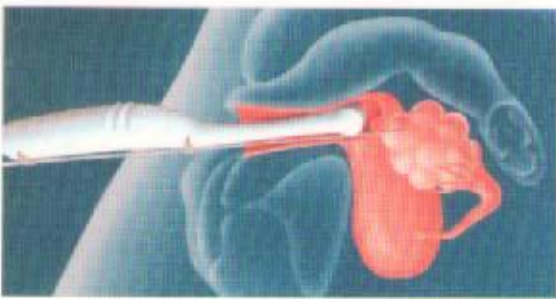
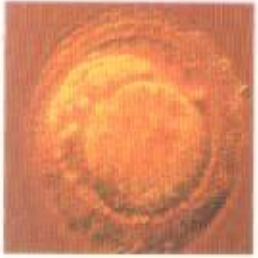
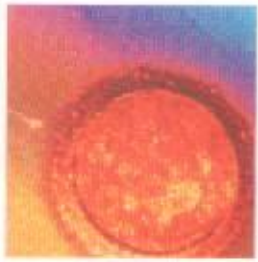


Fertilisasi In Vitro dalam Praktek Klinik



EDITOR:

- M. Sjarief Darmasetiawan
- Indra N. C Anwar
- Tono Djuwantono
- Ikhwanul Adenin
- Taufik Jamaan

Kelompok Seminat Kedokteran Reproduksi dan Embriologi
(Special Interest Group on Human Reproductive Medicine and Embryology)

FERTILISASI IN VITRO DALAM PRAKTEK KLINIK

Editor

Dr. M. Sjarief Darmasetiawan, SpOG, KFER (Ketua)
Dr. Indra N.C. Anwar, SpOG
Dr. Tono Djuwantono, SpOG, KFER, MKes
Dr. Ikhwanul Adenin, SpOG
Dr. Taufik Jamaan, SpOG

Perancang Sampul

Dr. Taufik Jamaan, SpOG dan Tim Artistik Puspa Swara

Sumber gambar sampul :

Sampul depan : Brosur / Atlas Reproduksi 100 thn Serono
Aspire Congress – China

Sampul belakang : 1. Buku Step by Step Ultrasound in Infertility
(Singh – Maholtra), India
2. Atlas Reproduksi, Serono Australia

Penerbit : Puspa Swara, Anggota IKAPI

Redaksi : Puspa Swara

Pemasaran : Klinik Fertilitas Morula RS. Bunda Jakarta
Jl. Teuku Cik Ditiro No. 28, Menteng
Jakarta Pusat – 10350
Telp: (021) 31922005
Fax: (021) 3101077
E-mail: taufikjamaan@bunda.co.id

Cetakan : I - Juni 2006 – Jakarta
ISBN / KDT

DAFTAR EDITOR



M. Sjarief Darmasetiawan, Dr, SpOG, KFER
Sub bagian Endokrinologi Reproduksi
Departemen Obstetri dan Ginekologi
RSPAD Gatot Subroto
Universitas Pembangunan Nasional Veteran, Jakarta



Indra NC Anwar, Dr, SpOG
Klinik Fertilitas Morula
Rumah Sakit Bunda, Jakarta



Tono Djuwantono, Dr, SpOG, KFER, MKes
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Pajajaran
Klinik Aster, RS. Hasan Sadikin, Bandung



Ikhwanul Adenin, Dr, SpOG
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
RS. Adam Malik, Medan



Taufik Jamaan, Dr, SpOG
Klinik Fertilitas Morula
Rumah Sakit Bunda, Jakarta

DAFTAR ISI

KATA SAMBUTAN PB-IDI	iii
KATA SAMBUTAN PB-POGI	iv
KATA PENGANTAR EDITOR	v
DAFTAR EDITOR	vi
DAFTAR KONTRIBUTOR	vii
DAFTAR ISTILAH	x
DAFTAR SINGKATAN	xviii
DAFTAR ISI	xx
Bab I	
TAHAP SELEKSI PASIEN	1
Seleksi Pasien Menuju Fertilisasi In Vitro	2
Evaluasi Infertilitas Pria Menuju Program FIV	38
Penilaian Fungsi Ovarium	59
Tata Laksana Sindroma Ovarium Polikistik pada Fertilisasi In Vitro	90
Endometriosis dan Teknologi Bantuan Reproduksi	107
Peranan Laparoscopi Dalam Program Fertilisasi In Vitro	120
Peranan USG Transvaginal Dan USG Transvaginal Doppler Dalam Bidang Assisted Reproductive Technologies	132
Saline-Infusion Sonohysterography dan Sonohisterosalpingografi	155

Polimorfisme Gen Reseptor FSH (FSHR) Sebagai Faktor Prediksi untuk Menentukan Jumlah FSH yang Diperlukan untuk Induksi Superovulasi	170
Pemeriksaan Kromosom-Y pada Pria Infertil yang Mengikuti Program Fertilisasi In Vitro	179
Indikasi dan Persyaratan Pasien untuk Mengikuti Program Fertilisasi In Vitro (FIV)	190
Evaluasi Infertilitas Pria Menuju Penanganan FIV	195
Penggunaan USG Transvaginal dalam Penanganan Pasangan Infertilitas	200
Bab II	
TAHAP STIMULASI	209
Prosedur Hiperstimulasi Ovarium Terkontrol dalam Program Fertilisasi In Vitro	210
Protokol Stimulasi Ovarium dalam Fertilisasi In Vitro	221
Bab III	
TAHAP PELAKSANAAN	225
Pemantauan Stimulasi Ovarium pada Program Fertilisasi In Vitro	226
Prosedur Ovum Pick Up (OPU) (Petik Ovum)	242
Prosedur Transfer Embrio	250
Sindroma Hiperstimulasi Ovarium	259
Penunjang Fase Luteal	271

Bab IV	
PROSEDUR PENUNJANG PROGRAM FERTILISASI IN VITRO	273
Prosedur dan Teknik PESA, MESA, TESA, dan TESE	274
Teknologi Reproduksi Buatan (TRB) Aspek Etik dan Legal	279
Perkembangan Teknologi Rekombinan Gonadotropin	291
Bab V	
TAHAP SELEKSI PASIEN	309
Teknik Fertilisasi In Vitro (FIV Konvensional)	310
Peran Teknologi Freezing & Thawing Sperma	316
Dalam Program Reproduksi Dibantu	316
Prosedur Simpan Beku dan Pencairan Embrio	322
Prosedur Mikromanipulasi (Intra Cytoplasmic Sperm Injection/ICSI)	337

DAFTAR KONTRIBUTOR

- **Akmal Taher, Prof. DR. Dr. SpU (K)**
Divisi Urologi ,Departemen Bedah
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
RS. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

- **Andi Hudono, Dr, SpOG, MRCOG (UK)**
The Jakarta Women and Children Clinic
Jakarta

- **Binarwan Halim, Dr, SpOG**
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
RS. Adam Malik, Medan

