

Trabajo Fin de Grado

Grado en Medicina

Estudio comparativo de las tasas de éxito en tratamientos de reproducción entre mujeres que requieren aplicación de protocolo de rescate con progesterona y aquellas que no lo requieren.

Autor:
Javier García Maíllo

Director:
Mikel Gorostidi Pulgar

© 2023, Javier García Maíllo

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 CONCEPTO Y FRECUENCIA DE LA ESTERILIDAD	1
1.2 ETIOLOGÍA DE LA ESTERILIDAD	1
1.3 DIAGNÓSTICO DE LA ESTERILIDAD	2
1.4 FISIOLOGÍA DEL CICLO REPRODUCTIVO FEMENINO	3
1.4.1 El ciclo ovárico	4
1.4.2 El ciclo endometrial	5
1.5 RELEVANCIA DE LA PROGESTERONA (P)	7
1.6 FASES DEL PROCESO DE FECUNDACIÓN IN VITRO (FIV)	8
1.6.1 Estimulación ovárica	9
1.6.2 Recuperación de ovocitos	10
1.6.3 Fecundación de los ovocitos	10
1.6.4 Cultivo de embriones	11
1.6.5 Preparación endometrial	12
1.6.6 Transferencia de embriones	12
1.6.7 Soporte de la fase lútea	13
2. OBJETIVOS	14
3. MATERIAL Y MÉTODOS	15
4. RESULTADOS	16
5. DISCUSIÓN	21
6. CONCLUSIONES	23
7. BIBLIOGRAFÍA	24

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CONCEPTO Y FRECUENCIA DE LA ESTERILIDAD

Aunque es frecuente tratar de forma indistinta los conceptos de esterilidad e infertilidad, consisten en condiciones diferentes. Se entiende por esterilidad la ausencia de concepción durante un año de relaciones frecuentes sin protección, afectando dicha condición en torno al 10 – 15% de las parejas reproductivas en países occidentales. La infertilidad es la no consecución de un recién nacido vivo, a pesar de lograr embarazos. Esta última de menor prevalencia, afectando al 1 – 3% de las parejas en edad fértil.

En la especie humana la capacidad de fecundación por mes (CFM) es del 20%, es decir, la probabilidad de lograr una gestación durante el periodo de un mes de relaciones sin protección en parejas en las que no existan problemas de esterilidad. Muy baja en comparación con los primates por ejemplo (80%).

El 80% de las parejas que acuden a los especialistas en busca de ayuda por problemas a la hora de concebir, pueden llegar a conseguirlo de manera espontánea en algún momento a lo largo del primer año, de ahí que se haya establecido este periodo a partir del cual se recomienda la búsqueda de asistencia médica. A día de hoy se consideran 5 grados en cuanto al estatus fértil de una pareja: Superfértil (CFM 60%), Fertilidad normal (CFM 20%), Subfertilidad moderada (CFM 5%), Subfertilidad severa (CFM 1%), Infértil (CFM 0%)^[1]. Con una fertilidad normal la gestación se consigue dentro del primer año de relaciones sexuales sin protección anticonceptiva.

1.2 ETIOLOGÍA DE LA ESTERILIDAD

La etiología de la esterilidad abarca un amplio abanico de causas, en la que intervienen diversos factores que pueden aparecer aislados o de forma conjunta, tales como el factor masculino, la edad, trastornos de la ovulación, trastornos tuboperitoneales o idiopáticas. Esto hace que sea necesario abordar cada caso de manera personalizada y adoptar un tratamiento específico para cada paciente.

Inicialmente se diferencian 6 causas diferentes de esterilidad. No obstante, gracias a los datos aportados a partir de los tratamientos de la misma, el abanico de causas se ha ampliado de forma considerable en los últimos años.

Esterilidad masculina: Afecta a un 25% de las parejas, manifestándose en la mayoría de los casos en forma de patología seminal. Puede ser secundaria a una disminución en la producción de espermatozoides o por alteraciones morfológicas, del movimiento o genéticas.

Edad: Los cambios sociales acaecidos en los últimos años han hecho que la maternidad se plantee cada vez en edades más tardías. La fecundidad natural de la mujer desciende de forma progresiva a partir de los 37 años, siendo el descenso muy acusado a partir de los 40 años.

Trastornos de la ovulación: Suponen un 25% de las causas de esterilidad, siendo el síndrome de ovario poliquístico (SOP) el trastorno más prevalente.

Defectos en la interacción moco – espermatozoide: Suponen aproximadamente el 10% de las causas de esterilidad. Se manifiesta como una hostilidad cervical hacia los espermatozoides y se define por la inexistencia de espermatozoides móviles en el moco cervical tras un test postcoital.

Trastornos tuboperitoneales: Se trata de la esterilidad secundaria a daño tubárico postinfección, obstrucción tubárica, hidrosalpinx, adherencias pélvicas y endometriosis, siendo esta última la causa más frecuente, por los quistes de ovario y adherencias que provoca.

Esterilidad de causa desconocida (ECD): Según la literatura consultada, afecta entre el 15 – 30% de las parejas, dejando entrever la existencia de causas no conocidas que son causa de esterilidad o la falta de medios adecuados para diagnosticar algunas alteraciones. Con la incorporación de nuevos métodos diagnósticos, en los últimos años se ha visto que la tendencia ha sido un descenso de los casos de ECD.

1.3 DIAGNÓSTICO DE LA ESTERILIDAD

El diagnóstico en la pareja estéril comienza con la imposibilidad de conseguir una gestación a término, siendo esta la prueba inicial de que puede existir dicha condición.

El estudio debe incluir a ambos miembros; aproximadamente en el 50% de las ocasiones existe una afectación mixta. En cualquier caso, el estudio básico de esterilidad debe centrarse en tres objetivos: valorar la reserva ovárica de la mujer, confirmar la permeabilidad tubárica y confirmar que existen espermatozoides en cantidad suficiente, morfológica y funcionalmente normales. Actualmente la edad avanzada en la búsqueda de la gestación, es la principal causa de esterilidad.

En el estudio de la reserva ovárica se evalúa ecográficamente el ovario para realizar el recuento de folículos antrales como principal marcador de la cantidad de óvulos disponibles. De forma complementaria se solicitan estudios hormonales que informan de la función ovárica directamente (antimulleriana / AMH) o indirectamente, del control central o cerebral del ciclo ovárico (FSH, LH)

Por otra parte, dado que los trastornos del ciclo suponen un 25% de las causas de esterilidad, dentro del estudio inicial podemos incluir la determinación de estrógenos (estradiol) y progesterona (P), para confirmar la existencia de ovulación.

El bloqueo de las trompas de Falopio, requiere un estudio de la permeabilidad tubárica, siendo la histerosalpingografía (HSG) la técnica de elección. Mediante la introducción de contraste radiopaco a través del cérvix, puede observarse el paso de este a través de las trompas, con un 93% de sensibilidad y un 90% de especificidad en el diagnóstico de la obstrucción tubárica^[2].

El análisis seminal mediante el seminograma permite confirmar la proporción de espermatozoides, su morfología y funcionalidad. Los parámetros de normalidad seminal, actualizados por la OMS, se definen por la presencia en la muestra de una concentración de espermatozoides mayor o igual a 15 millones/mL con un recuento total de al menos 39 millones, al menos un 32% deben presentar movilidad lineal progresiva y al menos un 4% de morfología normal^[3].

