

Uzun IVF Protokollerinde Supresyon Sonrası Bakılan Bazal Serum FSH Değeri Over Cevabını Belirler mi?

Koray ELTER, Hüsnü GÖKASLAN, Zehra N. KAVAK

Department of Obstetrics and Gynecology, Marmara University School of Medicine, İstanbul, Turkey

Received 28 November 2004; received in revised form 20 December 2004; accepted 21 December 2004

Abstract

Does the Basal Serum FSH Level Following Pituitary Suppression in a Long IVF Protocol Predict the Ovarian Response?

Objective: To investigate whether the ovarian response could be predicted on the basis of the basal serum FSH concentration following pituitary suppression in a long IVF protocol with the midluteal start of the GnRH agonist.

Materials and Methods: 174 ICSI cycles with a long protocol (mid-luteal start of the GnRH analog) between November 2001 and August 2003 were analyzed in this retrospective analysis. Cycles with a poor ovarian response, i.e. cancelled cycles due to poor response and those with oocyte aspirations of ≤ 3 MII oocytes, were compared to cycles with a normal ovarian response (aspiration of >3 MII oocytes) with respect to ovarian reserve tests and basal serum FSH following down-regulation. Receiver operating characteristic and logistic regression analyses were used to analyse the predictive power of ovarian reserve tests for the poor ovarian response.

Results: Age, basal serum E_2 level, antral follicle count, basal serum FSH level after down-regulation, total gonadotropin dose, duration of stimulation, serum E_2 level and number of follicles on the day of hCG and number of oocytes retrieved were significantly different between normal responders and poor responders. Age, basal serum E_2 level, antral follicle count, basal serum FSH level after down-regulation were the ovarian reserve tests, which had a significant predictive value for the poor ovarian response. However, basal serum FSH level after down-regulation was not an independent predictor.

Conclusion: The basal serum FSH concentration following pituitary suppression in a long IVF protocol can predict the ovarian response, and therefore, can be used as an ovarian reserve test. This supports the idea that FSH secretion is regulated also by significant GnRH-independent mechanisms.

Keywords: FSH, IVF, ovarian reserve, long protocol

Özet

Amaç: Uzun (analoğun luteal fazda başladığı) protokol kullanarak IVF tedavisi uyguladığımız subfertil kadınlarda supresyon sonrası erken foliküler fazda ölçülen serum FSH değerlerinin over cevabını belirleyip belirlemediğini incelemek.

Materyal ve Metot: Bu çalışma, Kasım 2001 ve Ağustos 2003 tarihleri arasında uygulanan 174 uzun protokol siklusunun retrospektif bir analizidir. Sikluslar over cevabına göre 2 gruba ayrılmıştır; ≤ 3 MII oosit toplanan ve zayıf over cevabı nedeniyle iptal edilen sikluslar zayıf over cevabı grubuna, >3 MII oosit toplananlar ise normal over cevabı grubuna dahil edilmiştir. Her iki grup, supresyon öncesi ölçülen over rezervi testleri ile supresyon sonrası erken foliküler fazda ölçülen serum FSH değeri açısından karşılaştırılmış ve anlamlı çıkan değerlerin zayıf over cevabını belirlemedeki etkinliği ve bağımsız bir belirleyici olup olmadığı alıcı işletim karakteristik ("receiver operating characteristic") ve lojistik regresyon analizleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Normal cevap veren olgular ile zayıf cevap veren olgular arasında yaş, bazal E_2 , antral folikül sayısı, supresyon sonrası bazal FSH değeri, kullanılan gonadotropin dozu, stimülasyon süresi, hCG günkü E_2 düzeyi, folikül sayıları ve aspire edilen oosit sayıları anlamlı olarak farklıydı. Over rezervi testlerinin over cevabını belirlemedeki etkinlikleri incelendiğinde yaş, bazal E_2 , antral folikül sayısı ve supresyon sonrası bazal FSH değerinin anlamlı çıktığı gözlemlendi. Ancak, supresyon sonrası ölçülen bazal FSH değerinin diğer over rezervi testlerinden bağımsız olmadığı gözlemlenmiştir.