- **Colin M Howles, PhD**
Medical Vice President
Serono, Singapore

- **Delfi Luthan, Prof, Dr, SpOG, KFER**
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
RS Adam Malik, Medan

- **Dwi Anita Suryandari, DR, MS**
Departemen Biologi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Jakarta

- **Dwi Keni Melvynia, SSi**
Embriologist
Klinik Fertilitas Morula
Rumah Sakit Bunda, Jakarta

- **Farid Anfasa Moeloek, Prof, DR, Dr, SpOG, KFER**
Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
RS. Cipto Mangunkusumo, Jakarta
- **Harris Harlianto, Drs**
Embriologist
Klinik Fertilitas Aster
RS. Hasan Sadikin, Bandung
- **Herman Wibisono, MS, Dr, Sp And**
Sub Bagian Fertilitas Endokrinologi Reproduksi
Klinik Aster, Rumah Sakit Hasan Sadikin, Bandung
- **Hotma P. Silitonga, Dr**
Senior Business Unit Manager
PT. DKSH Tunggal, Serono, Jakarta
- **Ikhwanul Adenin, Dr, SpOG**
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
RS. Adam Malik, Medan
- **Indra NC Anwar, Dr, SpOG**
Klinik Fertilitas Morula
Rumah Sakit Bunda, Jakarta
- **Irfan Wahyudi, Dr, SpU**
Divisi Urologi, Departemen Bedah
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
RS. Cipto Mangunkusumo, Jakarta
- **Ita Fauzia Hanoum, Dr, MCE**
Embriologist, Klinik Permata Hati
RS. Sardjito, Yogyakarta

- **Laksmi Wingit Ciptaning, Dra, MSi**
Freelance Embriologist
Business Manager PT. Dipa pharmlab, Jakarta
- **M. Syarief Darmasetyawan, Dr, SpOG, KFER**
Sub bagian Endokrinologi Reproduksi
Departemen Obstetri dan Ginekologi
RSPAD Gatot Subroto
Universitas Pembangunan Nasional Veteran, Jakarta
- **Nur Rasyid, Dr, SpU**
Divisi Urologi , Departemen Bedah
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
RS. Cipto Mangunkusumo, Jakarta
- **Ponco Birowo, Dr, SpU**
Divisi Urologi, Departemen Bedah
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
RS. Cipto Mangunkusumo, Jakarta
- **Taufik Jamaan, Dr, SpOG**
Klinik Fertilitas Morula
Rumah Sakit Bunda, Jakarta
- **Tono Djuwantono, Dr, SpOG, KFER, MKes**
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Pajajaran
Klinik Aster, RS. Hasan Sadikin, Bandung
- **Wiryawan Permadi, Dr, SpOG, KFER**
Bagian Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Pajajaran
Klinik Aster,RS. Hasan Sadikin, Bandung

TATA LAKSANA SINDROMA OVARIUM POLIKISTIK PADA FERTILISASI IN VITRO

Wiryawan Permadi/ Tono Djuwantono/ Indra N.C Anwar/ M. Sjarief D.

PENDAHULUAN

Sindroma ovarium polikisti (SOPK) merupakan kelainan endokrin yang terbanyak pada usia reproduksi. Pada tahun 1990 diagnosis SOPK hampir sepenuhnya secara klinis, dan memerlukan adanya haid yang ireguler dan hiperandrogenisme yang bukan disebabkan oleh etiologi lain. Pada tahun 2000 pertemuan di National Institute of Health, yang perlu ditambahkan adalah adanya morfologi ovarium polikistik^{1,2,3}.

Menurut konsensus pertemuan "European Society of Human Reproduction and Embryology/ American Society for Reproduction and Embryology/ American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM)" di Rotterdam pada bulan Mei 2003, Polycystic ovary syndrome (SOPK) atau Sindroma ovarium polikisti (SOPK) adalah sindroma yang memenuhi dua dari kriteria sebagai berikut: (1) oligo dan atau anovulasi, (2) hiperandrogenisme (klinis dan atau biokimia) dan (3) ovarium polikistik dengan menyingkirkan etiologi lain. Selanjutnya diagnosis SOPK direvisi kembali (Balen tahun 2003), termasuk minimal satu dari keadaan berikut : terdapat 12 folikel atau lebih dengan diameter berukuran 2-9 mm atau volume ovarium meningkat ($> 10 \text{ cm}^3$). Jika terdapat folikel $> 10 \text{ mm}$ maka harus dilakukan ultrasonografi ulang untuk menghitung volume ovarium. Distribusi folikel dan gambaran stroma tidak diperlukan untuk diagnosis. Namun masih ada celah untuk memperbaiki kriteria Rotterdam yang menggiring risiko arah misinterpretasi atau under- dan overestimasi gejala, seperti menyingkirkan keadaan hiperandrogen lain.^{4,5}

Sampai sekarang patogenesis dari ovarium polikistik belum diketahui secara pasti, dan sampai saat ini penanganannya masih terbatas terhadap keluhan yang timbul seperti keluhan kosmetik, gangguan haid dan infertilitas. Penyebab ovarium polikistik belum jelas terungkap, tetapi dari beragam pendapat yang ada, sindrom ovarium polikistik merupakan suatu sindrom hiperandrogen yang dicirikan oleh peristiwa patogenik multifaktorial. Dalam hal ini diperkirakan

adanya kelainan poros hipotalamus-hipofisis-adrenal. Buktinya adalah adanya respon ACTH dan kortisol yang lebih besar secara bermakna pada wanita dengan SOPK. Namun pandangan terkini mengemukakan bahwa resistensi insulin hiperinsulinemik dan peningkatan aktivitas sitokrom P-450c17-alfa merupakan dua petunjuk dari sindrom ovarium polikistik yang secara patogenetik terkait.^{6,7,8,9}

Sitokrom P-450c17-alfa merupakan enzim kunci dalam stereogenesis androgen ovarium. Telah diketahui sejak lama bahwa sebagian besar wanita dengan SOPK menunjukkan respon 17-hidroksiprogesteron (17-OHP) abnormal dan respon yang lebih buruk dari androstenedion terhadap hormone releas gonadotropin (gonadotropin releasing hormone, GnRH), yang berarti bahwa ada aktivitas sitokrom P-450c17alfa ovarium yang meningkat.^{10,11,12,13}

Sel granulosa pada ovarium polikistik mengandung banyak reseptor EGF (epidermal growth factor) menunjukkan hipersensitifitas sel tersebut terhadap EGF/TGF alfa (transforming growth factor alpha), terutama dalam hal menekan aktivitas aromatase dan formasi reseptor LH. Terakhir, meningkatnya kejadian sindrom polikistik dikaitkan berdasarkan genetik. Hal tersebut diperlihatkan dengan mutasi yang ditunjukkan dengan hipereksresi dan atau aktivitas gen pada kelainan gen.^{12,14,15}

