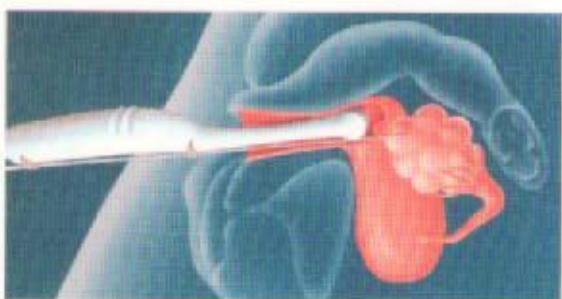


# Fertilisasi In Vitro dalam Praktek Klinik



## 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
<b>Bab I</b>	
<b>TAHAP SELEKSI PASIEN</b>	<b>1</b>
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
<b>Bab II</b>	
<b>TAHAP STIMULASI</b>	<b>209</b>
Prosedur Hiperstimulasi Ovarium Terkontrol dalam Program Fertilisasi In Vitro	210
Protokol Stimulasi Ovarium dalam Fertilisasi In Vitro	221
<b>Bab III</b>	
<b>TAHAP PELAKSANAAN</b>	<b>225</b>
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

<b>Bab IV</b>	
<b>PROSEDUR PENUNJANG PROGRAM FERTILISASI IN VITRO</b>	<b>273</b>
Prosedur dan Teknik PESA, MESA, TESA, dan TESE	274
Teknologi Reproduksi Buatan (TRB) Aspek Etik dan Legal	279
Perkembangan Teknologi Rekombinan Gonadotropin	291
<b>Bab V</b>	
<b>TAHAP SELEKSI PASIEN</b>	<b>309</b>
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

# PEMANTAUAN STIMULASI OVARIUM PADA PROGRAM FERTILISASI IN VITRO

Tono Djuwantonu/ Indra N.C Anwar/ Wiryawan Permadi/ Andi Hudono

## PENDAHULUAN

Pemantauan dalam program *assisted reproductive technologies* (ART) adalah observasi secara kontinyu parameter awal dan respon ovarium terhadap stimulasi ovulasi serta keadaan sesudah dilakukan pengobatan stimulasi ovulasi.<sup>1</sup>

Pemantauan mempunyai dua tujuan :

- Membantu klinisi untuk memilih regimen/protokol stimulasi ovulasi yang paling tepat sesuai individu dan kebutuhan dengan memodifikasi dosis dan atau cara pemberian regimen yang sedang dikerjakan dengan tujuan mendapatkan hasil akhir yang paling baik.
- Menghindari komplikasi yang mungkin timbul akibat induksi ovulasi misalnya hiperstimulasi ovarium.<sup>2,3</sup>

Dalam pemantauan terdapat tiga tahap yaitu : sebelum, selama dan sesudah stimulasi ovulasi sampai didapatkan kehamilan secara biokimiawi atau mungkin kegagalan implantasi.<sup>4</sup>

Sebelum stimulasi ovulasi harus dipikirkan regimen mana yang akan diberikan, hal ini tergantung pada : profil endokronologi reproduksi, kesehatan secara umum, usia, kemampuan keuangan, pengalaman dokter yang mengerjakan dan jenis program ART. Misalnya pemberian klomifen sitrat (KS), kita harus memastikan fungsi poros hipotalamus-hipofisis-ovarium masih baik dan tersedia estrogen yang cukup di dalam tubuh, akan lebih baik bila tidak ada kelainan hipofise, adrenal, tiroid yang memerlukan pengobatan khusus serta fungsi hati perlu dievaluasi apabila dalam anamnesis dan pemeriksaan fisik dicurigai adanya penyakit hati. Stimulasi dengan gonadotropin mutlak perlu fasilitas pemantauan folikel dengan transvaginal sonografi (TVS) dan fasilitas laboratorium endokrinologi, sesuai dengan rekomendasi dari *study group evidence-based fertility treatment*.<sup>5</sup>

Pemeriksaan pemantauan pertumbuhan folikel dan evaluasi kadar hormonal reproduksi merupakan bagian integral dari program TRB. Pada kebanyakan sistim biologis variasi individual yang luas akibat respon stimulasi ovulasi dengan berbagai regimen yang berbeda akan ditemukan. Oleh karena itu respon individual harus dipantau dengan ketat dan penyesuaian dengan dosis harian perlu dipertimbangkan.<sup>1</sup>

Penentuan secara TVS dari diameter folikel secara rutin digunakan untuk mengukur maturitas folikel pada program TRB<sup>4</sup>. Para peneliti banyak melaporkan korelasi antara kadar estradiol (E2) dengan besarnya ukuran folikel.<sup>6,7,8</sup>

## **RUANG LINGKUP ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES**

Bentuk ART yang paling umum adalah *in vitro fertilization* (IVF). IVF terdiri dari serangkaian tahap yang sangat terkoordinir yaitu mulai dari menentukan indikasi, penapisan pasangan suami istri, konseling, hiperstimulasi ovarium terkontrol dengan gonadotropin eksogen, diikuti oleh pengambilan kembali oosit dari ovarium dengan panduan TVS, fertilisasi dilakukan laboratorium, dan transfer embrio transerviks ke dalam uterus. Anak pertama yang dihasilkan dari IVF lahir pada 1978. Selama bertahun-tahun sejak itu, sejumlah teknik dikembangkan untuk meningkatkan keberhasilan. ART sekarang, juga mencakup metode-metode untuk fertilisasi yang dibantu (*assisted fertilization*) melalui *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) dengan menggunakan sperma yang diisolasi dari ejakulat atau diperoleh melalui *microsurgical epididymal sperm aspiration* (MESA) atau *testicular sperm extraction* (TESE), penetasan embrio yang dibantu, dan diagnosis genetik pra-implantasi.

