komt voor in 3 tot 6% van de IVF-populatie (31). Vrouwen met tubaire pathologie hebben een verhoogd risico op recurrente ectopische zwangerschap na IVF (32). In het Centrum voor Reproductieve Geneeskunde van de Vrije Universiteit van Brussel vraagt men aan alle vrouwen na geassisteerde bevruchting 2 maal per week een serummonster vanaf de tiende dag na de embryotransfer. Dit om een eventuele zwangerschap te diagnosticeren en ter follow-up van de zwangerschap in het eerste trimester. De waarden voor serum-hCG worden geplotted op een referentiegrafiek waarop de percentielen 10, 50 en 90 aangeduid zijn (figuur 3). Serum-hCG-waarden gedaald onder de percentiel 10 binnen 4 weken na embryo-implantatie zijn een belangrijk predictief alarmsignaal: ze komen voor in 79% van de ectopische zwangerschappen en in 84% van de preklinische abortussen (korte implantatie met soms slechts een uitstel van mensjes gedurende 1 of 2 dagen). Voor de voorspelling van klinische abortus, na visualisatie van de vruchtzak op week 6, is serum-hCG echter minder accuraat. Slechts 37% van de gevallen had een hCG-waarde onder de percentiel 10 voor normale zwangerschappen tijdens de eerste 4 weken na embryotransfer. Na geassisteerde bevruchting (waar de exacte datum van embryotransfer bekend is) heeft de afwezigheid van een intra-uteriene zak vanaf dag 24 na conceptie een hoge sensitiviteit (99%) voor ectopische implantaties, met echter een lage specificiteit



**Figuur 3.** Referentiewaarden van hCG in eenlingzwangerschappen. Serum-hCG-waarden (IU/l) in normale eenlingzwangerschappen als functie van de zwangerschapsduur (d: dag; w: week). p10, p50, p100: percentielen 10, 50 en 100. Individuele waarden van de zwangere kunnen worden gevolgd op de grafiek.

(44%). De afwezigheid van een intra-uteriene vruchtzak komt immers eveneens voor in het geval van een preklinische abortus. Bij vermoeden van ectopische zwangerschap kan men daarom 2 monsters voor hCG-meting afnemen met een interval van 48h: een stijging kleiner dan 66% heeft een sensitiviteit en specificiteit van 85% voor de voorspelling van ectopische zwangerschap (33). Naast hCG wordt serumprogesteron gevolgd in zwangerschappen na geassisteerde bevruchting. Normale waarden voor progesteron zijn hoger in superovulatiecycli door de aanwezigheid van multiple corpora lutea. Samen met hCG kan een verlaagde progesteronconcentratie in het begin van de zwangerschap wijzen op een vroege abortus of een ectopische zwangerschap en aanzetten tot het uitvoeren van een echografische controle. In zeldzame gevallen van corpusluteuminsufficiëntie (verlaagd serumprogesteron) kan men de dosis progesteronsupplementatie aanpassen. Zoals voor hCG, is de diagnostische betrouwbaarheid van progesteron voor ectopische zwangerschap na geassisteerde bevruchting groot in vergelijking met spontane zwangerschappen, doordat de preciese datum van embryo-implantatie bekend is, met als gevolg een nauwkeurigere interpretatie van de testresultaten.

### Indicaties en specificaties van de testen

Algemeen kan men stellen dat de analytische vereisten voor een bepaalde test afhankelijk zijn van de klinische indicaties. Voor een aantal voornamelijk diagnostische indicaties zijn gevoelige en specifieke metingen bij de lage waarden noodzakelijk; voor follow-up van fertiliteitsbehandeling en voor zwangerschapsmonitoring is vooral de reproduceerbaarheid bij de hoge concentraties belangrijk en de specificiteit minder kritisch. Hormoonbepalingen in het kader van geassisteerde bevruchting moeten bovendien snel resultaten kunnen leveren. De ontwikkeling van gevoelige, specifieke en reproduceerbare assays voor de bepaling van reproductieve hormonen op automaten leidde tot een snellere en betere diagnosestelling van infertiliteit en monitoring van fertiliteitsbehandelingen.