In vitro fertilization (FIV) bukanlah terapi lini pertama pada pasien PCO, namun pasien sering dirujuk untuk dilakukan FIV, baik atas indikasi infertilitas karena sebab lain atau karena gagal hamil setelah pemicuan ovulasi selama bulan atau lebih. Pasien PCO terdeteksi dengan ultrasonografi pada \pm 30% kasus. Banyak pasien PCO yang mempunyai gejala yang minimal dan datang untuk dilakukan *assisted conception* karena penyebab infertilitas lain (faktor ibu dan faktor pria). Saat dilakukan stimulasi ovarium ternyata cenderung respon sensitif dan berisiko terhadap OHSS. Oleh karenanya pengertian mengenai penatalaksanaan pasien PCO penting diketahui oleh dokter spesialis yang berkecimpung dalam FIV. Untuk itu terdapat empat isu utama yang harus ditimbang, pertama apa itu PCO dan bagaimana mendiagnosisnya? Kedua, seberapa besar masalah yang terkait dengan FIV? Ketiga, apakah pasien PCO merespon berbeda pada tiap tingkatan FIV? Keempat, apakah pasien PCO ditangani berbeda dan bagaimana?

INDUKSI OVULASI^{16,17,18,19,20,21,22,23}

Penyebab utama infertilitas pada pasien PCO adalah anovulasi, maka mengembalikan fungsi ovulasi dilakukan pada pasien yang ingin hamil. Tujuan induksi ovulasi pada pasien PCO adalah membuat ovulasi folikel dominan tunggal. Perlu diperhatikan beberapa hal untuk menilai keamanan dan efektivitas induksi

ovulasi pada pasien PCO yaitu : perkembangan satu folikel, perkembangan folikel multipel, kehamilan multipel, ovarian hyperstimulation (OHSS), angka ovulasi per siklus, angka kehamilan per siklus, angka abortus, angka persalinan anak hidup, dan angka persalinan anak hidup kumulatif. Angka persalinan anak hidup tunggal per siklus dan angka persalinan anak hidup kumulatif adalah parameter utama untuk menilai keberhasilan induksi ovulasi.

Saat ini belum ada konsensus mengenai algoritma terbaik untuk induksi ovulasi bagi pasien infertil dengan PCO. Perubahan gaya hidup merupakan alternatif pilihan, yang berguna bukan saja untuk induksi ovulasi namun juga mencegah risiko metabolik jangka panjang. Obesitas berperan dalam resistensi insulin dan terhadap anovulasi. Oleh karenanya penurunan berat badan \pm 5-10% merupakan jalan yang sederhana dalam mengembalikan fungsi ovulasi walaupun keberhasilan kurang baik. Penurunan berat badan juga akan mengurangi kadar insulin dan androgen.

Salah satu karakteristik biokimia PCO adalah adanya resistensi insulin dan hiperinsulinemia. Hiperinsulinemia berperan dalam meningkatkan produksi androgen oleh ovarium polikistik, dan juga menurunkan sex hormone binding globulin (SHBG). Pemberian obat untuk mengurangi insulin seperti diazoxide atau metformin, akan mengurangi testosteron bebas dengan mengurangi aktivitas P450c17 α sitokrom.

Wanita infertil dengan sindrome ovarium polikistik biasanya berhasil diobati dengan induksi ovulasi lini pertama yaitu dengan menggunakan klomifen sitrat dan baru-baru ini memakai "insulin-sensitizing medication". Bila tidak juga terjadi kehamilan, maka selanjutnya dapat menggunakan preparat gonadotropin atau "drilling ovarium" per laparaskopi.

Klomifen sitrat merupakan obat pilihan pertama untuk induksi ovulasi dengan dosis maksimum 150 mg perhari, menyebabkan ovulasi pada 77% kasus. Kehamilan dicapai dalam 47% dari semua pasien dan 61% dari pasien ovulasi, menyebabkan angka persalinan anak hidup tunggal kumulatif sebesar 41% dan persalinan kehamilan multipel 2%. Kesempatan ovulasi dan kehamilan dapat diperkirakan dengan memperhatikan faktor usia, body mass index (BMI), free androgen index (FAI = testosteron x 100/sex hormone binding globulin), riwayat siklus haid dan gambaran ovarium polikistik.

Pasangan infertil yang akan mengikuti FIV karena indikasi lain (seperti faktor suami), mungkin bisa didapatkan SOPK pada pasangan wanitanya. Adanya SOPK atau PCO pada wanita yang akan menjalani FIV, stimulasi ovarium harus dicermati karena akan dapat berdampak terjadinya berbagai komplikasi. Under atau overstimulasi dan *ovarium hyperstimulation syndrome (OHSS)* merupakan komplikasi yang cukup sering dijumpai, juga kemungkinan terjadi

abortus. Sehingga hasil dari FIV pada wanita dengan SOPK merupakan wahana perdebatan panjang dan lama. Tingginya kadar estradiol dan pertumbuhan multifolikel, merupakan hal yang sering terjadi pada stimulasi ovarium pada pasien-pasien tersebut, dan juga merupakan faktor yang mempengaruhi implantasi dan angka kehamilan.

STIMULASI OVARIUM PADA PASIEN SOPK^{24,25,26,27}

Telah banyak dilaporkan mengenai penggunaan gonadotropin sebagai obat untuk induksi ovulasi pada pasien SOPK yang resisten terhadap kломifen sitrat.

Penggunaan gonadotropin untuk stimulasi ovarium membutuhkan supresi LH terlebih dahulu dengan pemberian GnRH agonis, untuk mencegah komplikasi OHSS dan abortus spontan. Penggunaan GnRH agonis terutama "*long protocol*" (*down regulation*), mempunyai keuntungan dalam meningkatkan angka kehamilan.

Pada beberapa penelitian ditemukan angka konsepsi kumulatif meningkat dan angka abortus spontan menurun dengan pemberian "*long protocol*" GnRH agonis, namun tidak ditemukan perbedaan antara *recombinant* FSH atau *unitary* FSH dengan HMG (bila dilakukan *down regulation*).

Penemuan GnRH antagonis merupakan temuan yang menarik bagi stimulasi ovarium, baik dari sisi lama maupun biaya terapi. Data mengenai perbandingan antara GnRH agonis dan antagonis pada pasien PCO yang dilakukan stimulasi ovarium untuk FIV belum ada. GnRH antagonis dapat mensupresi LH dalam beberapa jam setelah pemberian. Pada *down regulation* dan desensitisasi, terjadi hambatan kompetitif terhadap reseptor GnRH pada membran sel sel gonadotropik. GnRH antagonis Cetrorelix dan Ganirelix telah digunakan secara klinis dan terbukti mencegah LH surge prematur dalam mengendalikan OHSS. Cetrorelix digunakan tunggal, dual dan multipel, sedangkan Ganirelix digunakan hanya sebagai dosis multipel.