## **FAKTOR-FAKTOR PROGNOSTIK YANG PERLU DIEVALUASI SEBELUM SIKLUS IVF DIMULAI**

Keberhasilan IVF sangat tergantung dari persiapan yang baik sebelum siklus transfer embrio dilakukan. Beberapa faktor prognostik keberhasilan yang perlu dipertimbangkan antara lain : usia ibu, cadangan ovarium, profil reproduksi sebelumnya dan faktor kebiasaan seperti merokok. Wanita usia muda dengan cadangan ovarium normal, riwayat kelahiran hidup sebelumnya lebih mungkin berhasil dibandingkan wanita usia tua, nullipara dan wanita yang gagal pada siklus IVF sebelumnya. Kebiasaan merokok dapat menurunkan keberhasilan sampai 50 persen.

## USIA IBU

Telah banyak dilaporkan antara penurunan fertilitas dan insidensi abortus spontan. Studi populasi kehamilan alami secara longitudinal menunjukkan bahwa puncak fertilitas terjadi antara usia 20-24, kemudian menurun pada usia 25-29 (4-8%), usia 30-34 (15-19%), usia 35-39 (26-46%), dan untuk usia 40 (95%). Ketika usia ibu meningkat dan fertilitas menurun, insidensi keguguran spontan juga meningkat.<sup>12</sup> Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sebab utama dari perubahan-perubahan yang bergantung pada usia adalah peningkatan prevalensi aneuploidy akibat oosit yang menua karena perubahan mekanisme regulator hormonal yang terganggu,<sup>13</sup> jumlah oosit dan embrio yang dihasilkan lebih rendah, fragmentasi embrio lebih tinggi, dan keberhasilan implantasi lebih rendah.<sup>10</sup>

## CADANGAN OVARIUM

Pengujian cadangan ovarium mempunyai nilai prognostik dan direkomendasikan untuk semua wanita yang merencanakan IVF. Karena respons ovarium berbanding terbalik dengan kadar FSH serum hari 3, hasil-hasil pemeriksaan cadangan ovarium juga membantu untuk pemilihan regimen-regimen stimulasi dan dosis gonadotropin yang akan digunakan untuk stimulasi.<sup>14</sup>

Sejumlah metode untuk pengukuran cadangan ovarium telah dilakukan dalam praktek klinis, konsentrasi FSH dan estradiol serum siklus hari 3 dan *clomiphene citrate challenge test* serta jumlah folikel basal pada hari ke 3 siklus haid adalah yang paling sering dilakukan.<sup>10,14</sup>

**Tabel 1. Interpretasi Pemeriksaan Kadar Hormon Hari ke-3 Siklus Haid**

Kadar FSH (mIU/ml)	Kadar Estradiol (pg/ml)	Cadangan Ovarium
> 10	< 70	-
> 10	> 70	-
2-10	> 70	-
2-10	< 70	normal

<sup>\*)</sup> Normal kadar FSH 2-10 mIU/ml; kadar estradiol < 70 pg/ml  
Dikutip dari : Bayer SR, 2002.<sup>15</sup>

## SKRINING PENYAKIT INFEKSI

Skrining rutin pasangan suami istri untuk infeksi *human immunodeficiency virus* (HIV), hepatitis B (antigen permukaan hepatitis B), hepatitis C (antibodi

hepatitis C) serta Toksoplasma dan rubella telah direkomendasikan. Tujuannya untuk melindungi staf medis dan staf laboratorium, janin dan perlindungan terhadap risiko kontaminasi silang embrio yang dibekukan.<sup>16</sup>

### TRANSFER EMBRIO PERCOBAAN

Transfer embrio percobaan harus dilakukan untuk menentukan arah dan kedalaman rongga uterus dan teknik tersebut penting untuk menghasilkan transfer embrio yang sukses dan atraumatik. Sejumlah observasi harus dicatat atau digambarkan untuk pedoman pada hari transfer embrio sesungguhnya. Hasil-hasil dari penelitian RCT menunjukkan bahwa transfer embrio tiruan memperbaiki hasil akhir dari IVF dan mengurangi insidensi transfer embrio yang sulit.<sup>17-20</sup>

#### • Evaluasi Uterus

Karena mioma submukosa dan polip endometrium dapat mengganggu implantasi atau mempunyai efek buruk pada hasil kehamilan, rongga uterus harus dievaluasi secara cermat sebelum siklus IVF mulai. Walaupun sejumlah pakar telah menganjurkan histeroskopi diagnostik rutin sebelum IVF, sonohisterographi lebih mudah dilakukan dan sensitivitas serta spesifisitasnya setara dengan histeroskopi untuk mendeteksi abnormalitas dalam rongga uterus. Pada waktu yang sama, teknik ini memberi gambaran untuk mendeteksi hydrosalping atau kista endometriosis dan patologi lain yang dapat didiagnosis dengan TVS (Lihat Bab Peranan USG Transvaginal) yang mungkin memerlukan perhatian khusus dan spesifik sebelum siklus IVF mulai.<sup>17</sup>

#### • Analisa Sperma

- a. Sebelum mulai siklus pengobatan, harus dilakukan 2 kali analisis sperma dengan selang waktu 3 minggu dalam 3 bulan terakhir. Hal ini bertujuan, selain untuk analisis sperma rutin sesuai standar WHO III, juga untuk mengetahui apakah suami ada kesulitan dalam melakukan masturbasi di ruang khusus yang disediakan, sehingga bisa diantisipasi jalan keluarnya pada saat program.<sup>18</sup>
- b. Pada suami dengan analisis sperma abnormal (oligo-terato-astenozoospermia), maka perlu dilakukan *sperm washing* pendahuluan sebanyak satu kali untuk mengetahui apakah memenuhi syarat untuk siklus pengobatan rutin IVF atau ICSI.
- c. Pemeriksaan mikrobiologi semen juga perlu dilakukan adanya lekosit pada analisis sperma mikrobiologi indeks infeksi yang cukup baik. Jika terdapat

sama dengan atau lebih dari 6/LPB, maka harus diobati dengan eritomicin atau doksisisiklin. Adanya infeksi (leukosit) ini dapat mengganggu proses fertilisasi.