Tartışma: Uzun (analoğun luteal fazda başladığı) protokol kullanarak IVF tedavisinin uygulandığı sikluslarda supresyon sonrası ölçülen serum FSH değeri over cevabını belirleyebilmektedir. Bu hipofizden FSH salınımının GnRH'dan bağımsız olarak da önemli mekanizmalarla kontrol edildiği görüşünü desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: FSH, IVF, over rezervi, uzun protokol

Corresponding Author: Dr. Koray Elter

Kuyubaşı Sok. Fenik Apt. No: 20/17

34724 Kadıköy, İstanbul, Türkiye

Phone : +90 532 265 27 19

Fax : +90 216 428 02 13

E-mail : korayelter@marmara.edu.tr

Giriş

Kronolojik yaşın reproduktif yaşlanma ile ilişkili olduğu ve hem oosit kalitesinin hem de oosit yaşının yaşla beraber azaldığı bilinmektedir (1). Ancak, sadece yaşın over rezervini belirlemedeki rolü kısıtlıdır. Bu sebepten over rezervini ve overin ovülasyon indüksiyonuna vereceği cevabı tahmin etmede kullanılabilir daha iyi testler geliştirilmiştir (2). Bazal serum FSH değeri bunlardan en sık kullanılanıdır. Bazal serum FSH değerinin over rezervini belirlemedeki rolü sadece spontan sikluslarda ölçülen FSH değerleri ile incelenmişken, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda IVF uygulaması sırasında analoglar ile oluşan supresyon sonrası ölçülen bazal serum FSH değerinin de over cevabını belirlediği şeklinde görüşler bildirilmiştir (3).

Bu çalışmadaki amacımız uzun (analoğun luteal fazda başlandığı) protokol kullanarak IVF tedavisi uyguladığımız subfertil kadınlarda supresyon sonrası erken foliküller fazda ölçülen serum FSH değerlerinin over cevabını belirleyip belirlemediğini incelemektir.

Materyal ve Metot

Bu çalışma, merkezimizde Kasım 2001 ve Ağustos 2003 tarihleri arasında uygulanan 174 uzun protokol siklusunun retrospektif bir analizidir. Tüm sikluslarda uzun protokol analogun mid-luteal fazda başlanması şeklinde uygulanmıştır. Üniversitemizin yerel etik kurulundan onay alınmıştır.

Merkezimizde tedavi siklusunun öncesindeki doğal siklusa çiftler değerlendirilmekte ve bazal over rezervi testleri ve ofis histeroskopiye içeren tetkikler yapılmaktadır. Bazal serum FSH ve E₂ düzeyleri de belirlenmektedir. Hipofiz desensitizasyonu amacıyla günlük löprolid asetat (Lucrin, Abbott, İstanbul), subkütan olarak, beklenen menstrüasyonun bir hafta önce başlanmaktadır. Löprolid asetat menstrüasyonun ikinci gününe kadar 1.0 mg/gün dozunda uygulanırken bu günden sonra doz yarıya düşürülmekte ve hCG uygulanacak güne kadar bu dozda devam edilmektedir.

Supresyonun sağlanması (serum E₂ <40 pg/mL) takiben siklusun 3. gününde overin uyarılmasına başlanmaktadır. Başlangıç dozu günde 150-300 IU rekombinant FSH (rFSH), IM (Gonal-F, Serono, İstanbul veya Puregon, Organon, İstanbul) ve 300-600 IU hMG (Humegon, Organon, İstanbul veya Menogon, Ferring, İstanbul) kombinasyonundan oluşmaktadır. Aynı gün serum FSH düzeyi ölçülmekte ve bazal antral foliküller sayılmaktadır. Başlangıç dozu kadının yaşına, bazal serum FSH ve E₂ değerlerine ve bazal antral folikül sayısına göre ayarlanmaktadır.

Takiben kadınlar siklusun 6. veya 7. gününde folikülometri için çağrılmakta ve verdikleri cevaba göre dozları ve takip eden ultrason değerlendirmelerinin zamanlaması ayarlanmaktadır. Çapı 16 mm veya daha fazla olan en az 3 adet folikül varlığında hCG ile ovülasyon indüksiyonu yapılmakta ve 34-36 saat sonra oosit aspirasyonu gerçekleştiril-

mektedir. Siklusun 10. gününde çapı 10 mm'yi geçen folikülün saptanmadığı olguların siklusları iptal edilmektedir. Çapı ≥ 16 mm olan bir veya iki folikülü bulunan ve diğer folikülleri <10 mm olan kadınlara başarı hakkında bilgi verilmekte ve IUI alternatif olarak sunulmaktadır. Oosit aspirasyonundan yaklaşık 4 saat sonra oositlerin matürite-leri değerlendirilmekte ve tüm MII oositlere ICSI yapılmaktadır.