Dosis gonadotropin yang digunakan pada pasien PCO harus diperhatikan secara hati-hati. Pasien PCO berisiko mengalami *ovarian hyperstimulation* (OHSS), mulai dari ringan sampai berat. Penggunaan *long protocol* GnRH agonis digunakan untuk mencegah LH surge yang tidak diinginkan, menurunkan insiden abortus spontan pada pasien yang hamil. Penggunaan pil kontrasepsi sebelum pemberian GnRH agonis akan mengurangi kejadian OHSS dan meningkatkan angka fertilisasi, implantasi embrio dan kehamilan. Namun pemberian insulin sensitizer sebelum dan selama stimulasi ovarium pada pasien PCO akan memperbaiki outcome masih kontroversial.

Dari data-data tersebut menunjukkan penggunaan berbagai induksi ovulasi untuk pasien SOPK, yaitu : (i) Human Menopausal Gonadotropin (HMG), *urinary-derived* FSH, dan *recombinant* FSH (rec-FSH), menunjukkan sama efektifnya untuk menghasilkan kehamilan. (ii) Insidensi komplikasi, seperti pertumbuhan multifolikel, OHSS dan kehamilan kembar berhubungan dengan preparat gonadotropin juga menunjukkan kejadian yang tidak berbeda. (iii) Penggunaan GnRHa berhubungan dengan pertumbuhan folikel yang multipel, OHSS dan kehamilan kembar. Terdapat data yang menyokong bahwa pemberian GnRHa menurunkan angka kejadian abortus. Walaupun demikian, hal ini tidak secara universal dapat diterima. (iv) Regimen *Low-dose step up* gonadotropin lebih disukai daripada regimen *step up* atau *step down* yang konvensional.

RESPON OVARIUM POLIKISTIK TERHADAP STIMULASI^{25,26,27}

Respon stimulasi terhadap ovarium polikistik sangat unik. Respon folikel awalnya cenderung lambat, tetapi sangat cepat pada akhir stimulasi. Saat ini sulit untuk menentukan ambang kadar gonadotropin. Jumlah folikel pada pasien SOPK meningkat. Stroma yang hiperplasia pada SOPK, memberikan kontribusi lebih besar androgen dari pada pasien tanpa SOPK pada lingkungan mikro folikel. Aktifitas aromatase sel granulosa pada SOPK menurun; meskipun demikian, siap untuk mendapat stimulasi FSH eksogen. Konsentrasi androgen yang tinggi beraksi dalam parakrin, menyebabkan meningkatnya konsentrasi estrogen lokal, yang menstimulasi reseptor FSH. Bila FSH diberikan pada keadaan ini, respon ovarium adalah terjadinya pertumbuhan folikel yang multipel dan konsentrasi estradiol sangat tinggi. Keadaan tersebut membuat bahwa pasien dengan SOPK lebih mudah mendapatkan OHSS.²⁵

Vascular endothelial growth factor (VEGF) meningkat pada pasien SOPK. Terdapat 2 hal penting dari keadaan ini. Pertama adalah bahwa VEGF meningkatkan permeabilitas vaskuler, hal ini merupakan faktor kunci patogenesis terjadinya OHSS. Kedua, ekspresi VEGF yang meningkat dapat mencegah perbedaan aliran darah menjauh dari folikel dominan, yang merupakan mekanisme respon folikel tunggal. Hilangnya mekanisme regulasi parakrin intraovarium, menyebabkan respon multifolikel yang khas pada pasien ini. Beberapa penelitian yang telah dipublikasikan memberikan keyakinan bahwa VEGF merupakan mediator utama untuk terjadinya OHSS. Hal tersebut diperlihatkan bahwa wanita yang mendapat OHSS, konsentrasi VEGF lebih tinggi pada seluruh stimulasi ovarium. Selanjutnya, pada wanita yang mendapatkan OHSS, terjadi peningkatan VEGF yang sangat signifikan antara pemberian HCG dan pengambilan oosit. Tingginya konsentrasi VEGF menunjukkan beratnya OHSS.

Messenger RNA VEGF meningkat dalam stroma yang menebal pada SOPK. Peningkatan ekspresi VEGF ini sangat mungkin menyebabkan meningkatnya vaskularitas stroma ovarium polikistik. VEGF menjadi media terjadinya neovaskularisasi korpus luteum. Wanita dengan PCO mendapatkan banyak folikel dan memproduksi multipel corpora lutea setelah pemberian HCG. Korpora lutea ini menyebabkan over ekspresi VEGF, bila keluar dari ovarium, mungkin dapat menyebabkan berpindahnya cairan dari vascular bed ke ruang ekstravaskuler.

Meningkatnya body mass index (BMI) dan resistensi insulin membuat pengelolaan SOPK menjadi lebih sulit. Tingginya BMI, meningkatkan kebutuhan gonadotropin. Hal ini, bagaimanapun dapat menyebabkan respon ovarium yang berlebih yang tidak dapat diduga, bila pasien distimulasi dengan gonadotropin dosis tinggi. Lebih aman bila meningkatkan dosis secara bertahap pada pasien dengan SOPK, dengan menggunakan low-dose step-up. Bila respon ovarium sudah diketahui sebelumnya, maka dapat diberikan mulai dari dosis awal.

PROTOKOL STIMULASI OVARIUM PADA PASIEN PCO/SOPK²⁸

Pemeriksaan ultrasonografi transvaginal sebelum stimulasi ovarium dapat memprediksi secara akurat mengenai respon ovarium terhadap stimulasi. Selain itu juga perlu diperhatikan mengenai usia pasien, volume ovarium, dan folikel antral. Folikel antral bersifat lebih prediktif dibandingkan yang lain. Bila jumlah folikel antral pada kedua ovarium lebih dari 15, maka akan terjadi respon yang berlebihan terhadap stimulasi gonadotropin. Wanita dengan PCO lebih banyak memproduksi folikel, oosit, dan embrio.

Eagman dkk (1999), dalam penelitiannya membandingkan hasil dari FIV wanita PCO dibandingkan dengan wanita normal. Pada wanita dengan PCO, menghasilkan lebih banyak folikel, oosit dan embrio. Sedangkan fertilisasi, kejadian abortus, sama pada kedua kelompok. Meskipun demikian kumulatif konsepsi setelah 3 siklus FIV lebih besar pasien dengan PCO dibandingkan wanita dengan ovarium normal. Hal ini disebabkan karena jumlah oosit yang diambil lebih banyak, sehingga meningkatkan embrio yang diseleksi, juga jumlah embrio yang dibekukan.

Terdapat perdebatan yang panjang dalam pemilihan jenis gonadotropin untuk stimulasi ovarium pada pasien SOPK. Peningkatan konsentrasi LH sering kali dihubungkan dengan kejadian OHSS dan abortus spontan pada pasien SOPK. Karena alasan diatas, dianjurkan pemberian gonadotropin tanpa LH.