## PEMANTAUAN PERTUMBUHAN FOLIKEL

Setelah melewati fase penapisan, langkah selanjutnya dari Siklus IVF adalah pemberian obat pemicu ovulasi, yang bertujuan untuk meningkatkan angka keberhasilan. Bila pada siklus alami ovulasi hanya menghasilkan satu oosit, dengan obat pemicu ovulasi diharapkan mendapatkan lebih dari satu oosit. Multipel ovulasi ini akan meningkatkan angka kehamilan, tetapi pada sisi lain kemungkinan untuk terjadinya kehamilan ganda juga meningkat. Kehamilan kembar dua mungkin masih kurang berisiko, atau mungkin kembar tiga, tetapi lebih dari itu risiko untuk ibu dan anak cukup besar. Oleh karenanya dikenal apa yang disebut dengan hiperstimulasi ovulasi terkendali, *controlled ovarian hyperstimulation (COH)*. Pemberian recombinant FSH (rFSH), GnRH agonis atau GnRH antagonis yang diatur cara pemberiannya dapat dipakai untuk tujuan ini, dapat mengendalikan pertumbuhan folikel dan dapat untuk mencegah kemungkinan terjadinya *ovarium hyperstimulation syndrome (OHSS)*.<sup>32</sup>

Terdapat beberapa cara untuk monitoring pertumbuhan folikel di antaranya:

1. Pemantauan serum estradiol secara seri.
2. Pemantauan serial TVS (telah dibahas pada Bab I, sub bab "Peranan USG Transvaginal dan USG Transvaginal Doppler dalam Bidang Assisted Reproductive Technologies")
3. Kombinasi antara TVS dan serum estradiol.

## PEMANTAUAN HORMONAL PADA STIMULASI OVARIVM

Pada siklus natural terdapat berbagai peristiwa perubahan hormonal yang berurutan dan sinkron untuk pertumbuhan dan maturasi folikel. Hal ini dipertahankan melalui keseimbangan dari gonadotropin, steroid dan kandungan non steroid yaitu faktor parakrin dan intrakrin di dalam folikel yang akhirnya menyebabkan lonjakan gonadotropin preovulasi.<sup>41</sup> Saat ini hormon eksogen tidak hanya digunakan untuk menstimulasi perkembangan folikel tetapi juga untuk inisiasi ovulasi dan mendukung fase luteal. Pada program IVF, ovulasi terjadi baik setelah lonjakan gonadotropin spontan maupun setelah pemberian hCG. Pemberian hCG umumnya diberikan pada stimulasi dengan gonadotropin, tetapi waktu pemberiannya yang tepat sangat sulit diprediksi akibat siklus

yang terstimulasi tersebut terjadi perubahan keseimbangan internal sehingga pemberian hCG dapat terjadi sebelum atau setelah waktu yang optimal.<sup>11,40</sup>

Pada stimulasi yang menggunakan regimen KS/hMG menyebabkan lebih banyak folikel yang tumbuh, namun fertilisasi secara keseluruhan dan tingkat pembelahan mungkin lebih rendah dibandingkan dengan yang menerima KS saja. Penurunan yang signifikan dari tingkat fertilisasi ini dikaitkan dengan meningkatnya jumlah oosit. Penemuan ini menunjukkan bahwa terjadi asinkronisme pertumbuhan folikel atau anomali dari pertumbuhan folikel dan perbedaan tingkat maturitasnya yang disebabkan oleh regimen hiperstimulasi.<sup>1</sup>

Efektivitas dari program stimulasi ovulasi tergantung dari skema pengobatan individual yang disesuaikan, oleh karena itu dosis hMG/ FSH harus disesuaikan dengan respons individual pasien dari regimen yang telah ditentukan. Pada kedua sistem tersebut monitoring harian dari parameter biokimia dan pertumbuhan folikel sangat penting.<sup>1,2,3,33,36</sup>

Sistim pemantauan yang ideal yaitu bila dapat memeriksa secara akurat kualitas oosit yang tumbuh secara individual. Pada saat ini kebanyakan sistim pemantauan hanya pada perkembangan folikel. Sistim yang ideal seperti ini dapat mengurangi kemungkinan mengambil oosit yang imatur atau postmatur dengan potensi pertumbuhan yang buruk. Namun sampai saat ini belum terdapat sistim pemantauan yang ideal atau indeks yang dapat mengindikasikan secara nyata kematangan oosit.<sup>1</sup> Pada saat ini kita masih tergantung pada metode indirek untuk menilai kualitas oosit yaitu metode yang digunakan pemantauan hormonal dan pengukuran dari ukuran folikel secara USG.

Untuk memahami peran dan aksi hormon eksogen dan kemungkinan efek samping yang terjadi akibat penggunaannya dalam stimulasi ovarium, berikut ini akan dibahas perubahan hormonal dari satu regimen hiperstimulasi ovarium terkontrol menggunakan protokol panjang.