1.4 FISIOLÓGÍA DEL CICLO REPRODUCTIVO FEMENINO

El ciclo genital femenino gira en torno al ovario, habiendo una interrelación funcional a través de mecanismos de feedback positivos y negativos entre éste, el hipotálamo y la hipófisis. A su vez, el ciclo ovárico ejerce un control neuroendocrino sobre el ciclo endometrial por el efecto hormonal del folículo ovárico y el cuerpo lúteo.

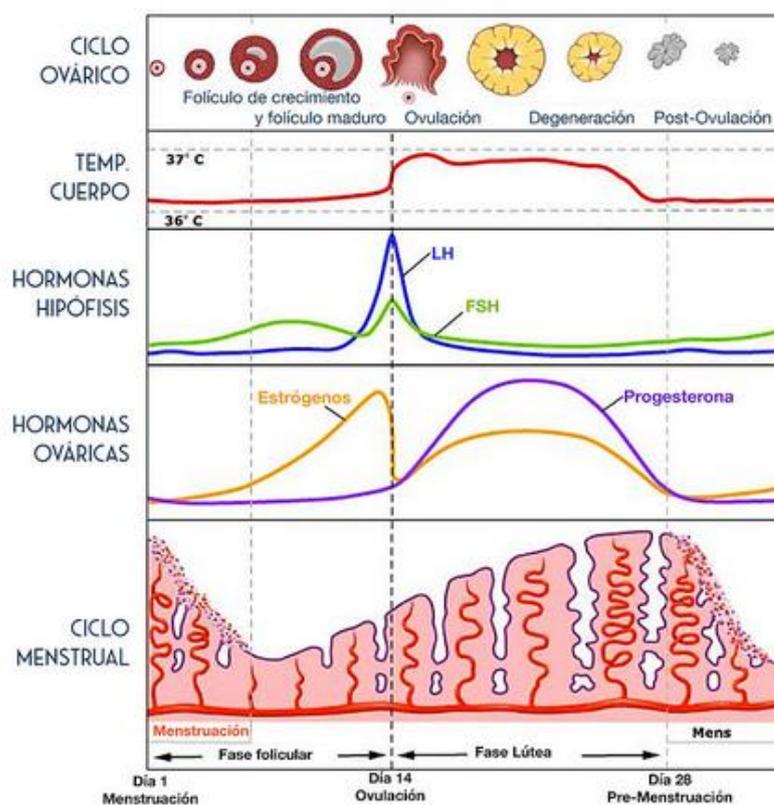


Figura 1. Representación de los cambios hormonales durante el ciclo femenino y su efecto a nivel ovárico y endometrial.

1.4.1 El ciclo ovárico

Durante el desarrollo embrionario las ovogonias se multiplican, maduran e inician su primera división meiótica, que quedará detenida en el estadio de diploteno, la cuarta subfase de la profase I, pasando a ser ovocitos de primer orden. Esto tiene lugar hacia la semana 20 del desarrollo, permaneciendo así hasta la ovulación. En esta semana del desarrollo se alcanzan el número máximo de ovocitos, a partir de la cual irán disminuyendo, hasta los 400.000 en el momento del inicio de los ciclos ovulatorios.

El elemento fundamental del ciclo ovárico es el folículo, que en su fase inicial constituye el folículo primordial. Está compuesto por un ovocito rodeado de células con capacidad secretora; las células de la teca, productoras de andrógenos y las células de la granulosa, productoras de estrógenos. Estas células se disponen de tal manera que, durante la maduración folicular, forman una estructura llamada antro que se

genera por la acumulación de líquido en su interior. Los folículos primordiales se localizan en la corteza ovárica.

Tras la menarquia y hasta la menopausia, todos los meses un grupo de folículos primordiales son reclutados y pasan a ser folículos primarios de mayor tamaño. De estos folículos habrá uno que se desarrollará más que el resto. Este folículo dominante se convierte en el folículo preovulatorio o folículo de DeGraf. Cuando este se rompe libera el ovocito dando lugar a la ovulación. El resto de folículos de ese ciclo se atresian. Aproximadamente tan solo un total de 400 folículos alcanzarán este estadio máximo de maduración, correspondiéndose con el número de ciclos que completará la mujer a lo largo de su vida fértil.

Una vez se ha producido la ovulación se produce una pequeña hemorragia en el folículo y la luteinización de las células de la granulosa, formando el cuerpo lúteo o cuerpo amarillo, productor de P. Posteriormente el cuerpo lúteo se fibrosa, en caso de que no haya embarazo, y se transforma en el cuerpo albicans; con su formación vuelve a reanudarse un nuevo ciclo.

Todo este proceso de reclutamiento, maduración y ovulación está gobernado por la secreción hormonal que se da en ovario – hipotálamo – hipófisis. En la primera fase del ciclo menstrual, a nivel ovárico, predomina la producción de estrógenos llevada a cabo por las células de la granulosa que se encuentran en desarrollo en ese momento. Estas células poseen a su vez receptores de FSH y LH, hormonas que se secretan a nivel hipofisario.

Hacia el día 14 del ciclo se produce un pico de LH y FSH que desencadena el proceso de ovulación. Tras esta, comienza la segunda fase del ciclo, en la que se da un descenso en la producción de estrógenos y de los niveles de FSH y LH, con un aumento de la producción de P, llevada a cabo por el cuerpo lúteo. Los niveles de P, en caso de producirse el embarazo, irán en aumento. En caso de no haberlo, se dará un descenso de esta hormona hacia el final del ciclo en el día 28.

1.4.2 El ciclo endometrial

De forma paralela a lo que acontece con el ciclo ovárico, el endometrio lleva a cabo su propio ciclo, sufriendo una serie de modificaciones por el efecto de las hormonas

del folículo ovárico y el cuerpo lúteo. La función del endometrio es la de preparar el tejido para albergar el embrión.

El endometrio posee dos capas: la capa basal y la capa funcional. La primera no sufre cambios cíclicos, ni se descama y a partir de ella se regenera la capa funcional. Esta última se compone por glándulas y tejido conectivo laxo que se descama en cada menstruación.

Hacia el tercer día del ciclo ovárico se da la primera fase del ciclo endometrial, la *fase proliferativa*. Comienza tras la menstruación y su duración es variable. La mucosa y las glándulas localizados en la capa basal aumentan de tamaño, por el estímulo de los estrógenos sobre esta, haciendo que aumente el espesor del endometrio. Hay una proliferación vascular y glandular con alto contenido en glucógeno.

La segunda fase, denominada *fase secretora*, es más constante en su duración. Comienza tras la ovulación, predominando la secreción de P. Las glándulas aumentan de volumen y se vuelven más tortuosas al llenarse de glucógeno que servirá de nutriente en caso de producirse el embarazo.

Cuando el ovocito no es fecundado se produce la descamación de la capa funcional, dándose la fase hemorrágica, que comienza 24 horas antes de la menstruación hasta el tercer día del ciclo. Con la caída de los niveles de estrógeno y P, y por efecto de las prostaglandinas, se reduce la presión intracapilar y la velocidad circulatoria, que conducen a la isquemia del endometrio y su posterior descamación. Los fragmentos de endometrio son expulsados por efecto de las contracciones uterinas.