Serum FSH ve E₂ konsantrasyonları Immulite immunoassay sistemi (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Interassay ve intraassay varyasyon katsayıları FSH için sırasıyla %6.6 ve %5.4; E₂ için sırasıyla %5.4 ve %4.4 idi.

Transvaginal ultrason GE Logiq 200 Pro'nun (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, ABD) 6.5-MHz vaginal probu kullanılarak yapıldı. Çapı 2 ile 10 mm arasında olan tüm foliküller 3. günde antral folikül olarak sayıldı ve sağ ile solun toplamı istatistiksel değerlendirmelerde kullanıldı. Çapı ≥ 10 mm olan foliküller dominant folikül olarak, ≥ 16 mm olanlar ise matür folikül olarak ifade edildi. Folikül sayıları sağ ile sol overin toplamı olarak ifade edildi.

İstatistiksel analiz

Sikluslar over cevabına göre 2 gruba ayrılmıştır; ≤ 3 MII oosit toplanan sikluslar zayıf over cevabı grubuna, >3 MII oosit toplananlar ise normal over cevabı grubuna dahil edilmişlerdir. Overin zayıf cevabı nedeniyle iptal edilen sikluslar da zayıf over cevabı grubuna dahil edilmişlerdir.

Gruplar, karşılaştırılan parametrenin niteliğine uygun olarak t- ve ki-kare testleri kullanılarak karşılaştırıldı. Alıcı işletim karakteristik ("receiver operating characteristic", ROC) analizi kullanılarak over rezervi parametrelerinin ve supresyon sonrası ölçülen bazal FSH değerinin zayıf over cevabı olgularını belirlemedeki etkinliği araştırıldı. Değişik değerler eşik değer alınarak hesaplanan sensitivite ve yanlış pozitiflik oranlarıyla ROC eğrileri çizildikten sonra eğri altındaki alanlar (EAA) hesaplanarak, bu alanların yazı-tura atmanın karşılığı olan EAA=0.5 değerinden anlamlı olarak farklı olup olmadığı incelendi. Optimum sensitivite ve spesifisite kombinasyonuna sahip olan değer optimum eşik değer olarak kabul edildi.

Supresyon sonrası ölçülen bazal FSH değerinin zayıf over cevabı olgularını belirlemede etkin bulunması durumunda bu etkinliğin diğer over rezervi testlerinden bağımsız olup olmadığı lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi. Gruplar arasında fark için P değeri <0.1 olan over rezervi parametreleri ve supresyon sonrası ölçülen bazal FSH değeri analize dahil edildi. Regresyon analizi sonuçları düzeltilmiş olasılık (odds) oranı ve bunun %95 güven aralığı verilerek ifade edildi. İstatistiksel analiz SPSS sürüm 11.5 (SPSS, Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Değerler "ortalama \pm standard sapma" olarak ifade edildi ve 0.05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

Normal cevap veren olgular ile zayıf cevap veren olguların demografik ve siklus karakteristikleri Tablo 1'de görülmektedir. Gruplar arasında yaş, bazal E₂, antral folikül sayısı, supresyon sonrası bazal FSH değeri, kullanılan gonadotropin dozu, stimülasyon süresi, hCG günlük folikül sayıları ve aspire edilen oosit sayıları anlamlı olarak farklıydı (Tablo 1). Over rezervi testlerinin over cevabını belirlemedeki etkinlikleri incelendiğinde yaş, bazal E₂, antral folikül sayısı ve supresyon sonrası bazal FSH değerinin anlamlı olduğu gözlemlendi (Tablo 2). Bunların içinde en az EAA değerine sahip olan, dolayısıyla da en az belirleyici olan supresyon sonrası bazal FSH değeri idi. Bu değer için bulunan optimum eşik değer 3.17 idi ve bu değerinin sınır kabul edilmesinin %91 sensitivite ve %37 spesifisite ile zayıf cevap olgularını belirlediği gözlemlendi (Tablo 2). Regresyon analizi ile over rezervi parametreleri arasındaki ilişkinin türü incelendiğinde supresyon sonrası ölçülen bazal FSH değerinin diğer over rezervi testlerinden bağımsız ol-

madığı, diğer bir ifadeyle halen kullanmakta olduğumuz over rezervi parametrelerine ek bir bilgi vermediği gözlemlendi (Tablo 3).