#### HIPERSTIMULASI OVARIUM TERKONTROL

Tujuan hiperstimulasi ovarium terkontrol dalam program IVF adalah untuk memperoleh folikel sekitar 10-12 folikel dari ke dua ovarium dalam satu siklus pengobatan, sehingga oosit matang diperoleh dalam jumlah memadai. Keadaan tersebut akan meningkatkan keberhasilan kehamilan dan kelebihan embrio dapat disimpan beku.<sup>1,2</sup>

Pada saat ini, sebelum diberikan gonadotropin eksogen, kebanyakan senter TRB menggunakan metode *down regulation*, biasanya diberikan GnRH analog yang dapat diberikan dalam bentuk semprot hidung atau injeksi subkutan selama periode tertentu sampai di berikan hCG tergantung regimen yang dipakai. Sedangkan untuk memicu perkembangan folikel di pakai obat hMG atau FSH rekombinan.

## METODE DOWN REGULATION

Metode yang paling banyak di berikan adalah *long protocol*. Pada metode ini GnRHa diberikan pada fase luteal tengah atau biasanya pada hari ke-21 siklus sebelumnya. Penentuan pemberian GnRHa pada pasien yang daur haidnya tidak teratur sebelumnya di periksa dulu kadar hormon estradiol (E2) dan progesteron (P4) untuk menentukan fase luteal tengah saat awal pemberian GnRHa.

Penentuan hari fase luteal tengah, tergantung daur haid. Jika progesteron lebih dari 10ng/ml dan estradiol diatas 80 pg/ml, maka GnRHa diberikan mulai 3 hari setelah pengambilan darah untuk pemeriksaan E2 dan P4, dan jika kadar E2 130 pg/ml dan P4 5-10 ng/ml (kemungkinan fase luteal akhir) GnRHa di berikan keesokan harinya.

Pada keadaan tertentu pemeriksaan hormonal E2 dan P4 harus diulang, jika didapatkan P4 < 5 ng/ml E2 < 130 pg/ml kemungkinan fase luteal awal atau fase luteal akhir, pemeriksaan E2 dan P4 diulang 2 hari kemudian. Bila ditemukan kadar hormon P4 < 2 ng/ml dan E2 < 130 pg/ml yang menunjukkan kemungkinan fase luteal akhir atau anovulasi, pemberian GnRHa ditangguhkan pada siklus berikutnya.<sup>2,3</sup>

Pemberian GnRHa mempunyai tujuan untuk menghindarkan terjadinya *premature LH surge* endogen. Beberapa peneliti telah melaporkan sebanyak 22 % *LH surge* endogen dari keseluruhan siklus bila pemberian gonadotropin eksogen tanpa didahului oleh *down regulation*.<sup>33</sup>

Pemberian GnRHa selama 12-14 hari dengan dosis 600-900 µgr/hari atau 0,5 mg/hari subkutan, kemudian dilakukan pemeriksaan E2, P4, LH. Dikatakan supresi komplit bila kadar E2 < 50 pg/ml, beberapa senter berpatokan kadar E2 < 80, LH < 2 mIU/ml dan P4 < 1 ng/ml. Pemeriksaan USG ditemukan ukuran endometrium tipis dan tidak terdapat ukuran folikel > 10 mm.<sup>34</sup>

Bila semua kriteria tersebut tidak didapatkan pada hari ke 12-14 maka dosis GnRHa diperlahankan/dilanjutkan dan dilakukan pemeriksaan hormonal untuk E2, P4, LH satu minggu kemudian.

Setelah supresi komplit didapatkan, maka disebut hari ke 1 pemberian gonadotropin eksogen (HI) siklus IVF dan dosis GnRHa diturunkan (200 ugr semprot hidung, 0,2 mg subkutan) sampai diberikan hCG. Penentuan hari pertama dapat ditunda, tetapi dianjurkan tidak lebih dari 1 minggu sejak ditentukan supresi komplit akibat *down regulation*.

Penelitian yang dilakukan terhadap tiga protokol penggunaan GnRHa yang berbeda antara *long protocol*, *short protocol* dan *ultra short protocol* dengan pemberian gonadotropin yang sama yaitu FSH rekombinan didapatkan tingkat implantasi yang tinggi pada *long protocol* dibandingkan dengan protokol lainnya.<sup>35</sup>



### PEMBERIAN GONADOTROPIN EKSOGEN

Pada keadaan fisiologi seleksi folikel dominan telah terjadi sebelum hari ke-5 dari siklus haid. Apabila folikel dominan telah terpilih maka folikel lainnya menjadi atresia. Folikel dominan mempunyai dua keuntungan penting yaitu mempunyai reseptor FSH yang lebih banyak disebabkan karena tingkat reproduksi sel granulosa yang lebih baik dibandingkan folikel lain dan terdapat peningkatan aksi FSH akibat konsentrasi estrogen intrafolikuler yang lebih tinggi atau karena peptida autokrin dan parakrin lokal. Oleh karena itu folikel dominan lebih sensitif terhadap FSH.<sup>32</sup>

Penelitian pada domba menunjukkan bahwa proses atresia folikel bersifat *irreversible* dan bila hal ini terjadi, folikel tidak dapat diselamatkan dengan terapi hormonal.<sup>35</sup> Pada manusia telah ditemukan bahwa seleksi folikel dominan terjadi lengkap pada hari ke-5 siklus menstruasi.<sup>36</sup> Oleh karena itu waktu untuk pemberian gonadotropin menjadi sangat penting untuk keberhasilan pertumbuhan folikel dan pengembalian fungsi oosit dengan potensi pertumbuhan yang lebih tinggi.