### Progesteron

De klinische indicaties voor progesteronmeting in het lage meetbereik zijn: hulp bij de diagnose van ano-

vulatie, dat gekenmerkt wordt door verlaagde progesteronwaarden (WHO-drempelwaarde 6 µg/l of 19 nmol/l) en monitoring van de hypofaire suppressie door GnRH-agonisten of -antagonisten. De assay voor progesteronmeting dient voldoende gevoelig te zijn om betrouwbare metingen in de zeer lage folliculaire range toe te laten. Progesteronmeting speelt een belangrijke rol in de diagnose van corpusluteuminsufficiëntie (verlaagde waarden). Serumprogesteron wordt eveneens gevolgd bij de monitoring van ovariële stimulatie, waar een lichte stijging van progesteron de ovulatie voorspelt. Tenslotte speelt de bepaling van serumprogesteron een belangrijke rol in de diagnose van ectopische zwangerschap of (dreigende) miskraam, waar verlaagde waarden gelden als een betrouwbare voorspeller van deze zwangerschapscomplicaties.

#### *Oestradiol*

Zoals progesteron en testosteron is oestradiol een steroïdhormoon. De 3 voornaamste oestrogenen zijn oestradiol (E2), oestron (E1) en oestriol (E3); oestradiol is het meest potente oestrogeen. De meting van oestradiol speelt een belangrijke rol in de diagnose van anovulatie. Lage oestradiolwaarden (< 40 ng/l of 150 pmol/l) komen voor in hypo- of hypergonadotroop hypogonadisme, gecombineerd met respectievelijk subnormale en verhoogde FSH-waarden. Voor deze diagnostische indicatie is een gevoelige en specifieke meting in het lage gebied belangrijk. Oestradiolmetingen zijn verder belangrijk in de monitoring van de folliculaire respons op ovulatie-inductie en op superovulatie-inductie voor IVF en ICSI. Een betrouwbare meting voor deze indicatie vereist een goede reproduceerbaarheid tot in het hoge concentratiegebied (tot 4.000 ng/l of 15.000 pmol/l).

#### *FSH*

Follikelstimulerend hormoon is een heterodimeer glycoproteïnehormoon bestaande uit 2 niet-covalent verbonden subeenheden: een alfaketen (92 aminozuren) en een betaketen (111 aminozuren). FSH is niet één molecuul, maar bestaat uit verschillende moleculaire vormen die kunnen veranderen in fysiologische en pathologische omstandigheden en die verschillende biologische (en immunologische) activiteiten hebben. Bij de menopauze treedt een verandering op naar meer zure vormen van FSH, waarvan de langere halfwaardetijd mogelijk een rol speelt in de verhoogde serum-FSH-waarden. Er bestaat eveneens een verandering in FSH-isovormpatroon tijdens de normale menstruele cyclus, resulterend in meer basische vormen mid-cyclisch. Historisch werd de FSH-eenheid gedefinieerd op basis van de biologische activiteit in vivo. In de praktijk wordt FSH gemeten door middel van immunoassays wegens de goede sensitiviteit en precisie en de praktische voordelen van snelheid en kostprijs. Een nadeel van immunoassays is dat ze niet noodzakelijk informatie verlenen over de biologische activiteit van het gemeten FSH. Een ander nadeel is de significante heterogeniteit tussen de verschillende assays voor FSH, die onder andere wordt toegeschreven aan verschillen in kalibratie, aan

kruisreactiviteit tussen gonadotropinesubeenheden en aan antilichaamselectiviteit voor de verschillende isovormen. Het is echter niet duidelijk in hoeverre dit een significante invloed heeft op de diagnosestelling gebaseerd op serum-FSH-resultaten van verschillende immunoassays. Serum-FSH speelt een rol in de diagnose van hypogonadisme (zie boven). Bij vrouwen van reproductieve leeftijd blijkt de meting van basaal FSH, meestal op dag 3 van de cyclus, bovendien een goede voorspeller te zijn van de ovariële reserve; d.i. het aantal te recruterende follikels voor die cyclus. De meting van serum-FSH is ook nuttig in PCOS, waar serum-FSH meestal normaal is en serum-LH verhoogd (in ongeveer de helft van de gevallen).