KLOMIFEN SITRAT²⁴

Klomifen sitrat digunakan secara luas untuk induksi ovulasi pada pasien PCO. Klomifen sitrat merupakan derivat triphenylethylene bersifat antiestrogen, kompetitif dengan estrogen endogen untuk mengikat reseptor. Struktur kimia dari klomifen sitrat hampir menyerupai beta estradiol dalam ikatan reseptor pada target organ di hipotalamus, hipofisis, ovarium, uterus dan serviks. Klomifen sitrat tidak dapat mensintesis sitoplasma reseptor estrogen, sehingga tidak benar kalau klomifen sitrat mempunyai sifat antiestrogen yang kuat. Klomifen sitrat mampu mengurangi respon estrogen, sehingga estrogen alami tidak cukup efektif bekerjanya pada target sel. Bilamana klomifen sitrat diberikan pada awal fase folikuler akan nampak terjadi peningkatan FSH dan LH. Pada wanita dengan ovarium normal klomifen sitrat lebih meningkatkan frekuensi dan pada amplitudo pulsatil dari gonadotropin, sedangkan pada pasien SOPK hanya meningkatkan amplitudo pulsatil saja.

Biasanya klomifen sitrat diberikan selama 5 hari untuk membuka jendela FSH dan menginduksi perubahan hormonal untuk rekrutmen dan seleksi folikel. Dosis klomifen sitrat yang dianjurkan adalah 50 mg perhari, dan dapat ditingkatkan sampai 150 mg perhari.

Pada pasien SOPK penggunaan klomifen sitrat agak terbatas, hal ini mungkin dapat dijelaskan dengan keterangan sebagai berikut :

1. Lebih dari 25% pasien resisten terhadap klomifen sitrat
2. Beberapa penulis mengemukakan efek yang merugikan dari klomifen sitrat terhadap oosit, antara lain meningkatnya anomali kromosom, dan rendahnya kualitas perkembangan embrio. Pengaruh ini dapat menerangkan tingginya angka kejadian abortus pada pasien yang diterapi dengan klomifen sitrat.
3. Hanya terdapat sedikit embrio, karena jumlah folikel juga terbatas.

HUMAN GONADOTROPHINS²⁴

Human gonadotrophin yang digunakan dalam induksi ovulasi termasuk jenis urinary gonadotrophin, yang diambil dari wanita post-menopause sehingga mengandung baik FSH dan LH dengan perbandingan 1:1 dan 3:1 (HMG) atau mengandung murni FSH dengan LH minimal. Human menopausal gonadotropin (hMG), baik secara tunggal maupun dikombinasi dengan klomifen sitrat, sudah digunakan pada saat awal induksi ovulasi.

Dor dkk membandingkan 16 pasien SOPK yang distimulasi dengan hMG atau CC-hMG, dengan 37 pasien infertil akibat kelainan tuba. Pasien SOPK memperlihatkan jumlah folikel yang lebih banyak (19,4 berbanding 5,4), dan fertilitasi lebih rendah (40,4% vs 67,7%). Meskipun demikian didapatkan jumlah embrio dan angka kehamilan per siklus yang relatif sama (30,7% vs 29,7%). Para peneliti juga menemukan angka kehamilan kembar dan OHSS yang lebih tinggi. Beberapa laporan memperlihatkan angka fertilitasi yang lebih rendah pada pasien SOPK (56% vs 75%) dan angka kehamilan yang hampir sama (24% vs 25%). Jadi, angka kehamilan pada pasien SOPK dibandingkan dengan pasien infertil lain adalah sama, meskipun didapatkan angka fertilitasi yang lebih rendah, mungkin ini disebabkan karena pasien SOPK mempunyai oosit yang lebih banyak.

Bila digunakan FSH murni tanpa LH, dipercaya akan meningkatkan angka kehamilan. FSH saja cukup meningkatkan aktifitas aromatase sel granulosa. Hal ini merupakan suatu hipotesis yang menjanjikan.

Sejak saat itu, banyak laporan mengenai penggunaan FSH, dari pengalaman pertama, ternyata FSH tidak meningkatkan angka ovulasi bila dibandingkan dengan hMG. Yang lebih penting, FSH tidak menurunkan kejadian OHSS. Bila FSH dibandingkan dengan hMG, yang digunakan pada wanita yang tidak responsif dengan klomifen sitrat, didapatkan tidak ada perbedaan yang bermakna baik angka ovulasi, jumlah hari stimulasi maupun jumlah ampul yang digunakan.

Terdapat dua laporan yang membandingkan FSH dengan hMG untuk induksi ovulasi pada pasien SOPK dalam program FIV. Turhan dkk membandingkan dua pengobatan tersebut secara prospektif RCT (randomized clinical trial) dan tidak menemukan perbedaan yang bermakna secara statistik baik dalam jumlah hari stimulasi, jumlah ampul yang digunakan, jumlah oosit yang diambil, persentase oosit matur, angka fertilitasi, angka kehamilan, maupun angka kejadian OHSS. Hasil yang sama juga dikemukakan oleh Tanbo dkk. Hanya terdapat keuntungan menggunakan FSH adalah pertumbuhan folikel lebih merata dan oosit matur lebih banyak pada pasien yang diterapi dengan GnRH. Penggunaan pil kontrasepsi sebelum mulainya GnRH memperlihatkan menurunnya angka kejadian OHSS dan meningkatnya angka fertilitasi, implantasi embrio dan kehamilan (Damarico dkk, 1997). Sedangkan penggunaan insulin sensitizing agent sebelum dan selama stimulasi ovarium pada pasien SOPK, untuk meningkatkan hasil terapi sampai saat ini masih kontroversi.

RECOMBINANT GONADOTROPINS

Beberapa tahun terakhir ini recombinant FSH (rFSH) telah tersedia dan digunakan untuk assisted reproduction technology (ART) dan induksi ovulasi pada pasien anovulasi. Tahun 1992 Germond dkk pertama kali memperlihatkan keberhasilan kehamilan dengan menggunakan *recombinant gonadotropins* dan sejak itu beberapa laporan telah dipublikasikan mengenai penggunaan *recombinant FSH (rFSH)* pada pasien SOPK.

Fisch dkk secara random membandingkan penggunaan rFSH dan urinary FSH pada 20 pasien FIV, ternyata didapatkan tidak ada perbedaan yang bermakna dari kadar estradiol atau jumlah oosit yang diambil. Shoham dkk melaporkan hal sama, pada 3 siklus FIV pasien SOPK dan memperlihatkan tidak ada perbedaan yang bermakna baik dalam dosis gonadotropin yang diperlukan, jumlah hari stimulasi, jumlah folikel, angka kehamilan maupun angka kehamilan kembar.

Dosis gonadotropin harus dimulai dengan dosis yang paling rendah. Biasanya dimulai dengan dosis 150 IU perhari tergantung dari BMI.