Gonadotropin eksogen diberikan pada hari ke-2 siklus IVF sebelum terjadi pembentukan folikel dominan. Para peneliti mengemukakan apabila pemberian gonadotropin eksogen terlambat, setelah hari ke-5 (telah terjadi seleksi folikel dominan), justru pemberian gonadotropin dapat mempercepat proses atresia pada folikel yang kurang berkembang.

### PENENTUAN DOSIS FSH atau hMG

Penentuan dosis gonadotropin eksogen untuk stimulasi ovulasi tergantung dari usia pasien, jumlah ovarium sehat, adanya kelainan pada ovarium misalnya ovarium polikistik serta respon ovarium terhadap obat-obat stimulasi ovulasi sebelumnya.

Beberapa acuan untuk menetapkan dosis gonadotropin (tergantung senter IVF)<sup>38,39</sup>

- Usia pasien  $\leq$  32 tahun, ke 2 ovarium normal, tidak ada polikistik ovarium maka dimulai dengan dosis 150 IU (2 ampul).
- Usia pasien 32-39 tahun, satu ovarium berfungsi normal, tidak ada polikistik ovarium, maka mulai dengan dosis 225 IU (3 ampul).
- Untuk pasien berusia  $\geq$  40 tahun, hanya mempunyai satu ovarium, menderita endometriosis, respon buruk terhadap pemicu ovulasi sebelumnya, maka mulai dengan dosis 300 IU (4 ampul).

Di senter IVF *National University Hospital Singapore*, pada pasien  $>$  40 tahun dan respon yang kurang baik pada pengobatan sebelumnya menggunakan dosis 450 IU (6 ampul) pada hari pertama, 300 IU (4 ampul) pada hari ke 2

dosis 150 IU (2 ampul) pada hari ke 3 sampai hari ke 6, dosis selanjutnya tergantung hasil pemantauan respon pertumbuhan folikel dilihat dengan USG dan kadar E2.<sup>39</sup>

Pada saat ini penggunaan FSH jarang di mulai dengan dosis 75 IU atau 150 IU karena responnya lambat, dosis ini bisa dipertimbangkan pada pemakaian *flare protocol*, pasien dengan riwayat hiperstimulasi ovarium atau ovarium polikistik.

Dosis FSH di atas 300 IU juga jarang digunakan karena tidak terbukti memberikan respon yang lebih baik. Dosis 450 IU hanya dipakai sebagai upaya terakhir pada pasien yang tidak memberi respon dengan dosis 300 IU. Selain itu juga tidak terbukti ada manfaatnya untuk meningkatkan dosis jika sudah terjadi seleksi folikel dominan dengan diameter folikel diatas 12 mm.<sup>1,38</sup>

Dosis harian gonadotropin dapat diturunkan atau dinaikkan setelah hari ke 8 dengan menaikkan 75 IU atau 150 IU, atau dosis dapat diturunkan atau dibatalkan jika terdapat tanda-tanda respon yang berlebihan.

*Sebagai rekomendasi dosis gonadotropin jangan dirubah selama kadar E2 serial meningkat 50-100% tiap selang sehari.*

#### PEMBERIAN hCG

Beberapa peristiwa penting sehubungan dengan adanya *LH surge* pada pertengahan siklus antara lain:

1. Maturasi akhir oosit, termasuk maturasi sitoplasma dan inti sel.
2. Ovulasi dari masa oocyte-corona-cumulus-cell (OCCC).
3. Luteinisasi sel granulosa dan pembentukan korpus luteum.

Walaupun terdapat kontroversi dari beberapa peneliti, sebagian tidak menemukan adanya *LH surge* endogen pada siklus yang dilakukan stimulasi dengan hMG/FSH murni, namun Van Uem Jan dkk, melaporkan terjadinya *LH surge* endogen sebanyak 22% dari keseluruhan siklus yang diteliti.<sup>33</sup>

Dosis hCG yang diberikan kebanyakan bervariasi antara 5000 IU – 10000 IU. Tujuan yang paling penting dalam pemberian hCG adalah menginisias maturasi akhir dari oosit dan pembentukan korpus luteum. Tujuan tersebut umumnya berhasil. Pengambilan oosit matur yang adekuat tergantung pada beberapa faktor:<sup>1</sup>

1. Pertumbuhan normal dari folikel preovulasi yang dilakukan stimulasi ovarium
2. Penentuan waktu yang tepat pemberian hCG
3. Dosis yang paling sesuai dari hCG, besarnya dosis tergantung pada derajat sensitivitas dari masing-masing komponen seluler pada folikel preovulasi.

Satu kesulitan yang paling umum ditemukan adalah, kapan dan dengan dosis berapa hCG diberikan? Seperti kita ketahui, selama pertengahan siklus folikel preovulasi telah mencapai aktivitas aromatase dan juga terjadi peningkatan reseptor LH pada sel granulosa. Oleh karena itu apabila folikel preovulasi tidak matur dan tidak memiliki reseptor LH yang adekuat, maka pemberian hCG tidak dapat menginisiasi maturasi akhir oosit. Pertanyaan yang timbul adalah kapan kita bisa mengetahui folikel tersebut siap diberikan hCG? Pertanyaan ini sulit untuk dijawab, kita hanya mengetahui bahwa bila pemberian hCG terlalu awal maka akan didapatkan folikel matur yang tidak adekuat dan kemungkinan tidak mempunyai kapasitas untuk fertilisasi serta dapat menyebabkan pertumbuhan embrio yang tidak baik. Sebaliknya, apabila hCG diberikan terlalu lambat, maka folikel preovulasi menjadi post matur dan memiliki potensi gangguan pertumbuhan. Keadaan ini sering dipertanyakan kepada praktisi TRB karena menyangkut masalah etik yang sulit dijawab.<sup>1,7,13,16</sup> Oleh karena itu di beberapa unit TRB maju, saat ini dikembangkan *preimplantation genetic diagnosis*.