Tartışma

Üçüncü gün ölçülen serum FSH değeri ile over rezervi arasındaki ilişki iyi bilinmektedir (2,4). Scott ve arkadaşlarının (5) IVF başarısını tahmin etmede 3. gün serum FSH değerinin etkinliğini bildirmesinden sonra bazal FSH ölçümlerinin etkinliği değişik çalışmalarla gösterilmiştir (6-9). Bazal FSH değerinin over cevabını tahmin etmedeki etkinliğini inceleyen çalışmalarda serumlar doğal veya spontan siklusun erken foliküler fazında alınmıştır. Biz bu çalışmada uzun protokol ile IVF siklusu başlanan kadınlarda supresyon sonrası erken foliküler fazda ölçülen serum FSH değerinin de zayıf over cevabı olan olguları belirleyebildiğini gözlemledik.

Son yıllarda over rezervi testlerinin IVF'te uygulanan down-regülasyon sonrası nasıl değiştiği merak konusu ol-

Tablo 1. Normal cevap veren olgularda ve zayıf cevap grubunda siklus karakteristikleri

	Normal cevap olgular (n=128)	Zayıf cevap olgular (n=46)	P
Yaş (yıl)	31.3±5.3	34.8±4.4	<0.001
BMI (kg/m ²)	24.4±4.1	24.2±4.0	0.81
İnfertilite süresi (yıl)	5.9±4.7	7.2±5.5	0.13
Bazal serum FSH (mIU/mL)	6.9±1.9	7.9±3.1	0.07
Bazal serum E ₂ (pg/mL)	41.2±22.9	77.3±101.9	0.03
Antral folikül sayısı	8.0±3.5	5.5±2.3	<0.001
Supresyon sonrası bazal serum FSH (mIU/mL)	4.0±1.8	5.0±2.0	0.01
İptal edilen siklus sayısı	0	13	DD
Total rFSH dozu (x75 IU/OPU)	21.0±9.9	27.0±12.2	<0.001
Total hMG dozu (x150 IU/OPU)	22.3±11.0	25.6±9.2	0.11
Stimülasyon süresi (gün/OPU)	8.8±1.0	9.5±1.7	0.04
hCG günlük serum E ₂ düzeyi (pg/mL)	2674±2691	936±527	<0.001
hCG günlük matür folikül (çap 16 mm) sayısı	4.3±1.9	2.4±1.2	<0.001
hCG günlük dominant folikül (çap 10 mm) sayısı	14.7±5.6	6.1±2.6	<0.001
Aspire edilen oosit sayısı	13.0±6.9	3.1±1.7	<0.001
Aspire edilen MII oosit sayısı	9.8±5.0	2.3±0.7	<0.001

DD: Değerlendirme dışı, OPU: ovum pick-up.

Tablo 2. Over rezervi testlerinin zayıf cevap veren olguları belirlemedeki etkinliğini gösteren alıcı işletim karakteristik analizi sonuçları ve optimum eşik değerler ile elde edilen sensitivite ve spesifisite değerleri

	EAA±SH	P*	95% GA	Optimum eşik değer	Sn (%)	Sp (%)
Yaş	0.70±0.04	<0.001	0.61-0.78	33.5	69.6	63.3
Bazal serum FSH (mIU/mL)	0.59±0.06	0.1	0.48-0.70	-	-	-
Bazal serum E ₂ (pg/mL)	0.66±0.05	0.002	0.56-0.76	52.7	50.0	81.6
Antral folikül sayısı	0.73±0.05	<0.001	0.64-0.82	6.5	80.6	64.5
Supresyon sonrası bazal serum FSH (mIU/mL)	0.64±0.05	0.006	0.55-0.73	3.17	90.9	37.3

EAA=Eğri altındaki alan, SH=standart hata, GA=güven aralığı, Sn=sensitivite, Sp=spesifisite.
*EAA değeri 0.5 olan yazı-tura atma testinden olan farkın anlamlılığını göstermekte.