Cuando ha existido una fertilización, el embrión migra hasta la mucosa uterina para proceder a la implantación. El trofoblasto embrionario produce la hormona gonadotropina coriónica humana (β -hCG), hormona que puede detectarse en sangre y cuantificar para confirmar la existencia de un embarazo, y que estimula al cuerpo lúteo a continuar con la secreción de P hasta que la placenta sea autónoma para producirla. La menstruación ya no tiene lugar, dado que no se produce la caída de estrógenos y P. El endometrio sufre una hiperplasia y se observa una transformación decidual, es decir, las células del estroma endometrial, gracias al influjo de la P, se vuelven voluminosas, transformándose en células deciduales ricas en glucógeno, que facilitan la anidación del embrión.

1.5 RELEVANCIA DE LA PROGESTERONA (P)

Desde los inicios del estudio de la fertilidad se ha dado una gran importancia al conocimiento del papel de la P y sus alteraciones en la génesis de la infertilidad, así como a su empleo terapéutico para conseguir el embarazo. La importancia de la toma de decisiones clínicas en torno a la determinación de los niveles de P ha aumentado sustancialmente en los últimos años. En la actualidad la importancia de la suplementación con P en los ciclos de fecundación in vitro (FIV) es bien conocida. Está descrito que en los ciclos de estimulación ovárica con frecuencia existe un déficit de fase lútea, que redundaría en niveles insuficientes de esta hormona. Por otra parte, la elevación prematura de los niveles se asocia a peores resultados en FIV y en inseminación intrauterina.

Como ya se ha mencionado, la síntesis de P se da principalmente en el ovario, desde la fase folicular tardía hasta la luteínica, siendo esta última fase fundamental para establecer la receptividad uterina durante el comienzo del embarazo. Si el embarazo no tiene lugar el cuerpo lúteo involuciona, disminuyen los niveles de estrógenos y P y comienza la menstruación. En caso de embarazo, a partir de la séptima a novena semana de gestación la placenta en desarrollo comenzará con la secreción de estrógenos y P, en colaboración con las glándulas suprarrenales fetales, hasta el momento del parto.

A nivel endometrial la P inhibe la actividad proliferativa del endometrio e induce una compleja actividad secretora, que comienza con la aparición de glándulas de glucógeno. Las glándulas endometriales vierten su contenido a la cavidad endometrial, lo que es esencial para mantener el embrión antes de la implantación. Además de los cambios glandulares hay cambios a nivel de vasos sanguíneos; las arteriolas endometriales sufren un proceso de proliferación endotelial, un engrosamiento de la pared y un enrollamiento, formando arteriolas espirales en el noveno día postovulación. El papel de estas arteriolas es crítico en el proceso de implantación, debido a que el tejido trofoblástico demuestra un importante tropismo por la sangre. El enrollamiento de las mismas aumenta la superficie que puede ser contactada con el trofoblasto durante este proceso.

Se ha comprobado que niveles bajos de P en las fases descritas previamente disminuyen las tasas de embarazo y aumentan el riesgo de aborto. La receptividad endometrial, que supone el momento en el que el endometrio va a estar preparado para la implantación embrionaria, se ve alterada por variaciones en los niveles de P^[9]. En la práctica clínica la suplementación con P exógena en los ciclos de FIV, es habitual para prevenir y regular los problemas asociados al déficit de la misma.

1.6 FASES DEL PROCESO DE FECUNDACIÓN IN VITRO (FIV)

La FIV es una técnica de reproducción asistida (TRA) que consiste en la fecundación in vitro del ovocito, mediante la obtención previa de gametos, y el cultivo de embriones viables que puedan ser transferidos posteriormente a la cavidad uterina. La duración media de un ciclo de FIV en fresco suele ser de unas 3 semanas desde el inicio de la estimulación hasta la transferencia del embrión.

Las probabilidades de éxito de la FIV dependen de múltiples factores. La calidad seminal, la reserva ovárica y la calidad ovocitaria son los más importantes^[10].

Para predecir la respuesta ovárica de una paciente, previo al inicio de la estimulación ovárica, se emplean diferentes marcadores, entre los que se encuentran^[4]:

- *Edad de la mujer.* Es el marcador pronóstico más relevante, habiendo una disminución notoria en el número de ovocitos recuperados, embriones disponibles, tasa de implantación y recién nacido vivo, a medida que la edad aumenta^[22].
- *Reserva ovárica.* Un marcador hormonal es la determinación de hormona antimulleriana (AMH), aunque el recuento ecográfico de folículos antrales se ha mostrado como la prueba de primera elección^[22].
- *Tabaco.* El tabaco ha demostrado reducir la tasa de éxito de la FIV^[21].
- *IMC elevado.* El sobrepeso disminuye la tasa de gestación^[20] y aumenta las complicaciones durante la misma.
- *Endometriosis.* Aunque clásicamente la esterilidad asociada a la endometriosis se trataba eliminando o reduciendo la misma y sus consecuencias, en los últimos años se ha desaconsejado el manejo quirúrgico de la misma, ya que la intervención puede tener efectos adversos sobre la reserva ovárica.

Cuando la fertilidad masculina o femenina se encuentra demasiado comprometida como para poder llevar a cabo la técnica con los gametos de los pacientes, puede recurrirse al empleo de óvulos o semen procedentes de donación. En el caso del tratamiento de ovodonación, las fases de estimulación y recuperación de ovocitos se realizan en la donante y la fase de transferencia embrionaria en la receptora.

Un caso particular de ovodonación es el que se produce cuando, dentro de una pareja de dos mujeres, una de ellas aporta los óvulos para producir los embriones, siendo la otra integrante la que los recibe para su gestación. A este método se le conoce como Recepción de Ovocitos de la Pareja (ROPA).

1.6.1 Estimulación ovárica

Lo más habitual es que se empleen ciclos estimulados, ya que las tasas de éxito son superiores a las de los ciclos naturales. Los ciclos naturales, serían aquellos en los que los ovocitos se obtienen a partir de un ciclo menstrual natural, sin emplear fármacos estimulantes.

Existen muchas pautas de estimulación en las que se manejan diversos fármacos. Unos basados en las hormonas FSH y LH del ciclo femenino, cuya función es estimular el crecimiento de los folículos y otros basados en la GnRH, que impiden el pico de LH ovulatorio antes del momento de recuperación ovocitaria. Cada uno de estos medicamentos se indica dependiendo de las características de la paciente concreta. El objetivo que se persigue con todas estas pautas medicamentosas es la hiperestimulación ovárica controlada.

Durante la estimulación se realizan controles ecográficos para el seguimiento del crecimiento de los folículos ováricos y cuando se considera que los óvulos pueden alcanzar la madurez, se desencadena la ovulación. Existen fundamentalmente dos opciones para inducirla: agonistas de la GnRH y hCG urinaria o recombinante. La hCG se asocia con un incremento del riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), desaconsejándose su uso en pacientes con respuesta elevada a la estimulación. Los análogos de la GnRH son por tanto la mejor opción en pacientes con alta respuesta a la estimulación ovárica, aunque se asocian a una menor tasa de gestación y de recién nacido vivo, en ciclos con transferencia embrionaria en fresco, debido al defecto

secundario de P que provocan en la fase lútea. Existen estudios que han demostrado un aumento en las tasas de gestación combinando ambos fármacos^[5].

1.6.2 Recuperación de ovocitos

La recuperación de los ovocitos se realiza mediante la punción folicular. Esta se realiza entre 34 y 36 horas después de desencadenar la ovulación. La técnica emplea la aspiración de ovocitos guiada por ecografía transvaginal bajo sedación. Los ovocitos aspirados se recogen en tubos de ensayo y se envían al laboratorio de FIV, donde se lavan y se almacenan en incubadora a 37°C y 6% de CO hasta el momento de su fecundación.