Protokol pemberian gonadotropin yang paling banyak digunakan adalah *low-dose step-up* dan *low-dose step down*. Protokol gonadotropin low-dose kronis ini digunakan untuk meminimalisasi risiko perkembangan folikuler multipel.

PROTOKOL KONVENSIONAL

Protokol ini terdiri dari dosis awal harian FSH 75-150 IU dengan peningkatan 75 IU setiap 5-7 hari bila dibutuhkan. Dosis FSH ini akan menyebabkan perkembangan awal dengan menstimulasi folikel tambahan dan menyelamatkan folikel dari atresia. Protokol konvensional ini berhubungan dengan risiko tinggi terhadap perkembangan folikel multipel, kehamilan multipel dan kejadian OHSS.

Untuk meminimalisasi kejadian perkembangan multifolikuler, protokol low-dose kronis harus diterapkan, yaitu : *low-dose step-up protocol*, *low-dose step-down protocol*, *sequential protocol* dan *low-dose step up protocol*.

LOW-DOSE STEP-UP PROTOCOL ^{21,30}

Low-dose step-up protocol merupakan yang paling banyak dipakai pada protokol low-dose kronis. Caranya, setelah haid atau *progesterone induced withdrawal bleeding*, diberikan FSH 75 IU perhari. Dosis awal 75 IU perhari dipertahankan sampai 14 hari kecuali bila folikel sudah matur, sehingga dapat diberikan HCG. Dengan monitoring respon ovarium melalui pemeriksaan estradiol

serum setiap 2-3 hari. Jika estradiol lebih dari 100 pg/ml, monitoring dilanjutkan dengan ultrasonografi transvaginal tiap hari dan kadar estradiol serum tiap hari. Jika tidak didapatkan respon ovarium setelah pemberian FSH 75 IU perhari selama 14 hari, maka dosis FSH dinaikkan 37,5 IU. Selanjutnya peningkatan 37,5 IU dengan interval tiap minggu dengan dosis maksimum 225 IU perhari. Jika folikel dominan tercapai, dosis FSH dipertahankan sampai folikel mencapai 17 mm. Pada saat demikian HCG diberikan dengan dosis 10.000 IU.

Bila terdapat lebih dari tiga folikel berukuran 15 mm atau lebih, siklus ditunda karena ditakutkan terjadi OHSS. Jika tidak terdapat respon folikuler setelah 35 hari pemberian gonadotropin, siklus ditunda. Progesteron serum diperiksa 6-8 hari setelah pemberian HCG dan ovulasi dikonfirmasi bila progesteron lebih dari 5 ng/ml. Tes kehamilan dilakukan 14 hari setelah pemberian HCG. Bila setelah ovulasi kehamilan tidak terjadi pada siklus pertama, FSH diberikan kembali pada dosis subthreshold (37,5 IU lebih rendah daripada dosis threshold sebelumnya).

LOW-DOSE STEP-DOWN PROTOCOL ^{21,30}

FSH 150 IU diberikan setiap hari secara singkat setelah haid atau progesteron withdrawal bleeding dan dilanjutkan sampai folikel dominan (≥ 10 mm). Lalu dosis diturunkan menjadi 112,5 IU perhari diikuti dengan penurunan sampai 75 IU perhari 3 hari kemudian sampai HCG diberikan.

SEQUENTIAL STEP-UP AND STEP-DOWN PROTOCOL ^{21,30}

Pada protokol ini dilakukan pendekatan step-up dan kemudian dosis FSH diturunkan menjadi 37,5 IU saat folikel mencapai diameter 14 mm.

GNRH AGONIS ²⁴

Bekerja pada hipofise dan menginduksi down regulation reseptor GnRH serta mengakibatkan desensitisasi sekresi gonadotropin. Setelah efek flare-up yang berlangsung beberapa hari, kadar FSH dan LH menjadi hampir tidak terdeteksi. Pada pasien PCO efek flare-up GnRH agonis berlangsung lebih lama daripada pasien dengan haid normal akibat dari sensitivitas hipofise anterior terhadap GnRH eksogen yang tinggi. Sehingga berdasarkan pemikiran ini maka digunakan GnRH agonis pada pasien PCO, dengan tujuan mengurangi kadar LH basal yang tinggi untuk memperbaiki outcome terapi gonadotropin.

Goserelin acetate depot merupakan GnRH agonis yang 100 kali lebih poten dari hormon alami. Depot diberikan secara subkutan dan akan dilepaskan dalam

28 hari. Waktu paruh rata-rata goserelin sekitar 4-5 jam, pelepasan estradiol (E2) meningkat sedikit setelah 3 hari pemberian goserelin dan menurun dalam 2 minggu sampai kadar fase folikuler awal. GnRH akan menginduksi apoptosis dalam folikel.

GNRH ANTAGONIS ^{24,29}

GnRH antagonis diproduksi dari GnRH dekapeptida dengan mensubstitusi asam amino pada posisi 1, 2 dan 6. Penggunaan secara klinis masih terbatas karena waktu paruh yang pendek sehingga perlu penyuntikan yang berulang dan merangsang pelepasan histamin dari mast cell serta dapat menimbulkan reaksi alergi. Saat ini sedang dikembangkan GnRH antagonis yang waktu paruhnya lebih lama dan tidak menimbulkan reaksi alergi. GnRH antagonis terikat pada reseptor GnRH di hipofise secara kompetitif dengan GnRH endogen, sehingga menghambat sekresi LH. Perbedaan dengan GnRH agonis ialah GnRH antagonis tidak merangsang sekresi gonadotropin endogen, sebaliknya akan menginduksi penurunan segera dari gonadotropin. Penggunaan GnRH antagonis seperti cetrorelix selama fase midfolikuler menyebabkan penurunan LH dan estradiol dengan cepat dan sedikit pada FSH, juga menunda LH surge endogen selama 6-17 hari.

Protokol GnRH antagonis dapat digunakan pada pasien SOPK selama stimulasi ovarium pada program FIV. Meskipun tidak ada data mengenai aplikasi terapi yang spesifik pada pasien SOPK, tidak realistis mengharapkan hasil yang sama seperti pada wanita dengan ovarium normal. Pada penelitian multisenter besar yang membandingkan antagonis dengan agonis, secara meta-analisis memperlihatkan perbedaan yang sedikit, tetapi signifikan terjadi penurunan respon ovarium dan implantasi dibandingkan dengan protokol panjang GnRH α (Al-Inany dan Aboulghar, 2002). Perbedaan yang kecil ini mungkin disebabkan karena kurangnya pengalaman, terdapatnya pertumbuhan folikel dini pada awal pemberian gonadotropin, dan supresi LH yang berlebihan pada sebagian pasien.