#### SUPPORT FASE LUTEAL

Telah dibuktikan bahwa dapat terjadi keadaan tidak sinkronnya antara pertumbuhan folikel dan endometrium. Oleh karena itu beberapa peneliti mendapatkan hasil kehamilan yang lebih rendah pada keadaan terjadinya maturasi folikel yang terlalu cepat tanpa persiapan yang sama pada endometrium. Kondisi klinis ini sering terjadi pada wanita dengan siklus menstruasi yang pendek.

Pada siklus yang dilakukan stimulasi ovulasi, dapat terjadi ketidak sesuaian lingkungan dari tuba falopii dan persiapan endometrium dengan pertumbuhan folikel. Keadaan yang disebabkan pemberian gonadotropin berlebih dapat mengganggu keseimbangan internal yang terjadi pada siklus natural. Gangguan ini bukan hanya berasal dari dosis yang berlebih saja, tetapi dapat juga dari pemberian tonik gonadotropin eksogen, karena pada proses fisiologis gonadotropin dikeluarkan secara pulsatil. Selain itu trauma fisik dari ovarium pada saat pengambilan oosit dapat menyebabkan pengurangan dalam jumlah besar sel granulosa sehingga kemungkinan dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan korpus luteum. Oleh karena itu, telah menjadi praktek rutin memberikan progesteron dan atau hCG untuk suport fase luteal pada pasien yang mengikuti program IVF.<sup>1,39,40</sup>

#### PEMANTAUAN KADAR ESTRADIOL

Kadar total estradiol serum mempunyai korelasi positif dengan tingkat maturasi dari keseluruhan folikel yang tumbuh. Oleh karena itu konsentrasi

dari estradiol sampai saat ini menjadi alat yang penting dan sering digunakan untuk menilai pertumbuhan folikel pada program IVF. Terdapat penurunan yang signifikan dari kejadian hiperstimulasi dan kehamilan kembar akibat dilakukannya pemantauan estradiol harian pada pasien yang diberikan stimulasi ovulasi oleh gonadotropin.

Pemantauan kadar E2 dilakukan mulai 4–6 hari setelah pemberian gonadotropin. Terdapat korelasi positif antara grup dengan E2 tinggi dengan tingkat fertilisasi, tetapi sampai saat ini penelitian belum dapat menentukan dengan baik *outcome* individual dari folikel. Masih sangat sulit untuk memprediksi pemberian hCG berdasarkan konsentrasi estradiol, tetapi berdasarkan penelitian diketahui bahwa kehamilan paling baik didapatkan pada kelompok pasien yang mendapatkan hCG sebelum puncak E2.

Satu masalah dari pemantauan estrogen harian pada program IVF adalah terdapat lebarnya variasi individual dari sensitivitas ovarium terhadap stimulasi gonadotropin, selain itu rentang dosis pengobatan sangat sempit antara dosis efektif dan dosis yang dapat menyebabkan hiperstimulasi. Kebanyakan hasil penelitian merekomendasikan pemeriksaan estradiol harian pada siklus yang distimulasi oleh gonadotropin.

Pengukuran kadar estradiol basal (hari ke-2 siklus) tidak dapat dijadikan prediksi untuk menilai respon ovarium dan hasil kehamilan pada stimulasi ovarium dengan gonadotropin.<sup>41</sup> Walaupun demikian pada penelitian yang dilakukan pengukuran kadar estradiol pada hari ke-4 siklus dapat dijadikan prediksi untuk keberhasilan kehamilan selama dilakukan hiperstimulasi ovarium. Bila kadar estradiol pada hari-4 lebih dari 75 pg/ml didapatkan keberhasilan kehamilan sebanyak 42,3% dan *take home baby rate* sebanyak 32,4%. Keadaan tersebut berbeda secara bermakna jika dibandingkan dengan kadar estradiol  $\leq$  75 pg/ml karena tingkat keberhasilan kehamilan hanya 9,1% dan *take home baby rate* hanya 6,8%.<sup>42</sup>

Pada penelitian dengan menggunakan *estron-3-glucuronide* dan *pregnandiol-3-glucuronide* yang dilakukan pasien di rumah dengan menggunakan parameter yang ditentukan dapat mengurangi biaya program. Tingkat keberhasilannya kehamilannya sebesar 30% per siklus, namun angka kejadian hiperstimulasi ovarium meningkat sebesar 11% per siklus.<sup>43</sup>

Murad NM membandingkan pemantauan siklus ovarium yang distimulasi gonadotropin (hMG/hCG) menggunakan USG saja dengan pemantauan yang menggunakan USG dan hormonal, memberikan hasil yang tidak berbeda secara bermakna (keberhasilan kehamilan 23,4% vs 22,9% dan *take home baby rate* 14,8% vs 14,3%).<sup>6</sup>