#### *LH*

Luteïniserend hormoon (LH) is, zoals FSH en hCG, een dimeer glycoproteïnehormoon. Ook LH vertoont belangrijke moleculaire heterogeniteit: het komt in de circulatie voor onder verschillende isovormen. Deze heterogeniteit is vooral te wijten aan een verschillende mate van glycosylering van het LH-molecuul, wat zowel de biologische activiteit als de halfwaardetijd in vitro beïnvloedt. De meer zure isovormen hebben een langer halfleven en vertonen een lagere bioactiviteit in vergelijking met de meer basische isovormen. Klassieke radioimmunoassays maakten gebruik van polyclonale antilichamen, die de meeste (zometert alle) circulerende LH-isovormen herkenden. LH wordt nu vooral gemeten met gevoelige en specifieke immunometrische (sandwich-)assays. Deze maken gebruik van twee monoclonale antilichamen, die verschillende epitopen kunnen herkennen op het LH-molecuul. De aminozuursamenstelling van de betaketens van hCG en LH vertoont een 80% sequentie-homologie. Hierdoor vertoonden de eerste LH-immunoassays een hoge kruisreactiviteit met hCG. Daarna werden LH-antilichamen ontwikkeld met een hoog onderscheidend vermogen ten opzichte van hCG. Dit voordeel van specificiteit leidde tot de populariteit van het gebruik van antilichamen gericht tegen het intact LH-heterodimeer in talrijke commerciële immunoassays. Er bestaat echter een genetische variant van LH, die in sommige populaties (zoals in Finland) frequent voorkomt. Deze variant wordt gekarakteriseerd door 2 puntmutaties in het LH-beta-subeenheid-gen. De variant-LH wordt niet of slechts gedeeltelijk herkend in sommige assays die gebruik maken van monoclonale antilichamen gericht tegen het intact LH. Men spreekt daarom van deze variant-LH als 'invisible' of 'partially visible' LH (34). De variabiliteit in de herkenning van deze LH-variant zou één van de belangrijkste factoren zijn in de discrepanties die tussen verschillende immunoassays worden beschreven (35). Ondanks talrijke studies werd de aanwezigheid van variant LH in hetero- of homozygote vorm niet duidelijk geassocieerd met pathologie. Het polymorfisme komt voor in hoge prevalentie (tot 52% carrierfrequentie) in verschillende populaties. Aangezien variant-LH biologisch actief is, is het wenselijk dat routine LH-immunoassays met equimolaire gevoeligheid de variant en het wildtype-LH meten. De meting van serum-LH is nuttig in PCOS (zie boven). LH-me-

ting kan de efficiëntie van hypofysaire suppressie door GnRH-agonisten of -antagonisten aantonen. Tijdens ovariële stimulatie kunnen premature LH-pieken worden opgespoord. Met LH kan het tijdstip van de spontane ovulatie bepaald worden bij ovulatie-inductie, of het ideale tijdstip voor hCG-injectie. Preovulatoire LH-pieken kunnen in serum of in urine gedetecteerd worden. Voor de detectie van LH in urine dient een assay gebruikt te worden die betrouwbaar is voor deze indicatie (36). Uit studies is namelijk gebleken dat sommige assays in 30 tot 40% van de ovulatoire cycli faalden in de detectie van preovulatoire LH-pieken (37, 38).

#### *Prolactine*

In de algemene populatie is de meest voorkomende vorm van prolactine in het serum het 23 kDa monomere prolactine. Prolactine kan voorkomen in serum in de vorm van een macromoleculair complex. De meest voorkomende macromoleculaire vorm is het macroprolactine (big-big prolactine). Dit is een antilichaam-antigen-complex van PRL en immunoglobuline G met een moleculairgewicht van 150-170 kDa. Immunoassays voor PRL hebben een variabele reactiviteit voor macroprolactine en macroprolactine wordt minder snel geklaard uit de circulatie dan prolactine, wat kan leiden tot ogenschijnlijke hyperprolactinemie. Macroprolactine heeft geen of slechts een minimale bioactiviteit in vivo, waarschijnlijk omdat het hoogmoleculairgewichtcomplex niet door de capillaire membraan de PRL-receptoren kan bereiken. Hyperprolactinemie te wijten aan macroprolactine kan dus leiden tot diagnostische verwarring en inadequate behandeling en het is daarom belangrijk dat laboratoria de respons van hun gebruikte assay op macroprolactine kennen en de clinicus hierop attent maken. Discrepante resultaten voor PRL met verschillende immunoassays kunnen bovendien een aanwijzing zijn voor macroprolactinemie. Screening voor de aanwezigheid van macroprolactine kan gebeuren door een polyethyleenglycol (PEG)-precipitatie-techniek (39). Macroprolactine wordt neergeslagen door PEG. De aanwezigheid van macroprolactine gaat gepaard met een lage prolactinerecovery in het supernatant na PEG-precipitatie. De PEG-precipitatie-techniek werd gevalideerd voor de Wallac-Delfia-, de Roche-Elecsys- en de Abbott-Architect-assays (40, 41, 42). Deze techniek kan echter niet worden gebruikt voor alle methoden. PEG veroorzaakt namelijk interferentie op de prolactinebepaling in sommige assays. Confirmatie van macroprolactinemie kan gebeuren door gelfiltratiechromatografie, maar deze techniek is tijdrovend, duur en praktisch niet uitvoerbaar in de meeste laboratoria. In de Wallac-Delfia-assay werd macroprolactine als oorzaak van hyperprolactinemie geïdentificeerd in 15-17% van patiëntenmonsters met verhoogd serum-PRL (39). Ook de Elecsys-(Roche)- en Architect-(Abbott)-assays vertonen een hoge reactiviteit met macroprolactine: in 16-17% van de monsters met verhoogd PRL werd de verhoging toegeschreven aan macroprolactine (41, 42).