Si los ovocitos no pueden fecundarse el mismo día de su recuperación, se someten a un proceso de vitrificación en nitrógeno líquido a -80°C, donde pueden mantenerse de forma indefinida y desvitrificarse más adelante para su fecundación.

1.6.3 Fecundación de los ovocitos

La muestra de semen se obtiene principalmente por masturbación, aunque pueden ser necesarias técnicas quirúrgicas, como la biopsia-aspiración testicular (TESA), en aquellos varones con incapacidad para la eyaculación. Una vez recogida se capacita mediante la técnica de *swim up*. Pueden emplearse adicionalmente técnicas de mejora de la muestra, como la técnica de columnas de anexina o la de gradientes de densidad.

Pasadas de 4 a 6 horas tras la punción folicular se fecundan los ovocitos. Existen fundamentalmente dos métodos para conseguirlo:



Figura 2. Izquierda: Fecundación de ovocito mediante FIV convencional. Derecha: Fecundación de ovocito mediante inyección intracitoplasmática (ICSI)

- *FIV convencional*: Cada ovocito se incuba con 50000 – 100000 espermatozoides móviles durante 17 a 20 horas. Transcurrido este periodo se evalúan los ovocitos en busca de signos de fecundación (presencia de 2 corpúsculos polares y 2 pronúcleos).
- *FIV ICSI (Inyección intracitoplasmática de espermatozoides)*: Consiste en la microinyección de un único espermatozoide en el interior de un ovocito.

1.6.4 Cultivo de embriones

Tras haber fecundado los ovocitos, se cultivan durante un número de días variable en función del laboratorio, antes de transferirlos a la madre. Normalmente entre el día 3 a 6 de desarrollo. Habitualmente se prefiere la transferencia en estadio de blastocisto (día 5-6), dado que existe una mayor tasa de nacidos vivos a favor de la transferencia de blastocistos respecto a hacerlo en los días 2-3^[6]. No obstante, el número de ovocitos fecundados que alcanzan este estadio suele ser entre el 40 – 60%.

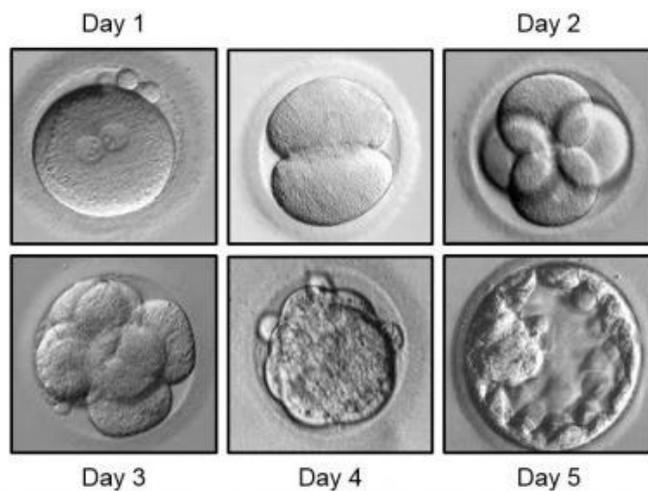


Figura 3. Diferentes estadios de desarrollo embrionario. Desde el día 1, con 2 pronúcleos y 2 corpúsculos polares, hasta el día 5, estadio de blastocisto.

Para llevar a cabo el desarrollo de los embriones hasta los distintos estadios existen diferentes sistemas de cultivo. Pueden cultivarse sobre una monocapa de células endoteliales humanas (cocultivo) o en medios que imiten el entorno fisiológico del embrión en el aparato reproductivo femenino (medios secuenciales).

Durante el periodo de cultivo los embriones deben permanecer en un incubador con unas condiciones de temperatura, presión y concentración de CO estrictas. Existe una amplia variedad de incubadoras. Actualmente, las equipadas con sistemas *time lapse*, permiten hacer un seguimiento de los embriones casi en tiempo real, sin necesidad de extraer los embriones de los medios en los que se encuentran para hacer su valoración; facilitan el diagnóstico de posibles problemas durante el desarrollo de los embriones y mejoran las tasas de llegada a blastocisto.

Si la transferencia de los embriones no va a realizarse directamente, después de la FIV, se procede a su vitrificación y mantenimiento en nitrógeno líquido hasta la preparación endometrial.

1.6.5 Preparación endometrial

Esta fase consiste en la preparación del útero para la recepción de embriones vitrificados (propios o procedentes de donación) o en tratamientos de ovodonación en fresco. Se puede realizar en ciclo sustituido o en ciclo natural.

En ciclo sustituido se emplean estrógenos en una fase inicial de al menos 9 días para inducir en el endometrio los cambios asociados a la fase proliferativa y, en consecuencia, engrosarlo. Cuando el grosor endometrial es superior a 6.5mm se considera apto para la transferencia del embrión y se añade P para inducir los cambios de la fase secretora endometrial.

En ciclo natural se realiza un seguimiento del ciclo de la paciente sin agregar estrógenos en una primera fase. Cuando el folículo dominante alcanza los 17mm se desencadena la ovulación y se inicia la suplementación con P en fase lútea.

1.6.6 Transferencia de embriones

La transferencia embrionaria es una fase que en los últimos años se ha puesto de manifiesto la trascendencia que tiene en las tasas de gestación. Actualmente la transferencia intrauterina de los embriones por vía vaginal es la técnica más empleada.

Se realiza en quirófano adyacente al laboratorio de FIV, sin sedación. En laboratorio se carga el embrión en una cánula, blanda y maleable preferiblemente. Posteriormente

el ginecólogo, mediante control ecográfico la introduce por el orificio cervical y deposita el embrión en el tercio medio uterino de forma preferente. La transferencia debe ser lo más atraumática y exacta posible, ya que existe una correlación en el incremento de la tasa de embarazo en aquellas transferencias que se realizan sin dificultad, o las llevadas a cabo por ginecólogos con mayor experiencia en la técnica^[7].

1.6.7 Soporte de la fase lútea

El soporte durante la fase lútea optimiza la receptividad endometrial y aumenta las tasas de gestación^[8]. Se puede realizar con hCG, aunque no se aconseja su uso en cualquier escenario, por aumentar el riesgo de SHO; por ello, la suplementación habitualmente se lleva a cabo con P.

La P puede administrarse vía oral, vaginal o intramuscular (IM), con resultados similares, aunque se prefiere la vaginal por tener menos efectos adversos y resultar más cómoda para la paciente. Las dosis utilizadas son muy heterogéneas, variando en función del protocolo de cada centro sanitario. La P se inicia el mismo día de la punción ovocitaria, en ciclos con transferencia embrionaria en fresco, o según la pauta descrita previamente en la fase de preparación endometrial. La duración de la suplementación con P suele mantenerse durante las 12 primeras semanas del embarazo.

El soporte de fase lútea difiere según el tipo de TRA utilizada. La transferencia embrionaria en los ciclos de reproducción asistida puede hacerse en el contexto de un ciclo natural, estimulado o sustituido. En el ciclo natural la paciente ovula de forma espontánea, lo que conlleva la formación de un cuerpo lúteo remanente que será el encargado de producir la P. En el ciclo estimulado, se induce la formación de múltiples folículos que, tras puncionarlos, darán lugar a multitud de cuerpos lúteos. Sin embargo, el empleo de análogos de GnRH impiden el mantenimiento del cuerpo lúteo, lo que provoca un déficit de P de forma secundaria. Por último, en el ciclo sustituido la paciente no posee ningún cuerpo lúteo productor de P, debiendo administrarse P de reemplazo. En los dos primeros casos la P exógena complementa el déficit de producción hormonal endógena, mientras que en el último caso será el único aporte de P disponible, requiriendo de dosis más elevadas.