Penggunaan kontrasepsi oral sebelum terapi, dan dosis gonadotropin yang menetap atau meningkat pada antagonis, akan mendapatkan hasil yang lebih baik. Lebih lanjut, meskipun membuat penanganan pasien SOPK menjadi lebih sulit, *coasting* sering menjadi pilihan untuk mencegah terjadinya OHSS. GnRH antagonis selama *coasting* sudah digunakan dengan sukses pada pasien yang mempunyai risiko hiperstimulasi selama induksi ovulasi dengan menggunakan protokol *low-dose step-up* (Fatemi dkk, 2002). GnRH antagonis mencegah kejadian prematur LH Surge dan mencegah OHSS.

GnRH antagonis diberikan pada hari kedua atau ketiga siklus dan saat kadar LH menjadi rendah, untuk dilanjutkan dengan pemberian low-dose urinary atau rFSH. Lebih baik bila terapi GnRH antagonis dilanjutkan sampai saat seleksi folikel dominan dan efek umpan balik negatif pada LH dengan meningkatkan estradiol, kecuali bila telah terdapat GnRH antagonis yang durasinya panjang. Protokol alternatif lain adalah dimulai dengan pemberian low-dose FSH dan GnRH antagonis diberikan saat folikel dominan mencapai ukuran 12-14 mm seperti pada protokol FIV.

OVERSTIMULASI DAN HIPERSTIMULASI ²⁵

Respon PCO terhadap stimulasi sering sulit diprediksi. Rekrutmen jumlah folikel yang besar dan kadar estradiol yang meningkat cepat, biasanya menjadi perhatian para klinisi pada pengelolaan pasien SOPK. Dosis gonadotropin harus diturunkan bila mencapai ambang stimulasi. Coasting sangat serius untuk dipertimbangkan bila folikel mencapai atau lebih besar dari 14 mm dan serum estradiol > 3000 pg/ml. Coasting lebih dini mungkin berhubungan dengan terhentinya perkembangan folikel dan turunnya kadar estradiol. Beberapa penelitian menunjukkan kemanjuran coasting dalam mencegah OHSS. Dari banyak penelitian nilai batas estradiol yang digunakan adalah 3000 pg/ml. Meskipun demikian coasting yang lama (lebih dari 3 hari) atau turunnya kadar estradiol lebih dari 20% setelah HCG dilaporkan berhubungan dengan hasil yang buruk.

Tindakan lain selain *coasting* untuk mencegah OHSS adalah penghentian siklus, pengurangan dosis HCG, dan penambahan recombinan LH. Jika siklus dihentikan, pemberian agonis atau antagonis diteruskan untuk mencegah *endogenous* LH Surge. Penggunaan antagonis lanjutan pada wanita dengan ancaman hiperstimulasi menyebabkan dengan cepat turunnya kadar estradiol dan pengurangan ukuran ovarium. Bila diberikan HCG, dosis harus disesuaikan dengan kadar estradiol. Dosis harus dikurangi sampai 5000 IU bila kadar estradiol > 3000 pg/ml dan sampai 3300 IU bila kadar estradiol > 5000 pg/ml. Recombinan LH sama efektifnya dengan HCG untuk induksi akhir maturasi folikel. Dosis tunggal 15.000-30.000 IU recombinan LH sama efektifnya dengan 5000 IU HCG dalam hal keamanan dan kemanjurannya. Karena waktu paruh recombinan LH lebih singkat, maka dapat menurunkan risiko terjadinya OHSS.

Bila HCG dosis ovulasi sudah diberikan, maka pasien SOPK dihadapkan pada bahaya OHSS yang berat. Terutama bila folikel berlebihan dan kadar estradiol tinggi, risiko hiperstimulasi berat sangat tinggi. Beberapa tindakan

harus diambil untuk mencegah kejadian hiperstimulai berat setelah pemberian HCG. Tindakan tersebut meliputi pemberian infus cairan dengan berat molekul yang tinggi, seperti *human serum albumin*, *hydroxyethstarch* (HES), dan pemberian *renin-angiotensin cascade inhibitor*.

Penanganan yang banyak digunakan saat ini adalah pemberian infus cairan HES 500 ml saat OPU dan 1000 ml pada saat transfer embrio. Dibandingkan dengan albumin, HES mempunyai hasil yang sama dan harganya lebih murah. Disamping itu dianjurkan untuk menunda transfer embrio sampai hari ke lima, sehingga pasien dapat dievaluasi dengan lebih baik. Jika tidak ada asites, nyeri abdomen atau hemokonsentrasi, satu atau dua blastosis ditransfer. Jika didapatkan gejala dan tanda OHSS, dilakukan simpan beku blastosis dan dilakukan penjadwalan ulang untuk *frozen- thawed embryo transfer*.

HASIL FIV PADA PASIEN PCO/SOPK ²⁵

Secara umum disetujui bahwa hasil kehamilan pada FIV wanita dengan PCO dan SOPK adalah sama dengan wanita dengan bentuk kelainan lain penyebab infertilitas. Wanita dengan PCO atau SOPK lebih banyak menghasilkan folikel dan oosit akibat respon intrinsik terhadap gonadotropin. Semua penelitian melaporkan bahwa jumlah oosit yang diambil lebih banyak pada pasien SOPK. Walaupun dilaporkan bahwa fertilisasi lebih rendah pada pasien SOPK, namun angka kehamilan tidak berbeda. Pada pasien SOPK penundaan siklus lebih sering terjadi, hal ini disebabkan karena adanya ancaman OHSS.

MASALAH PADA TERAPI FIV PASIEN PCO/SOPK ²⁵

Kualitas oosit

Adanya kelainan endokrin yang mengakibatkan peningkatan LH, peningkatan androgen, dan hiperinsulinemia menyebabkan kualitas oosit pada pasien PCO. Folikel pasien PCO lebih heterogen dan hipersekresi estradiol dan progesteron dibandingkan orang normal. Hiperinsulinemia menyebabkan kelainan respon terhadap LH yaitu respon prematur dan berhubungan dengan maturasi oosit abnormal dan mengurangi fekunditas. Kegagalan embriogenesis akibat maturasi oosit abnormal menjelaskan tingginya kejadian pregnancy loss setelah induksi ovulasi dengan gonadotropin, FIV dan embryo transfer. Faktor lain yang menentukan adalah kelainan intrinsik oosit seperti ekspresi abnormal GDF-9 (Growth Differentiation Factor-9) yang merupakan faktor derivat oosit yang penting dalam perkembangan folikel awal dan ekspansi cumulus dalam folikel preovulasi.

Estrogen penting untuk implantasi dan memerlukan transisi dari non-receptive ke receptive test sebagai respon estrogen dan progesteron. Jendela implantasi pada manusia relatif sempit dan berhubungan dengan reseptivitas uterus yang ternyata determinannya adalah kadar estrogen. Kadar estrogen dalam rentang yang sangat sempit menentukan lamanya masa jendela dari reseptivitas uterus. Walaupun estrogen dengan berbagai macam kadar fisiologis dapat menginisiasi implantasi, namun jendela reseptivitas uterus tetap terbuka dengan periode yang lama untuk kadar estrogen yang rendah, namun cepat menutup pada kadar esstrogen yang tinggi.