#### *hCG*

HCG is een glycoproteïne dat geproduceerd wordt door de invaderende syncytiotrofoblast vanaf de vroegste stadia van de embryonale ontwikkeling. Het kan worden gedetecteerd in de maternale circulatie vanaf 7,5 tot 9,5 dagen na de midcyclische LH-piek (43). HCG is een dimeer bestaande uit één alfa- (92 aminozuren) en één betaketeten (145 aminozuren), die niet-covalent met elkaar zijn verbonden. De alfaketens van hCG, LH, FSH en TSH zijn identiek en de betaketeten is uniek in elk van deze moleculen. Trofoblastcellen produceren naast dimeer-hCG ook vrije alfa- en vrije betaketeten, die afgescheiden worden in de maternale circulatie in de vorm van vrije subeenheden en in de vorm van gekoppelde dimeren. Enkel intact dimeer-hCG is biologisch actief. Dit biologisch actieve hCG bindt op de LH-receptoren van het corpus luteum, waar het een secretie van steroïden induceert: 17-OHP, progesteron, E2 en verschillende groeifactoren en peptiden. HCG in serum moet niet beschouwd worden als één molecuul, maar als een variabel mengsel van hCG-moleculen, waaronder het intact hCG-dimeer, nicked hCG (geklieft op de beta-subeenheid, meestal tussen residuën 47 en 48), beta-core-hCG, vrij alfa-hCG, vrij beta-hCG en hypergeglycosyleerde hCG-varianten (44). Sinds de introductie van sandwich-type assays met specifieke monoklonale antilichamen is de specificiteit van de hCG-assays sterk verbeterd in vergelijking met de polyclonale RIA-methodes. Ondanks het gebruik van zeer specifieke monoclonale antilichamen en de kalibratie van deze assays tegen éénzelfde internationale standaard, introduceerden deze immunometrische methoden echter een belangrijke variabiliteit in de hCG-meting. De oorzaak hiervan is multifactorieel. De verschillende monoclonale antilichamen die gebruikt worden in de verschillende assays, hebben elk een eigen en verschillende specificiteit voor de verschillende moleculaire hCG-vormen in de circulatie. Bovendien zijn de standaarden die gebruikt worden in de verschillende assays biologisch gezuiverde preparaten, die verschillende hCG-vormen kunnen bevatten in proporties die niet altijd identiek zijn aan de vormen die voorkomen in een patiëntenserum. In dit opzicht is het belangrijk de specificiteit van de gebruikte assay te kennen voor de klinische interpretatie van de hCG-bepaling. De verschillende vormen van serum-hCG zijn namelijk in verschillende mate aanwezig in normale en abnormale zwangerschappen. Zo kan een assay, die gebruik maakt van monoclonale antilichamen die in mindere mate de hypergeglycosyleerde vormen herkennen, bepaalde diagnoses missen (bijv. persisterende trofoblastziekte) en dus kan een dergelijke assay niet gebruikt worden voor de follow-up van de ziekte. Bovendien heeft de grote between-method-variabiliteit voor hCG tot gevolg dat, indien de hCG-follow-up van een zwangere met twee verschillende methoden (in twee centra) gebeurt, correcte klinische interpretatie bemoeilijkt wordt. Daarom is het voor elk laboratorium belangrijk om eigen methodespecifieke referentiewaarden op te stellen.