No obstante, a pesar de estar establecida la necesidad del soporte de fase lútea, no existen pautas de administración estandarizadas. Mientras que la pauta durante la fase de estimulación ovárica está más adaptada y personalizada a las necesidades de cada paciente, la pauta de P exógena en fase lútea suele ser la misma para todas las pacientes. Debido a esto en los últimos años ha surgido cierto interés en determinar hasta qué punto puede lograrse una personalización en la terapia durante esta fase, en función de las características de cada paciente.

Desde el año 2015 se han publicado diversos estudios que han analizado la relación entre los niveles de P sérica y el pronóstico reproductivo en los ciclos de TRA, habiéndose demostrado que existe un nivel mínimo de P sérica por debajo del cual las tasas de embarazo y de recién nacido vivo decrecen de forma significativa^[11,12,13,14]. Aunque este nivel de P varía entre estudios, desde 8.8 ng/mL a 22 ng/mL, el punto de corte más utilizado es de 10 ng/mL.

Encontrar una pauta de rescate personalizada que aumente los niveles de P y, presumiblemente, mejore las tasas de embarazo y recién nacido vivo resulta por tanto muy interesante, siendo este uno de los objetivos principales que justifican la elaboración del presente estudio.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal del estudio es valorar si existen diferencias en cuanto a tasas de recién nacido vivo entre el grupo de pacientes con $P < 10$ ng/mL el día de la transferencia embrionaria y que se suplementan con P subcutánea, y el grupo de $P \geq 10$ ng/mL que no requieren suplementación.

Como objetivos secundarios tenemos la valoración de las tasas de implantación, gestación clínica y aborto entre los dos grupos, así como, valorar la normalización de los niveles de P en el grupo suplementado y la influencia de las variables recogidas en la predicción de recién nacido vivo en casa.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En octubre de 2020 se inició el protocolo de soporte personalizado de fase lútea en la clínica IVF Donostia. Se inició una recogida de datos entre el 7 de octubre de 2020 y el 2 de agosto de 2022, de las pacientes que acudieron al centro para transferencia embrionaria en ciclo de fecundación in vitro, con microinyección espermática (ICSI), tanto en tratamiento de ovodonación como en tratamiento con óvulos propios de embriones criopreservados, técnica ROPA o embriodonación. Se excluyeron del análisis aquellas pacientes en tratamiento de fecundación in vitro con óvulos propios con transferencia embrionaria en fresco y aquellas pacientes que no realizaron la extracción analítica en el propio centro.

Los datos recogidos incluyeron: la fecha de transferencia embrionaria; edad de la paciente en el momento del tratamiento; el resultado de la P el día de la transferencia y el día de la β -hCG; el origen de los ovocitos, propios o donados; el tipo de ovocito, vitrificado o en fresco; el tipo de embriones, propios o donados; el tipo de preparación endometrial, en ciclo hormonal sustituido o en ciclo natural; número de embriones transferidos; el día de desarrollo del blastocisto transferido; si se produjo o no implantación con β -hCG positiva; si se visualizó gestación clínica, con la presencia de latido cardíaco en la ecografía de la semana 7; el número de sacos gestacionales presentes; la evolución de la gestación, si se produjo un aborto o nacimiento de recién nacido vivo; si se realizó estudio genético preimplantacional de aneuploidías (PGT-A); el origen del semen, de la pareja o de donante y la calidad del embrión transferido.

La preparación endometrial se pudo realizar en ciclo hormonal sustituido o ciclo natural. Los ciclos sustituidos se realizan con estradiol a dosis de 6 mgrs diarios en 3 tomas de 2 mgrs cada una durante 2 o 3 semanas. Tras la realización de una ecografía para comprobar la presencia de un endometrio de grosor superior a 6.5 mm y una analítica con P menor de 1.5 ng/mL se procede a la programación de la transferencia embrionaria en estadio de blastocisto.

Todas las pacientes realizaron extracción de analítica con P previa a transferencia embrionaria y en el día de la β -hCG. La extracción se realizó en el mismo centro utilizando el sistema Mini vidas analyzer [U] – 99737U, versión de software Minividas 5.6.1. Según el protocolo implantado, si el resultado de la P previa transferencia

embrionaria es menor de 10 ng/mL se indica a la paciente iniciar con la inyección de P subcutánea (Prolutex ®) a dosis de 1 inyección diaria. El control de P se realiza entre 10 y 12 días después con la extracción de P el día de la β -hCG.

El análisis de los datos se realiza con el sistema STATA 15 (StataCorp LLC., Texas, USA) statistical software.

4. RESULTADOS

El número de ciclos recogidos en la base de datos fue de 299, de los cuales 16 han sido excluidos por falta de información necesaria, habiendo un total de 283 ciclos disponibles para el estudio. Tras la valoración de los niveles de P previos a transferencia embrionaria se observa que 249 pacientes tenían niveles mayores a 10 ng/mL y 34 pacientes menores de 10 ng/mL, lo que supone un 13.65% de mujeres con niveles de P inferiores a 10 ng/mL.

Inicialmente procedemos a la descripción de nuestra población según las variables recogidas. Las variables cuantitativas se presentan como media (M) y desviación estándar (DE) o como mediana e intervalo intercuartil 25-75 según la distribución de la variable. Las variables categóricas se presentan como n y %. Se ha realizado test de T-Student para comparar variables cuantitativas y test de Chi2 o Fisher para variables categóricas.

Se han analizado las variables descriptivas de nuestra población. La edad truncada fue de 38.8 años (DE 4), sigue criterios de normalidad y se representa en una gráfica de la siguiente manera:

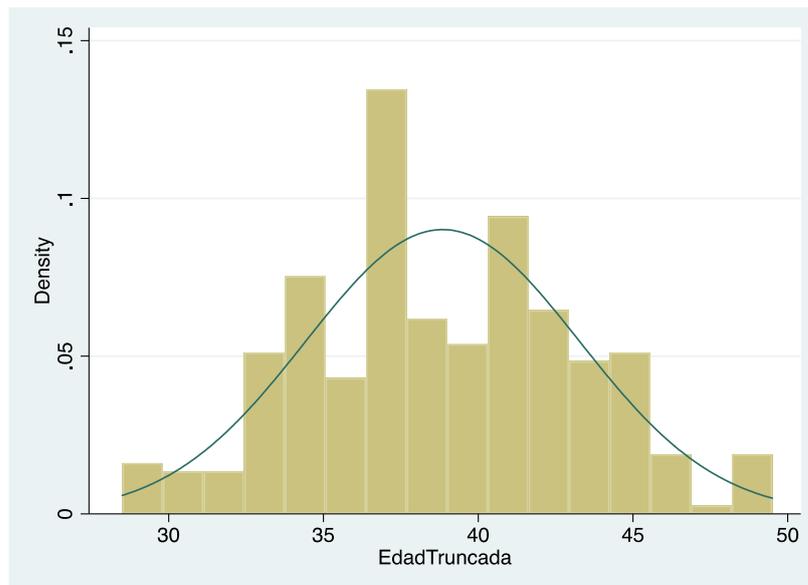


Figura 4. Representación gráfica de la edad de la población estudiada.