Tablo 3. Over rezervi testlerinin regresyon analizi ile incelenmesinin sonucunda ortaya çıkan, zayıf over cevabını belirleyen bağımsız değişkenler

	Düzeltilmiş olasılık oranı	%95 güven aralığı	P
Yaş	1.14	1.02-1.28	0.02
Bazal Serum E ₂	1.03	1.01-1.06	0.02
Antral folikül sayısı	0.74	0.61-0.91	<0.001

muştur (10-15). Ancak, sıklıkla ultrasonografik parametrelerin, özellikle de antral folikül sayısının üzerinde durulmuş ve bu parametrenin analog supresyonu sonucu değişmediği, over cevabı ve IVF sonucu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (1,10,15-18). Hormonal over rezervi parametreleri ile ilgili veriler ise çelişkilidir (3,13). Onagawa ve arkadaşları midluteal fazda başladıkları GnRH analog supresyonu ile yaptıkları 72 IVF siklusunu incelemişler ve supresyon sonrası bazal ölçülen serum FSH değerinin hem kullanılan gonadotropin dozu ile hem de elde edilen oosit sayısı ile korele olduğunu bildirmişlerdir (3). Yong ve arkadaşları ise midluteal fazda başladıkları GnRH analog supresyonu ile yaptıkları 46 IVF siklusunu incelemişlerdir (13). Supresyon sonrası ölçülen bazal serum FSH değeri ile elde edilen oosit sayısı arasında bir ilişki olmadığını gözlemlemişlerdir (13).

Zayıf cevap veren olgularda dahi over cevabı sikluslar arasında belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Klinkert ve arkadaşları daha önce IVF amaçlı uygulanan over stimülasyonuna zayıf cevap veren olguların, takip eden 2 siklustaki prognozlarını incelemişler ve bu olguların ikinci denemede %57'sinin normal cevap verdiğini bildirmişlerdir (19). İkinci denemede zayıf cevap veren olguların üçüncü denemelerinde olguların %49'unun normal cevap verdiği gözlenmiştir (19). Klinkert ve arkadaşlarının verileri, önceden bildiğimiz, bir yüksek FSH değeri olan olguların takip eden sikluslarda düşük FSH değeri gözlenirse dahi başarımın az olduğu gerçeği ile çelişmemektedir (20). Klinkert ve arkadaşları da zayıf cevap vermesi beklenen olgularda (yaş \geq 41 ve/veya yüksek serum FSH) zayıf cevapı takip eden sikluslarda normal cevap ihtimalinin daha az olduğunu bildirmişlerdir (19). Bu veriler özellikle over rezervi normal olan olgularda over cevabının sikluslar arasında değişebileceğini göstermektedir. Yong ve arkadaşları over fonksiyonunun endokrin ve biyofiziksel göstergelerini erken foliküler, midluteal ve analog supresyonu sonrasında değerlendirdiklerinde, over cevabı (aspire edilen oosit sayısı) ile hormonal ve ultrasonografik over rezervi testleri arasındaki ilişkinin en belirgin analog supresyonunu takip eden erken foliküler fazda olduğunu gözlemişlerdir (13). Bu gözlem, gelişebilecek ("recrutable") folikül kohortunun sikluslar arasında farklı olabileceği görüşünü desteklemektedir. Bu çalışmada supresyon öncesi ve sonrası over rezervi testlerinin over cevabını belirlemedeki etkinliklerini ayrıca incelemedik, çünkü zaten spontan sikluslarda alınan serum FSH değerlerinin gruplar arasındaki farkı istatistiksel anlama ulaşmamaktaydı. Bu çalışmamızın sonuçları da supresyon sonrası FSH değerinin over cevabını daha iyi belirlediğini göstermektedir.

Hipofizden salgılanan FSH'nin hipotalamustan salgılanan GnRH'den bağımsız mekanizmalarla da yönetildiği bilinmektedir (21-25). Ek olarak, günümüzde halen FSH salınımının kontrolü ile ilgili bilinmeyen yönler bulunmaktadır (23). Bu GnRH'den bağımsız mekanizmalar içinde inhibitör, aktivin ve folistatin, otokrin ve parakrin olarak FSH salınımının kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmanın sonuçları da GnRH'den bağımsız regülatör mekanizmaların varlığını ve önemini desteklemektedir.

Sonuç olarak, supresyon sonrası ölçülen serum FSH değeri de over cevabını belirleyebilmektedir. Bunun klinik önemi az gibi görünmekte ise de over cevabının sikluslar arasında değişebileceği hipotezini desteklemesi açısından önemlidir. Ancak, bu çalışmadaki sonuçların daha geniş serilerde de araştırılması önemlidir.