## Testosteron

De meting van serumtestosteron in vrouwen is belangrijk in de diagnose van viriliserende aandoeningen. In androgeenproducerende ovarium- en bijnier-tumoren zijn testosteronconcentraties typisch hoger dan 2 µg/l (7 nmol/l). In mannen kunnen directe assays voor de meting van testosteron worden gebruikt, dit wil zeggen zonder voorafgaande extractie. Deze directe assays zijn echter niet gevoelig genoeg voor de precieze meting van lage testosteronwaarden in vrouwen. Daarom wordt het aanbevolen in vrouwen een extractieprocedure op serummonsters uit te voeren.

## Literatuur

1. The ESHRE Capri Workshop Group. Hum Reprod 1995; 10: 1549-1553.
2. Kaupilla A, Leinonen P, Vihko R et al. Metoclopramide-induced hyperprolactinaemia impairs ovarian follicle maturation and corpus luteum function in women. J Clin Endocrinol Metab 1982; 54: 955-960.
3. Lenton EA, Sulaiman R, Sobowale O and Cooke ID. The human menstrual cycle: plasma concentrations of prolactin, LH, FSH, oestradiol and progesterone in conceiving and nonconceiving women. J Reprod Fertil 1982; 65: 131-139.
4. Blackwell RE. Hyperprolactinaemia. Evaluation and management. In: Moghissi KS (ed.). Endocrinol Metab Clin North Am 1992; 21: 105-124.
5. The ESHRE Capri Workshop Group. Anovulatory infertility. Hum Reprod 1995; 10: 1549-53.
6. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84: 165-169.
7. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW. Body mass index and ovulatory infertility. Epidemiology 1994; 5: 247-250.
8. Baird. In Endocrinology, ed. De Groot LJ, Ehrmann DA and Rosenfield RL. JCEM 1990; 71: 1-4.
9. Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1989; 51: 651-654.
10. Aittomaki K, Herva R, Stenman UH, Juntunen K, Ylostalo P, Hovatta O, de la Chapelle A. Clinical features of primary ovarian failure caused by a point mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81(10): 3722-6.
11. Vance ML, Evans WS, Thorner MO. Bromocriptine. Ann Intern Med 1984; 100: 78-91.
12. Vermesh M, Fossum GT, Kletzky OA. Vaginal bromocriptine: pharmacology and effect on serum prolactin in normal women. Obstet Gynecol 1988; 72: 693-698.
13. Webster J, Piscitelli G, Polli A et al. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhoe. N Engl J Med 1994; 331: 904-909.
14. Diamant YZ, Yarkoni S, Evron S. Combined clomiphene-bromocriptine treatment in anovulatory, oligomenorrhoeic and hyperprolactinemic women resistant to separate clomiphene or bromocriptine regimens. Infertility 1980; 3:11-16.
15. Weil C. The safety of bromocriptine in hyperprolactinemic female infertility: a literature review. Curr Med Res Opin 1986; 172-195.
16. Filicori M, Flamigni C, Meriggiola MC et al. Ovulation induction with pulsatile gonadotrophin-releasing hormone: technical modalities and clinical perspectives. Fertil Steril 1991; 56: 1-13.
17. Daly DC, Walters CA, Soto-Albors CE et al. A randomized study of dexamethasone in ovulation induction with clomiphene citrate. Fertil Steril 1984; 41: 844-848.
18. Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Watson H, Sagle M, Franks S. Low-dose gonadotrophin therapy for induction of ovulation in 100 women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod 1991; 6: 1095-1099.
19. Fauser BCJM. Step-down follicle-stimulating hormone regimens in polycystic ovary syndrome. In: Filicori M and Flamigni C (eds). Ovulation Induction: Basic Science and Clinical Advances, 20-22 January 1994, Palm Beach, Florida, USA. Amsterdam: Excerpta Medica, 1994: 153-162.
20. Smitz J, Devroey P, Braeckmans P, Camus M, Khan I, Staessen C, Van Waesberghe L et al. Management of failed cycles in an IVF/GIFT programme with the combination of a GnRH analogue and hMG. Hum Reprod 1987; 2: 309-314.
21. Felberbaum R, Diedrich. Ovarian stimulation for in-vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection with gonadotrophins and gonadotrophin-releasing hormone analogues: agonists and antagonists. Hum Reprod 1999; vol 14 (Suppl. 1): 207-221.
22. Rizk B, Smitz J. Ovarian hyperstimulation syndrome after superovulation using GnRH agonists for IVF and related procedures. Hum Reprod 1992; 7: 320-327.
23. Smitz J, Devroey P, Faguer B, Bourgain C, Camus M, Van Steirteghem AC. A prospective randomized comparison of intramuscular or intravaginal natural progesterone as a luteal phase and early pregnancy supplement. Hum Reprod 1992; 7: 168-175.
24. Van Steirteghem AC, Van Waesberghe L, Camus M, Deschacht J, Devroey P, Smitz J, Wisanto A. Hormonal monitoring for in-vitro fertilization and related procedures. Hum Reprod 1988; 3 (suppl. 2): 1-9.
25. Reissmann T, Schally AV, Bouchard P, Riethmüller H, Engel J. The LHRH antagonist Cetrorelix: a review. Hum Reprod Update 2000; 6: 322-331.
26. Olivennes F, Ayoubi JM, Fanchin R, Rongi res-Bertrand C, Hamamah S, Bouchard P, Frydman R. GnRH antagonist in single-dose applications. Hum Reprod Update 2000; 6: 313-317.
27. Schwartz M, Jewelewicz R, Dyrenfurth I, Tropper P, Vande Wiele RL. The use of human menopausal and chorionic gonadotropins for induction of ovulation. Sixteen years' experience at the Sloane Hospital for women. Am J Obstet Gynecol 1980; 138: 801-807.
28. Bulletti C, Flamigni C, Giacomucci E. Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage. Hum Reprod Update 1996; 2: 118-136.
29. Robinson HP. The diagnosis of early pregnancy failure by sonar. Br J Obstet Gynaecol 1975; 82: 849-857.
30. Jones HW Jr. The impact of in vitro fertilization on the practice of gynecology and obstetrics. Int J Fertil 1986; 31: 99-111.
31. Rizk B, Lachelin GC, Davies MC, Hartshorne GM, Edwards RG. Ovarian pregnancy following in-vitro fertilization and embryo transfer. Hum Reprod 1990; 5: 763-764.
32. Dubuisson JB, Aubriot FX, Mathieu L, Foulot H, Mantelbrot L, Bouquet de Jolinière J. Risk factors for ectopic pregnancy in 556 pregnancies after in vitro fertilization: implications for preventive management. Fertil Steril 1991; 56: 668-690.
33. Kadar N, Caldwell BV, Romero R. A method of screening for ectopic pregnancy and its indications. Obstet Gynecol 1981; 58: 162-166.
34. Martin-Du-Pan RC, Horak M, Bischof P. Clinical significance of invisible or partially visible luteinizing hormone. Hum Reprod 1994; 9: 1987-90.
35. Nilsson C, Seppälä M, Pettersson K. Immunological characterization of human luteinizing hormone with special regard to a common genetic variant. J Endocrinol 2001; 168: 107-116.
36. Kesner JS, Knecht EA, Krieg EF, Wilcox AJ, O'Connor JF. Detecting pre-ovulatory luteinizing hormone surges in urine. Hum Reprod 1998; 13: 15-21.
37. Nulsen J, Wheeler C, Ausmanas M et al. Cervical mucus changes in relationship to urinary luteinizing hormone. Fertil Steril 1987; 48: 783-786.