**PEMANTAUAN KEHAMILAN DINI**

- a. Pemantauan kehamilan dilakukan pada hari ke-16 setelah pengambilan oosit jika tidak ada menstruasi sebelumnya. Dilakukan pemeriksaan kadar hCG serum secara kuantitatif, jika :
  - Kadarnya 25-50 IU/L, ulang pemeriksaan hCG dan progesteron dalam 3 hari,
  - Kadarnya 50-150 IU/L, ulang hCG dan progesteron dalam 1 minggu,
  - Kadarnya  $\geq 150$  IU/L, jadwalkan untuk USG pada hari H + 35,
  - Jika pasien mempunyai riwayat abortus atau kehamilan ektopik, maka ulang pemeriksaan kadar hCG sesuai indikasi klinis, jika kenaikan kadar hCG pada pemeriksaan serial tidak bermakna ( $< 2$  kali lipat), maka harus waspada terhadap terjadinya abortus atau kehamilan ektopik,
- b. Pemantauan dengan USG dilakukan secara rutin pada hari ke- 35 setelah pengambilan oosit untuk melihat kantung gestasi, letak kantung gestasi, jumlah kantung gestasi, identifikasi CRL dan pulsasi jantung, evaluasi adneksa (kemungkinan adanya kehamilan ektopik dan adanya, kista lutein).
- c. Pemantauan ulang USG dilakukan 4 minggu dari pemeriksaan USG pertama.

**KESIMPULAN**

1. Pemantauan stimulasi ovarium pada program ART meliputi, persiapan awal antara lain anamnesis dan konseling pasangan suami istri yang teliti, kemudian dilakukan pemeriksaan fisik, laboratorium hormonal untuk menilai cadangan ovarium, pemeriksaan skrining terhadap penyakit infeksi meliputi HIV, Hepatitis B dan C, Rubella, Transvaginal sonografi menilai uterus, ovarium serta patologi pelvis lainnya. Untuk suami dilakukan pemeriksaan analisa sperma dan *sperm washing* minimal satu kali sebelum mulai stimulasi.
2. Menentukan regimen dan dosis gonadotropin untuk stimulasi ovarium, menilai respon ovarium, memantau pertumbuhan folikel dengan TVS dan kadar estradiol, mengevaluasi dosis gonadotropin untuk menghindari hiperstimulasi ovarium serta menentukan waktu dan dosis pemberian hCG. Menentukan hari pengambilan oosit, mempersiapkan kamar operasi dan laboratorium serta kelengkapannya. Mengevaluasi pertumbuhan embrio dan menentukan hari transfer embrio serta memberikan informasi dan konseling

- kualitas embrio yang dihasilkan kepada pasangan suami-istri termasuk informasi kelebihan embrio untuk disimpan beku
4. Merencanakan regimen dukungan fase luteal, dengan mempertimbangkan jenis dan respon stimulasi untuk mencegah hiperstimulasi ovarium.
  5. Menentukan pemantauan kehamilan dini, evaluasi dan tindakan selanjutnya apabila terjadi kehamilan atau kegagalan siklus.

## KEPUSTAKAAN

1. Goh HH. Hormone and Hormones Monitoring in Assisted Reproduction Programmes. In: Bongso A (editor). Assisted Reproductive Techniques 2001: 53-91.
2. Urbancsek J, Rabe T, Strowitzki. Ovarian Stimulation For In Vitro Fertilization: Past and Present. In: Rabe T, Strowitzski T, Diedrich K (eds). Manual on Assisted Reproduction: Springer 2000: 165-96.
3. Tawfik E, Mastroilli A, Campana A. Monitoring in vitro fertilization (IVF) cycles. <http://www.asrm.org>. 1998: 1-6.
4. Biswas A, Wong JC. Role of Ultrasound in Assisted Reproduction. In: Bongso A (editor). Assisted Reproductive Techniques 2001: 3-8.
5. Templeton A, Cooke I, O'Brien S. Evidence-Based Fertility Treatment. London RCOG Press. 1998 : 397-403.
6. Murad NM. Ultrasound or ultrasound and hormonal determinations for in vitro fertilization monitoring. *Int J Gynecol Obstet* 1988; 63: 271-6.
7. Lindheim SR, Cohen MA, Chang PL, Sauer MV. Serum progesterone before and after human chorionic gonadotropin injection depends on the estradiol response to ovarian hyperstimulation during in vitro fertilization – embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 242-6.
8. Hackeloer BJ. Ultrasound scanning of the ovarian cycle. *Journal of In-vitro fertilization and Embryo Transfer* 1984; 4: 217-20.
9. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* 1976; 1: 880.
10. Centres for Disease Control and Prevention, Ectopic pregnancy-United States, 1990-1992, *MMWR Morb Mortal wky Rep* 1995; 44 : 46.
11. Fritz MA, Guo S. Doubling Time of Human Chorionic Gonadotropin (hCG) in early normal pregnancy: relationship to hCG concentration and gestational age. *Fertil Steril* 1987; 47: 584.
12. Maroulis GB. Effect of aging on fertility and pregnancy. *Seminars Reprod Endocrinol* 1991; 9: 165.