La variable de P el día de la transferencia embrionaria no cumple con criterios de normalidad. El valor medio de P previo a transfer embrionaria fue de 20.6 ng/mL (DE 13):

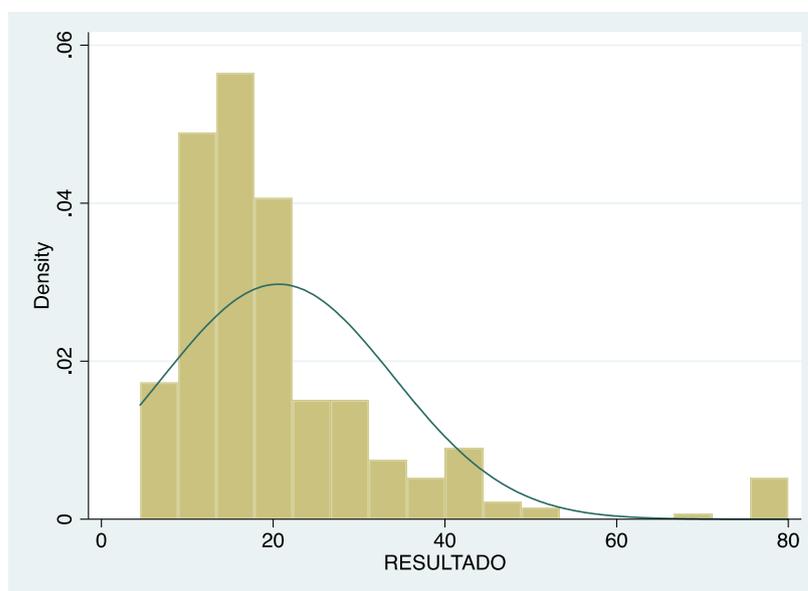


Figura 5. Representación gráfica de las mediciones de P previo a transferencia embrionaria en la población estudiada.

A continuación, el resto de variables descriptivas analizadas en ambos grupos, sin encontrarse diferencias significativas en ninguna de ellas, excepto en los niveles de P previos a la transferencia embrionaria, parámetro que define ambos grupos estudiados. A señalar que no se encuentran diferencias significativas en los niveles de progesterona el día del test de embarazo, mediante determinación de la β -hCG, tras rescate con P subcutánea, lo que significa que las pacientes rescatadas normalizan los niveles de P tras su suplementación con el nuevo protocolo.

Tabla1. Tabla basal de la población estudiada con las variables descriptivas analizadas

Variable	P \geq 10 ng/mL	P \leq 10 ng/mL. Grupo Rescate con P	p
Edad truncada (años)	38.8 (4.5)	39.3 (4.3)	0.5612
Origen ovocitos:			0.293
• Donante	120 (48.2%)	12 (35.3%)	
• Propios	122 (49%)	21 (67.8%)	
• ROPA	7 (2.8%)	1 (2.9%)	
Tipo de ovocitos:			0.342
• Frescos	161 (64.7%)	25 (75.5%)	
• Congelados	88 (35.3%)	9 (26.5%)	
Tipo de Embriones:			1
• Donados	33 (13.3%)	4 (11.8%)	
• Propios	216 (86.8%)	30 (88.2%)	
Transferidos			0.120
• 1	249 (100%)	33 (97.1%)	
• 2	0	1 (2.9%)	
Día transfer:			0.833
• 5	162 (77.5%)	22 (75.9%)	
• 6	45 (21.5%)	7 (24.1%)	
• 7	2 (1.0%)	0	
Cifra Progesterona Basal	18.0 (IQR 14.1-25.0)	8.3 (IQR 7.4-9.2)	<0.0001
Cifra Progesterona Test Beta	16.9 (IQR 13.1-21.9)	15.7 (IQR 13.2-18.9)	0.0832
Semen:			0.533
• Biopsia testicular fresco	1 (0.4%)	0	
• Semen donante	47 (18.9%)	6 (17.7%)	
• Semen pareja congelado	6 (2.4%)	2 (5.9%)	
• Semen pareja fresco	195 (78.3%)	26 (76.5%)	
Procedimiento			0.580
• Criotransfer (donante)	8 (31.1%)	7 (20.6%)	
• Criotransfer (propios)	122 (49%)	21 (61.8%)	
• Criotransfer (ROPA)	7 (2.8%)	1 (2.9%)	
• Transfer fresco (donante)	40 (16.1%)	5 (14.7%)	
PGT	90 (36.1%)	11 (32.4%)	0.665
Calidad del embrión:			0.800
• AA	10 (4.0%)	0	
• AB	52 (21.0%)	10 (30.3%)	
• AC	10 (4.0%)	1 (3.0%)	
• BA	7 (2.8%)	0	
• BB	116 (46.8%)	14 (42.4%)	
• BC	43 (17.3%)	6 (18.2%)	
• CB	10 (4.0%)	2 (6.1%)	

Tras el análisis de las variables objetivo del estudio no se encuentran diferencias significativas en recién nacido vivo en casa. Las tasas absolutas de embarazo y de gestación clínica son superiores en el grupo de rescate, aunque debido a que la tasa de aborto es un 10.7% superior en estas pacientes, el valor absoluto de recién nacido es un 8% menos (53.8% vs 45.8%).

Tabla 2. Comparación de los resultados de las variables objeto del estudio de las pacientes con medición de $P \geq 10$ ng/mL y pacientes con $P < 10$ ng/mL a las que se suministró dosis de rescate.

Variable	$P \geq 10$ ng/mL	$P < 10$ ng/mL. Grupo Rescate con P	<i>p</i>
Embarazo	173 (69.8%)	25 (73.5%)	0.652
Gestación clínica	141 (82.9%)	21 (87.5%)	0.772
Nº Sacos final			0.611
• 0	35 (30.5%)	3 (12.5%)	
• 1	133 (77.8%)	21 (87.5%)	
• 2	3 (1.8%)		
Aborto	48 (28.4%)	9 (39.1%)	0.291
Recien Nacido en casa	92 (53.8%)	11 (45.8%)	0.464

Al realizar una curva ROC para valorar el grado de predicción de los niveles de P el día de la transferencia respecto a recién nacido vivo vemos que el AUC es muy bajo, de 0.5535.

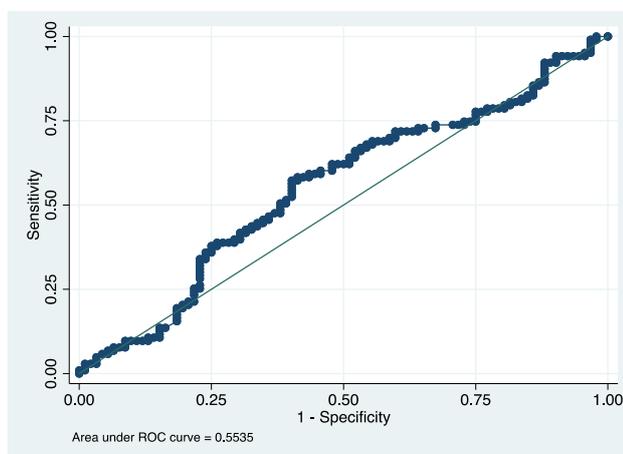


Figura 5. Curva ROC. Relación entre la medición de P previa transferencia embrionaria y la tasa de recién nacido vivo.

Para valorar la influencia de las variables analizadas sobre el resultado de recién nacido vivo en casa realizamos una regresión logística que detecta que el hecho de realizar PGT-A en el embrión transferido aumenta significativamente las probabilidades de embarazo y los embriones tipo AC tienen menos probabilidades de generar un recién nacido vivo.