38. Kesner JS, Wright DM, Schrader SM et al. Methods of monitoring menstrual function in field studies: efficacy of methods. *Reprod Toxicol* 1992; 6: 385-400.
39. Fahie-Wilson M. Polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinaemia (Letter). *Clin Chem* 1999; 45: 436-7.
40. Fahie-Wilson M, Soule SG. Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 252-258.
41. Fahie-Wilson M, Brunnsden P, Surrey J, Everitt A. Macroprolactin and the Roche Elecsys prolactin assay: characteristics of the reaction and detection by precipitation with polyethylene glycol (Technical Brief). *Clin Chem* 2000; 46: 1933-5.
42. Sale JK, Hughes HR, Fahie-Wilson M. Macroprolactin and the Abbott Architect prolactin assay: characteristics of the reaction and detection by precipitation with polyethylene glycol (Abstract). In: Martin SM, ed. *Proceedings of Pathology* 2000. London: Association of Clinical Biochemists, 2000: 149.
43. Lenton EA, Neal LM, Sulaiman R. Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy. *Fertil Steril* 1982; 37: 773-778.
44. NCCLS I/LA 10-A. Choriogonadotropin Testing: Nomenclature, Reference Preparations, Assay Performance, and Clinical Application; Approved Guideline.
45. Warren MP. Clinical review 77: Evaluation of secondary amenorrhoea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996; 81: 437-42.