Kaynaklar

1. Durmusoglu F, Elter K, Yoruk P, Erenus M. Combining cycle day 7 follicle count with the basal antral follicle count improves the prediction of ovarian response. *Fertil Steril* 2004;81:1073-8.
2. Sharara FI, Scott RT, Jr., Seifer DB. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:804-12.
3. Onagawa T, Shibahara H, Ayustawati, Machida S, Hirano Y, Hirashima C, Takamizawa S, Suzuki M. Prediction of ovarian reserve based on day-3 serum follicle stimulating hormone concentrations during the pituitary suppression cycle using a gonadotropin releasing hormone agonist in patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol* 2004;18:335-40.
4. Erşahin A, Güngör M, Turan C, Keleş G, Gökmen O. Predictive value of day 3 estradiol and FSH serum levels on IVF outcome. *Gynecology Obstetrics & Reproductive Medicine* 1999;5:89-92.
5. 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;51:651-4.
6. Ebrahim A, Rienhardt G, Morris S, Kruger TF, Lombard CJ, Van der Merwe JP. Follicle stimulating hormone levels on cycle day 3 predict ovulation stimulation response. *J Assist Reprod Genet* 1993;10:130-6.
7. Huyser C, Fourie FL, Pentz J, Hurter P. The predictive value of basal follicle stimulating and growth hormone levels as determined by immunofluorometry during assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:244-51.
8. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 1995;64:991-4.
9. Sharif K, Elgendy M, Lashen H, Afnan M. Age and basal follicle stimulating hormone as predictors of *in vitro* fertilisation outcome. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:107-12.
10. Hansen KR, Morris JL, Thyer AC, Soules MR. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. *Fertil Steril* 2003;80:577-83.
11. Jarvela IY, Sladkevicius P, Kelly S, Ojha K, Campbell S, Nargund G. Effect of pituitary down-regulation on the ovary before *in vitro* fertilization as measured using three-dimensional power Doppler ultrasound. *Fertil Steril* 2003;79:1129-35.
12. Sharara FI, Lim J, McClamrock HD. The effect of pituitary desensitization on ovarian volume measurements prior to *in vitro* fertilization. *Hum Reprod* 1999;14:183-5.

13. Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. *Hum Reprod* 2003;18:35-44.
14. Dada T, Salha O, Allgar V, Sharma V. Utero-ovarian blood flow characteristics of pituitary desensitization. *Hum Reprod* 2001;16:1663-70.
15. Yu Ng EH, Chi Wai Chan C, Tang OS, Shu Biu Yeung W, Chung Ho P. Effect of pituitary downregulation on antral follicle count, ovarian volume and stromal blood flow measured by three-dimensional ultrasound with power Doppler prior to ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2004;19:2811-5.
16. Tomas C, Nuojuu-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in *in vitro* fertilization. *Hum Reprod* 1997;12:220-3.
17. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1998;69:505-10.
18. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in *in vitro* fertilization cycles. *Fertil Steril* 2003;80:350-5.
19. Klinkert ER, Broekmans FJ, Looman CW, Te Velde ER. A poor response in the first *in vitro* fertilization cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles. *Fertil Steril* 2004;81:1247-53.
20. Martin JS, Nisker JA, Tummou IS, Daniel SA, Auckland JL, Feyles V. Future *in vitro* fertilization pregnancy potential of women with variably elevated day 3 follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1996;65:1238-40.
21. Ying SY. Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocr Rev* 1988;9:267-93.
22. Padmanabhan V, Sharma TP. Neuroendocrine vs. paracrine control of follicle-stimulating hormone. *Arch Med Res* 2001;32:533-43.
23. Padmanabhan V, McNeilly AS. Is there an FSH-releasing factor? *Reproduction* 2001;121:21-30.
24. Padmanabhan V, Battaglia D, Brown MB, Karsch FJ, Lee JS, Pan W, Phillips DJ, Van Cleeff J. Neuroendocrine control of follicle-stimulating hormone (FSH) secretion: II. Is follistatin-induced suppression of FSH secretion mediated via changes in activin availability and does it involve changes in gonadotropin-releasing hormone secretion? *Biol Reprod* 2002;66:1395-402.
25. Padmanabhan V, Brown MB, Dahl GE, Evans NP, Karsch FJ, Mauger DT, Neill JD, Van Cleeff J. Neuroendocrine control of follicle-stimulating hormone (FSH) secretion: III. Is there a gonadotropin-releasing hormone-independent component of episodic FSH secretion in ovariectomized and luteal phase ewes? *Endocrinology* 2003;144:1380-92.