Tabla 3. Representación de la influencia de las variables de la población estudiada sobre la tasa de recién nacido vivo.

Variable	OR (Odds Ratio)	IC 95%	p
Origen ovocitos (propios ref)			
• Donante	1.2	0.68-2.14	0.513
• ROPA	1		
Tipo de Ovocitos (frescos ref)		0.71-2.37	0.404
• Vitricados	1.3		
Tipo de Embriones (propios ref)		0.54-2.89	0.593
• Donante	1.3		
Transferidos (1 ref)			
• 2	1		
Día transfer: (5 ref)			
• 6	0.43	0.19-1.004	0.051
Cifra Progesterona Basal	0.99	0.96-1.01	0.265
Semen: (donante ref)			
• Semen pareja congelado	0.42	0.07-2.60	0.349
• Semen pareja fresco	0.94	0.44-1.99	0.864
Edad	1.03	0.96-1-10	0.417
Procedimiento Ovocitos (donante fresco ref)			
• Criotransfer Donante	1.21	0.51-2.90	0.664
• Criotransfer propios	0.94	0.42-2.07	0.869
• Criotransfer ROPA	1		
PGT (no PGT ref)	1.94	1.07-3.52	0.028*
Calidad de los ovocitos (AA ref)			
• AB	0.5	0.09-2.73	0.423
• AC	0.06	0.004-0.79	0.033*
• BA	1.67	0.11-24.26	0.708
• BB	0.39	0.08-2.07	0.272
• BC	0.24	0.04-1.39	0.111
• CB	0.11	0.01-1.07	0.057

5. DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha evaluado si la aplicación del protocolo de rescate de P subcutánea en pacientes con niveles bajos de P previos a transferencia embrionaria podría igualar las tasas de embarazo de las pacientes con mediciones de $P \geq 10$ ng/mL. Los resultados informan de una normalización de los niveles de P en sangre con la pauta de rescate sin encontrar diferencias significativas en cuanto a tasa de embarazo, aborto y recién nacido vivo en estas pacientes.

La vía de administración de la P y las dosis en los tratamientos de reproducción es todavía un punto de debate. La vía vaginal es la más utilizada frente a la intramuscular (IM) o subcutánea atendiendo a su comodidad y respaldada por numerosos estudios que la validan como un tratamiento seguro, con una buena absorción endometrial y efecto local^[15]. Las vías de administración sistémicas pueden finalmente reflejar unos mayores niveles sanguíneos de P frente a la vía local vaginal, aunque esta última tenga una mayor biodisponibilidad endometrial, lo que puede alterar los resultados al evaluar las tasas de embarazo.

Existen numerosos estudios que informan de una disminución en tasas de éxito de los tratamientos cuando la fase lútea es deficitaria en P, pero, hasta el momento, no se ha establecido una pauta de rescate que normalice las tasas en estas pacientes. La vía de administración de la P de rescate, el momento de inicio, las dosis, el tiempo de duración de la pauta no han sido bien evaluadas y validadas. En general, se prefiere acudir a una vía de administración diferente de la inicial a la hora de hacer el rescate y la vía preferida es la subcutánea considerando que se puede aumentar más rápidamente los niveles circulantes de P^[11,16].

Una de las debilidades más importantes de nuestro estudio es que carece de grupo control con niveles bajos de P sin rescate. Debido a que estudios previos ya han demostrado que en estas pacientes las tasas de embarazo son menores, se ha considerado que la comparación con el grupo que no requiere suplementación permite avanzar en el conocimiento de las estrategias a realizar, para tratar a estas pacientes con resultados adversos en técnicas de reproducción.

Otra de las debilidades del estudio es que faltan datos referentes a la talla y al peso de las pacientes, parámetro que puede influir en los resultados de los niveles de P sérica. Sin embargo, se encuentran tan solo un 13% de pacientes con niveles bajos de P previa transferencia embrionaria, menor que en otros estudios publicados en los que se describe de hasta el 30 %^[9]. Es probable que dentro de los motivos que justifican este bajo porcentaje de pacientes con déficit de P estén que, dentro de los criterios de exclusión del centro médico para realizar el tratamiento se encuentran las mujeres con un IMC superior a 32, siendo ya conocido el efecto que tiene la obesidad sobre la dificultad a la hora de alcanzar niveles de P adecuados^[20]. Además, en los datos recogidos se incluyen pacientes con preparación endometrial en ciclo natural que parecen tener menor probabilidad de déficit de P previo a la transferencia.

Por otro lado, existen dudas sobre si el momento de la extracción analítica respecto a la última dosis de P es importante. En este estudio no se ha registrado este dato. Se ha postulado que los niveles pueden variar en el tiempo dependiendo de la vía de administración, del momento en relación con su metabolismo (P exógena) y de la pulsatilidad de secreción del cuerpo lúteo (P endógena)^[17]. Pero otros estudios consideran que 24-48 horas después del inicio de la administración de P, tanto por vía vaginal como IM, se alcanzan niveles estables^[18,19].

Recientemente se ha dado a conocer el preprint de un metaanálisis^[23], aceptado en febrero de 2023 y que se encuentra pendiente de publicación, que recoge siete estudios observacionales con un total de 5927 pacientes y compara aquellas con niveles bajos de P que recibieron una dosis de rescate y aquellas con una dosis adecuada de P. Existe heterogeneidad en los estudios analizados en el metaanálisis. Por un lado, en cuanto al soporte de fase lútea aplicado inicialmente. La vía de administración varía entre vaginal, vaginal e IM o vaginal y oral. También existen diferencias en las dosis de administración de la vía vaginal, dos de los estudios presentan una dosis inicial de 800 mgrs, otros dos de 600 mgrs y las dosis en los estudios que combinan con otras vías son menores, de 200 mgrs junto con 250 mgrs IM y 400 mgrs junto con 40 mgrs orales. La vía de administración y dosificación del rescate es subcutánea en 4 de los estudios mientras otro añade soporte oral 30 mgrs, otro IM 40 mgrs y el último aumenta la dosis vaginal 600 mgrs más. Los niveles de corte para aplicar la suplementación varían de 8.75 a 11 ng/dL. No se han encontrado diferencias significativas en tasas de embarazo

evolutivo, tasas de embarazo clínico y recién nacido vivo. Aunque hay que señalar que dos de los siete estudios no evaluaban las tasas de recién nacido vivo.

Dentro de este metaanálisis se encuentra el estudio de Labarta et al. (2022), en el que se aplica un protocolo similar al presente estudio en cuanto a las características descritas previamente, donde comparó pacientes con $P < 9.2$ ng/mL con suplementación con P subcutánea con un grupo control sin suplementación. La tasa de embarazo evolutivo fue significativamente mayor en el grupo que recibió suplementación con P subcutánea en comparación con los que no (44.9% vs 38%)^[11].

Estos datos recientes resultan consistentes con los resultados del presente estudio y refuerzan la idea de que la suplementación con P puede ser una buena estrategia para mejorar los resultados de las técnicas de reproducción.

A pesar de las limitaciones descritas, nuestro estudio recoge un protocolo aplicable en la práctica clínica de los centros de reproducción con resultados esperanzadores. Puede ofrecerse a las mujeres con un pronóstico inicial aparentemente peor, un seguimiento personalizado y la posibilidad de mejorar las tasas de embarazo.