## Summary

*Endocrinologic laboratory investigations in diagnosis and treatment in case of assisted reproduction in the female. Anckaert E and Smits J. Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 313-328.*

Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 328-333

## Behandeling van onvervulde kinderwens in Nederland anno 2001

M.H.J.M. CURFS

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de technieken die beschikbaar zijn bij de behandeling van onvervulde kinderwens, waarbij tevens de belangrijkste indicaties en complicaties aan de orde komen. Achtereenvolgens komen aan de orde: ovulatie-inductie, intra-uteriene inseminaties, in-vitro-fertilisatie, intracytoplasmatische sperma-injecties met geëjaculeerde zaadcellen en met chirurgisch verkregen zaadcellen en tot slot pre-implantatie genetische diagnostiek. Speciale aandacht gaat uit naar wat op dit moment in Nederland mogelijk is.

*Fertiliteitslaboratorium, Isala klinieken, locatie Sophia, Zwolle*

Correspondentie: Dr. M.H.J.M. Curfs, klinisch embryoloog, Fertiliteitslaboratorium, Isala klinieken, locatie Sophia. Postbus 10400, 8000 GK Zwolle.  
E-mail: M.H.J.Curfs@isala.nl

Endocrine laboratory investigation is an integral part of female infertility diagnosis. Anovulation is an important cause of infertility. Based on hormone determinations, anovulation can be divided in 4 groups: hyperprolactinaemia, hypogonadotrophic, normogonadotrophic and hypergonadotrophic hypogonadism. These four distinct endocrine entities should be recognized to allow specific ovulation-induction therapy. In ovulation induction, maturation of a single follicle is aimed for. However, the risk for the development of multiple follicles is substantial. Therefore, minimal monitoring with endocrine parameters and ovarian ultrasound is recommended. When besides ovulatory disorders, mechanical or severe andrologic factors are involved, superovulation is required for in vitro fertilisation (IVF) or intracytoplasmatic sperm injection (ICSI). Prior to superovulation, suppression of endogenous luteinizing-hormone (LH) secretion is induced with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) agonists and more recently also with GnRH antagonists. This strategy prevents negative effects of premature LH surges associated with ovarian-gonadotrophin stimulation. Superovulation requires close monitoring of the ovarian response, to estimate the therapeutic efficiency and to prevent the potentially life threatening ovarian-hyperstimulation syndrome. This review summarizes the different therapeutic schemes and illustrates the hormonal and ultrasound follow-up. The determination of serum human-chorionic gonadotrophin (hCG) plays an important role not only in the diagnosis of pregnancy, but also because assisted reproduction treatments are associated with an increased risk for spontaneous abortion, ectopic pregnancy and multiple pregnancy. In view of the important technological evolution in the laboratory, indications and analytical specifications of the most relevant hormone assays in the fertility clinic are reviewed.

*Key-words: ovulation induction; assisted reproduction; hormone assays; endocrinology*

*Trefwoorden: kunstmatige voortplantingstechnieken; ovulatie-inductie; IUI; IVF; ICSI*

De behandeling van onvervulde kinderwens heeft met name door de geboorte in 1978 van Louise Brown, de eerste reageerbuisbaby ter wereld, een enorme vlucht genomen. De hormonale stimulatieschema's werden ontwikkeld, er kwamen meer verfijnde en betere medicijnen ter beschikking en de ontwikkeling van laboratoriumprocedures als het bewerken van sperma en de kweek van embryo's kreeg een enorme impuls. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de behandelingen die op dit moment in Nederland beschikbaar zijn. Daarnaast komen technieken aan de orde die in Nederland nog niet, maar elders al wel worden toegepast en die ook, al dan niet in de nabije toekomst, in Nederland toegepast kunnen gaan worden. Het gaat hierbij om een overzicht, waarbij volledigheid niet wordt nagestreefd.