13. Pellestor F, Andreo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J, Maternal Aging and Chromosomal Abnormalities: New data drawn from invitro unfertilized human oocytes, *Hum Genet* 2003; 112: 195.
14. Shapiro BS, Escobar M, Makuch R, Lavy G, deCherney AhH, A model-based prediction for transvaginal ultrasonographic identification of early intra uterine pregnancy, *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 149.
15. Bayer RS, Alper MM, Penzias AS, Handbook of Infertility, A practical guide for practitioners who care for infertile couples, New York; The Parthenon Publishing Group. 2002: 1-23.
16. Lower AM, Yovich JL, Hancock C, Grudzinskas JG, Is luteal function maintained by factors other than chorionic gonadotropin in early pregnancy? *Hum reprod* 1993; 8: 645.
17. Ng EH, Chui DK, Tang OS, Lau EY, Yeung WS, Chung HP. In vitro fertilization and embryo transfer during natural cycles. *J Reprod Med* 2001; 46 : 95.
18. Klinik Fertilitas Aster. Prosedur klinik teknik reproduksi buatan, Unit teknik reproduksi buatan Klinik Fertilitas Aster Rumah Sakit dr.Hasan Sadikin, Bandung. 2005 : 20-35.
19. Goswamy R. Ultrasound in Assisted Conception. In: In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction. PR Brinsden (editor). New York: The Parthenon Publishing Group.1999: 157-69.
20. Glorlandino C, Gleicher N, Nanni C, et al. The sonographic picture of endometrium in spontaneous and induced cycles. *Fertil Steril* 1987; 47: 508-13.
21. Kurjak A, Kupesk S. Textbook on Color Doppler in Gynecology, Infertility and Obstetrics.1<sup>st</sup> ed. Zagreb croatia 2001: 18-49.
22. Fleischer AC, Herbert CM, Sacks GA. Sonography of the endometrium during conception and non conception cycles of in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1986; 46: 442-6.
23. Cohen BM, Berry L, Roethemeyer V, Smith D. Sonographic assessment of late proliferative phase endometrium during ovulation induction. *J Reprod Med* 1992; 37: 685-90.
24. Salat-Baroux J, Uzan S, Giacomini P, Scemama H, Vuillard E, Boccara V. A comparative study of monitoring induction of ovulation using clomiphene and HMG-HCG. Hormonal and ultrasound profiles. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1981; 10: 369-74.
25. Fleischer AC, Kepple DM, Vasques J. Inferility. In : Fleischer AC, Kepple DM (eds). Transvaginal sonography. Philadelphia JB Lippincott Company. 1995: 185-28.

26. Hackeloer BJ, Fleming R, Robinson HP et al. Correlation of ultrasonic and endocrinologic assement of human follicular development. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135: 122-28.
27. Ylosalo CV, Ronnberg L, Pauppilu P. Measurement of the ovarian follicle by ultrasound in ovulation induction. *Fertil Steril* 1979: 651-55.
28. Dodson MG. *Transvaginal Ultrasound*. Churchill Livingstone. 1 st eds 1991.
29. Blankstein J, Quigley MM. Induction of ovulation in the patient with polycystic ovarian disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17: 733-49.
30. Ellenbogen A, Rosenberg R, Shulman A, Libal Y, Anderman S, Jaschevatzky O, Ballas S. A follicular scoring system for monitoring ovulation induction in polycystic ovary syndrome patients based solely on ultrasonographic estimation of follicular development. *Fertil Steril* 1996; 65: 1175-77.
31. Al-Azemi M, Bernal AL, Steele J, Gramsbergen I, Barlow D, Kennedy S. Ovarian respons to repeated controlled stimulation in in-vitro fertilization cycles in patiens with ovarian endometriosis. *Hum Reprod* 2000; 15: 72-5.
32. Sperrof L, Glass RH, Kase NG : *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* 6<sup>th</sup> edition : Lippincot Williams and Wilkins: Philadelphia. 1999 : 159-76.
33. Van Uem JFHM, Gracia JE, Liu HC et al. Clinical aspects regard to the occurrence of endogenous lutenizing hormone surge in gonadotropin induced normal menstrual cycles. *J Vitro Fert Embryo Transfer*. 1986; 3 (6): 345-9.
34. Felberbaum R, Rabe T, Diedrich. Gonadotropin Releasing Hormone: Agonists and Antagonists. In : Rabe T, Strowitzski T, Diedrich K (eds). *Manual on Assisted Reproduction*: Springer 2000: 133-63.
35. Ravhon A, Lavery S, Aurell R, Trew G, Margara R, Winston R. A prospective, randomized controlled trial comparing the efficacy of recombinant follicle-stimulating hormone in three different in vitro fertilization protocol. *Fertil Steril* 2000; 73: 908-12.
36. Dott HM, Hay MF, Cran DG et al. Effect of exogenous gonadotropin (PMSG) on the antral follicle population in the sheep. *J Reprod Fertil*. 1982; 56: 683-89.
37. Nilsson L, Wikland M, Hamberger L. Recruitment of an ovulatory follicle in human Graafian follicle nature. *Fertil Steril*. 1982; 250: 653-55.
38. Lunenfeld B, Lunenfeld E, Insler V. Human Gonadotropin. In : Rabe T, Strowitzski T, Diedrich K (eds). *Manual on Assisted Reproduction*: Springer 2000: 79-123.



39. Bongso A. Blastocyst culture. Sydney Press Indusprint 1999: 21-2.
40. Lindheim SR, Cohen MA, Chang PL, Sauer MV. Serum progesterone before and after human chorionic gonadotropin injection depends on the estradiol response to ovarian hyperstimulation during in vitro fertilization – embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 242-6.
41. Phophong P, Ranieri DM, Khadum I, Meo F, Serhal P. Basal 17 beta-estradiol did not correlate with ovarian response and in vitro fertilization treatment outcome. *Fertil Steril* 2000; 74: 1133-6.
42. Phelps JY, Levine AS, Hickman TN, Zacur HA, Wallach EE, Hinton EL. Day 4 estradiol levels predict pregnancy success in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *Fertil Steril* 1998; 69: 1015-9.
43. Thornton SJ, Pepperell RJ, Brown JB. Home monitoring of gonadotropin ovulation induction using the Ovarian Monitor. *Fertil Steril* 1990; 54 :1076-82.