Rekomendasi bagi pasien PCO yang mengikuti stimulasi ovarium adalah :

- a) Penggunaan GnRH analog dengan long protocol untuk mensupresi LH.
- b) Penggunaan regimen step-down gonadotropin untuk menstimulasi ovarium.
- c) Coasting bila estradiol sangat tinggi.
- d) Pemberian insulin sensitizer pada pasien hiperinsulinemia yang resiten insulin.

KESIMPULAN

Induksi ovulasi pada pasien PCO dengan klomifen sitrat tetap merupakan terapi yang paling aman dan murah sehingga masih merupakan terapi lini pertama. Pada kasus PCO dengan resisten klomifen sitrat digunakan gonadotropin yang memiliki angka kehamilan yang baik, dan telah digunakan selama 10 tahun dengan kejadian kehamilan multipel dan OHSS yang rendah.

GnRH agonis yang dikombinasi dengan gonadotropin mengurangi LH endogen dan angka abortus, namun meningkatkan kehamilan multipel dan risiko OHSS bertambah, sehingga ditujukan untuk pasien PCO yang kadar LH tinggi dan gagal dengan terapi lain. Terapi baru saat ini adalah kombinasi *recombinant gonadotrophin* (rFHS) dan GnRH antagonis, membawa harapan yang baik dalam pengelolaan PCO.

Hasil FIV pada pasien PCO sama dengan kontrol yang diterapi atas indikasi lain. Adanya ovarium polikistik dapat mempengaruhi jumlah oosit yang diambil dan jumlah embrio yang dapat ditransfer serta cryopreservasi. Stimulasi ovarium pada pasien PCO sulit akibat risiko hiperstimulasi berat. Coasting dan penilaian lain penting untuk mencegah terjadinya komplikasi yang mengancam jiwa. Walaupun kualitas oosit dan embrio menjadi isu, namun tampaknya tidak mempengaruhi hasil klinis.

KEPUSTAKAAN

1. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935 :29; 181-91.
2. Goldzieher JW, green JA. The polycystic ovary. Clinical and histologic features. *J Clin Endocrinol Metab* 1962: 22; 325-28.
3. Dunaif A, Futterweit W, Segal KR, Dobrjansky A, Profound periphera insulin resistance, independent of obesity, in the polycystic ovary syndrome. *Diabetes (1989) 38: 1165-74.*
4. Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group 2004 Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction* 2004:19; 41-7.
5. Balen A, Laven J, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: International consensus definitions. *Human Reproduction Update* 2003 :9 ; 505-14.
6. Dunaif A. Hyperandrogenic anovulation (PCOS): a unique disorder of insulin action associated with an increased risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *AM J Med* 1995:98:335.
7. Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, Green G, Dobrjansky A, Licholai T. Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1992: 41; 1257-66.
8. Dunaif A, Sorbara L, Delson R, Green G. Ethnicity and polycystic ovary syndrome are associated with independent and additive decreases in insulin action in Caribbean Hispanic women. *Diabetes* 1993: 42; 1462-68.
9. Urbanek M, legro RS, Drscoll DA. Thirty-seven candidate gene for polycystic ovary syndrome:stronges evidance for linkage is with follistatin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999:96;8573-5.
10. Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt F et al. Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long term follow-umpan balik focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril* 1992: 57; 505-13.
11. Conn JJ, Jacobs HS, Conway GS. The prevalence of polycystic ovaries in women with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000: 52; 81-6.
12. Lanzone A, Caruso A, D Simone N, De Carolis S, Fulghesu AM, Mancuso, S. Polycystic ovary disease. A risk factor for gestational diabetes? *J Reprod Med* 1995: 40; 312-16.

13. Nestler JE, Powers LP, Matt DW et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72 :8309.
14. Kiddy DS, Sharp PS, White DM et al. Differences in clinical endocrine features between Obese and non obese subjects with polycystic ovary syndrome : an analysis of 263 consecutive cases. *Clin Endocrinol* 1990; 32; 213-20.
15. Meirou D, Yossepowitch O, Rosler A et al, Insulin resistant and non-resistant polycystic ovary syndrome represent two clinical and endocrinological subgroups. *Human Reprod* 1995; 10 ;1951-6.
16. Norman RJ, Davies MJ, Lord J, Moran LJ. The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome. *Trend in Endocrinology and metabolism* 2002;13;251-7.
17. Crosignani PG, Vegetti W, Colombo M. Resumption of fertility with diet in overweight women. *RBM Online* 2002;5;60-4.
18. Eijkemans MJ, Imani B, Mulders AG. High singleton live birth rate following classical ovulation induction on normogonadotrophic anovulatory infertility (WHO 2). *Human Reproduction* 2003;18;2357-62.
19. Imani B, Eijkemans MJ. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotrophic oligomenorrheic infertility. *Clin endocrinol* 1999;83;2361-5.
20. Conway GS, Honour JW, Jacobs HORMON STEROID. Heterogeneity of the polycystic ovary syndrome : clinical, endocrine, and ultrasound features in 556 patients. *Clin Endocrinol* 1989; 30; 459-70.
21. Yarali H. Gonadotropin treatment in patient with polycystic ovary syndrome. *RBM Online* 2004;8:528-37.
22. Moghetti P, Tosi F, Castello R et al. The insulin resistance in women with hyperandrogenism is partially reversed by antiandrogen treatment: evidence that androgens impair insulin action in women. *J Clin Endocrinol Metabol* 1996; 82; 952-60.
23. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications Clin for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18; 774-800.
24. Ioannis E, Milingos SD. Current and future status of ovulation induction in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction update* 1997;3;235-53.

25. Urman B, Tiras B, Yakin K. Assisted reproduction in the treatment of polycystic ovarian syndrome. *RBM Online* 2004;8:419-30.
26. Abramov Y, Barak V, Nisman B, Schenker J. Vascular endothelial growth factor plasma levels correlate ti the clinical picture in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997;67:261-5.
27. Kamat B, Brown L, Manseau E. Expression of vascular endothelial growth factor vascular permeability factor by human granulosa and theca lutein cells:role in corpus luteum development. *Am J Pathol* 1995:157-65.
28. Eagmann L, Maconochi N, Sladkevicius P. The outcome of in vitro fertilization treatment in women with sonographic evidance of polycystic ovarian morphology. *Human Reproduction* 1999;14:167-71.
29. Al-Inany h, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Meta-analyses of recombinant versus urinary derived FSH: an update. *Human Reproduction* 2002;18:301-13.
30. Homburg R, Howles CM. Low-dose FSH therapy for anpvulatory infertility associated with polycystic ovary syndrome:rationale, result, reflections and refinements. *Human Reproduction update* 1999: 5; 493-9.