La reciente tendencia de realizar la determinación de los niveles de P sérica previos a transferencia embrionaria, pone de manifiesto el impacto existente en las tasas de embarazo y de recién nacido vivo en función del valor cuantificado, demostrándose la relevancia del soporte de la fase lútea. Esto crea nuevas oportunidades a la hora de establecer protocolos que personalicen el soporte hormonal durante esta fase.

6. CONCLUSIONES

Los pacientes con bajos niveles de P en sangre (<10 ng/mL), que recibieron dosis de rescate, tienen la misma tasa de recién nacido vivo que los que mostraron niveles de P sérica adecuados (>10 ng/mL), previos a la transferencia embrionaria.

Son necesarios ensayos controlados aleatorizados que comparen niveles de P baja, con y sin tratamiento de rescate contra un grupo control, de cara a evaluar definitivamente el impacto de realizar un tratamiento de suplementación con esta hormona y mejorar los resultados reproductivos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Evers, J. L. H. (2002): Female subfertility, *Lancet*, 360: 151-159.
2. Chem YM, Ott Dj, Pittaway DE. Et al. Efficacy of hysterosalpingography in evaluating tubal and peritubal disease in 200 patients with infertility. *Rays* 1988; 13:27-32.
3. Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Baker HW, Behre HM, Haugen TB, et al. World health Organization reference values for human semen characteristics. *Human reproduction update* 2010; 16(3):231-245.
4. Fauser BC, Diedrich K, Devroey P; Evian Annual Reproduction Workshop Group 2007. Predictors of ovarian response: progres towards individualiced treatment in ovulation induction and ovarian stimulation. *Hum Reprod Update* 2008 Jan-Feb; 14(1):1-14.
5. Griffin D, Benadiva C, Kummer N, Budinetz T, Nulsen J, Engmann L. Dual trigger of oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist and low dose human chorionic gonadotropin to optimize live birth rates in high responders. *Fertil Steril* 2012 Jun;97(6):1316-20.
6. Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;7: CD002118.
7. Mansour R, Aboulghar M, Serour G, Dummy embryo transfer: a technique that minimizes the problems of embryo transfer and improves the pregnancy rate in human invitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;54:678-81.
8. Mains L, Van Voorhis BJ. Optimizing the technique of embryo transfer. *Fertil Steril* 2010;94:785.
9. Yovich JL et al. Mid-luteal serum progesterone concentrations govern implantation rates for cryopreserved embryo transfers conducted under hormone replacement. *Reprod Biome Online*. 2015; 31 (2): 180-91.
10. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. *Lancet*. 1996 Nov 23;348(9039):1402-6. doi: 10.1016/S0140-6736(96)05291-9. PMID: 8937279.
11. Labarta E, Mariani G, Rodríguez-Varela C, Bosch E. Individualized luteal phase support normalizes live birth rate in women with low progesterone levels on the

- day of embryo transfer in artificial endometrial preparation cycles. *Fertil Steril*. 2022;117(1):96-103
12. Labarta E, Mariani G, Holtmann N, Celada P, Remohí J, Bosch E. Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study. *Hum Reprod*. 2017 Dec 1;32(12):2437-2442. doi: 10.1093/humrep/dex316. Erratum in: *Hum Reprod*. 2018 Jan 1;33(1):178. PMID: 29040638.
 13. Labarta E, Mariani G, Paoelli S, Rodriguez-Varela C, Vidal C, Giles J, Bellver J, Cruz F, Marzal A, Celada P, Olmo I, Alamá P, Remohi J, Bosch E. Impact of low serum progesterone levels on the day of embryo transfer on pregnancy outcome: a prospective cohort study in artificial cycles with vaginal progesterone. *Hum Reprod*. 2021 Feb 18;36(3):683-692. doi: 10.1093/humrep/deaa322. PMID: 33340402.
 14. Gaggiotti-Marre S, Martinez F, Coll L, Garcia S, Álvarez M, Parriego M, Barri PN, Polyzos N, Coroleu B. Low serum progesterone the day prior to frozen embryo transfer of euploid embryos is associated with significant reduction in live birth rates. *Gynecol Endocrinol*. 2019 May;35(5):439-442. doi: 10.1080/09513590.2018.1534952. Epub 2018 Dec 26. PMID: 30585507.
 15. Miles RA, Paulson RJ, Lobo RA, Press MF, Dahmouh L, Sauer MV. Pharmacokinetics and 570 endometrial tissue levels of progesterone after administration by intramuscular and vaginal routes: a 571 comparative study. *Fertil Steril*. 1994;62(3):485-90
 16. Álvarez M, Gaggiotti-Marre S, Martínez F, Coll L, García S, González-Foruria I, et al. Individualised luteal phase support in artificially prepared frozen embryo transfer cycles based on serum progesterone levels: a prospective cohort study. *Hum Reprod*. 2021;36(6):1552-60.
 17. Ranisavljevic N, Huberlant S, Montagut M, Alonzo P-M, Darne´ B, Languille S, Anahory T and Ce´ drin-Durnerin I (2022) Low Luteal Serum Progesterone Levels Are Associated With Lower Ongoing Pregnancy and Live Birth Rates in ART: Systematic Review and Meta-Analyses. *Front. Endocrinol*. 13:892753
 18. von Eye Corleta H, Capp E, Ferreira MB. Pharmacokinetics of natural progesterone vaginal suppository. *Gynecol Obstet Invest*. 2004;58(2):105-8.

19. Stanczyk FZ. Pharmacokinetics of progesterone administered by the oral and parenteral routes. *J. Reprod Med.* 1999;44(2 Suppl):141-7.
20. Whynott RM, Summers KM, Jakubiak M, Van Voorhis BJ, Mejia RB. The effect of weight and body mass index on serum progesterone values and live birth rate in cryopreserved in vitro fertilization cycles. *F S Rep.* 2021 Feb 18;2(2):195-200. doi: 10.1016/j.xfre.2021.02.005. PMID: 34278354; PMCID: PMC8267385.
21. Triopon G, Tailland ML, Faillie JL, Bolzinger E, Mercier G, Ripart S, Boyer JC, Fabbro-Peray P, Poirey S, Archambault A, Marès P. Fécondation in vitro et tabac: intérêt de la cotininurie et de l'analyseur de monoxyde de carbone expiré [In vitro fertilization and smoking: use of urinary cotinine and expired air carbon monoxide measurements]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2006 Nov;34(11):1043-50. French. doi: 10.1016/j.gyobfe.2006.09.011. Epub 2006 Oct 27. PMID: 17070086.
22. Ribeiro S, Sousa M. In Vitro Fertilisation and Intracytoplasmic Sperm Injection predictive factors: A review of the effect of female age, ovarian reserve, male age, and male factor on IVF/ICSI treatment outcomes. *JBRA Assist Reprod.* 2023 Mar 30;27(1):97-111. doi: 10.5935/1518-0557.20220000. PMID: 35916467; PMCID: PMC10065784.
23. Stavridis K, Kastora SL, Triantafyllidou O, Mavrelou D, Vlahos N, Effectiveness of progesterone rescue in women presenting low circulating progesterone levels around the day of embryo transfer: a systematic review and meta-analysis., *Fertility and Sterility* (2023), doi: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.02.007>.
24. Remohí Gimenez J. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Aspectos clínicos. Ed 5. Madrid: Panamericana; 2018
25. López García G, Comino Delgado R. Obstetricia y ginecología. Ed 1. Barcelona: Ariel ciencia; 2004