



Preparación endometrial en técnicas de reproducción asistida

Grupo de Interés de Endocrinología Reproductiva (GIER)



**PREPARACIÓN
ENDOMETRIAL EN TÉCNICAS
DE REPRODUCCIÓN
ASISTIDA**



PREPARACIÓN ENDOMETRIAL EN TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Directores:

Joana Peñarrubia Alonso
Juan Antonio García-Velasco
Joaquín Llácer Aparicio



Editorial Glosa, S.L.

Avinguda de la Meridiana 358, 10.^a planta - 08027 Barcelona

Teléfono: 932 684 946 - Telefax: 932 684 923

www.editorialglosa.es

ISBN: 978-84-7429-725-6

DL B.

© Editorial Glosa, S.L.

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida ni transmitida en ninguna forma o medio, incluyendo las fotocopias o cualquier sistema de recuperación de almacenamiento de información, sin la autorización por escrito del titular de los derechos.

AUTORES

Manuel Álvarez Almodóvar

Servicio de Medicina de la Reproducción. Departamento de Obstetricia, Ginecología y Reproducción. Hospital Universitario Dexeus. Barcelona.

Claudio Álvarez Pinochet

Director médico. URE Centro Gutenberg. Málaga.

Mónica Álvarez Sánchez

Jefe de la Unidad de Reproducción Humana.
Hospital Universitario Materno Infantil de las Palmas de Gran Canaria.

Juan Antonio García-Velasco

Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva.
Director Médico. IVI Madrid.
Catedrático de Ginecología y Obstetricia. Universidad Rey Juan Carlos. Madrid.

Elisa Gil Arribas

Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva. IVI Zaragoza.

Jose Landeras Gutiérrez

Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva.
Director médico. IVI Murcia.

Joaquín Llácer Aparicio

Codirector médico. Instituto Bernabeu. Alicante.

Sonia Lobo Martínez

Ginecóloga especialista en Medicina Reproductiva.
Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Elkin Muñoz

Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva.

Director médico. IVI Vigo - IVI Coruña.

Joana Peñarrubia Alonso

Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva. IVI Barcelona.

Adriana Riobó

Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva. IVI A Coruña.

Ana Robles Corchado

Médico especialista en Reproducción Humana. Hospital del Mar. Barcelona.

Eric Saucedo de la Llata

Director médico. Clínica IMAR. Murcia.



ÍNDICE

Prólogo	9
Joana Peñarrubia Alonso	
Capítulo 1	
Fisiología de la preparación endometrial	13
Claudio Álvarez Pinochet y Joaquín Llácer Aparicio	
Capítulo 2	
Estrógenos en la preparación endometrial	19
Jose Landeras Gutiérrez	
Capítulo 3	
Progesterona y endometrio	29
Adriana Riobó, Elkin Muñoz y Juan Antonio García-Velasco	
Capítulo 4	
Empleo de análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas en la preparación endometrial	37
Mónica Álvarez Sánchez y Sonia Lobo Martínez	
Capítulo 5	
¿Hasta cuándo mantener el tratamiento con estrógenos y progesterona?	49
Eric Saucedo de la Llata	
Capítulo 6	
Ciclo natural como método de preparación endometrial	57
Joana Peñarrubia Alonso y Manuel Álvarez Almodóvar	
Capítulo 7	
Preparación endometrial en casos especiales	73
Elisa Gil Arribas y Ana Robles Corchado	

PRÓLOGO

Joana Peñarrubia Alonso

En la última década, la proporción de transferencias embrionarias derivadas de los ciclos de congelación y descongelación de embriones ha aumentado sustancialmente. De acuerdo con el último informe anual de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos, uno de cada dos embriones transferidos en ese país habían sido criopreservados con anterioridad¹. También la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESRHE)² y por la Sociedad Española de Fertilidad (SEF)³ informan de una tendencia similar. Así, de acuerdo con el último registro llevado a cabo por esta última, el 48,8% de los embriones transferidos a lo largo del 2017 correspondía a embriones congelados, frente al 25,3% en el año 2010. Este incremento en el número de ciclos de transferencia de embriones congelados se puede atribuir principalmente a cuatro factores.

- En primer lugar, la introducción de los protocolos de hiperestimulación ovárica al inicio de la década de 1980 dio lugar a un aumento en el número de embriones disponibles después de cada ciclo de tratamiento. Durante este mismo período, el rápido desarrollo y la mejora en las técnicas de laboratorio aumentaron tanto la proporción de ovocitos que daban lugar a embriones viables como la tasa de recién nacidos vivos por embrión transferido. Esto redujo el número de transferencias necesarias para conseguir un embarazo y, en consecuencia, llevó a un aumento en el número de embriones excedentes para su utilización posterior.
- Un segundo factor clave ha sido la introducción generalizada de la transferencia electiva de un solo embrión. De nuevo, el desarrollo de las técnicas aplicadas en el laboratorio de reproducción asistida ha permitido la aplicación del cultivo prolongado hasta el estadio de blastocisto. De este modo, se ha conseguido alcanzar el estadio de embrión viable y posibilitar la selección del mejor embrión a transferir, incrementando la tasa de recién nacidos vivos y evitando las gestaciones múltiples⁴. Dado el éxito cosechado, la estrategia de transferencia de blastocisto único también ha sido ampliamente implementada en las transferencias embrionarias en estadio de células, aumentando así el número de embriones sobrantes para congelar.
- El tercer factor que ha contribuido al incremento en el número de ciclos de crio-transferencias ha sido la introducción de la vitrificación como método de elección

para la congelación embrionaria, lo cual ha permitido incrementar la supervivencia embrionaria posdescongelación desde el 35-70 % con la congelación lenta hasta más del 90 % con la vitrificación⁵. En consecuencia, la adopción de esta última ha llevado a un incremento en el número de transferencias embrionarias debido a la mejora en las tasas de supervivencia.

- El último, y probablemente más importante, elemento que permite explicar el incremento en la práctica de la transferencia de embriones congelados ha sido el uso extensivo de la estrategia llamada *freeze-all*, basada en la segmentación del ciclo y la transferencia del embrión en un ciclo posterior al de la estimulación ovárica. Esta técnica de transferencia diferida puede permitir mejorar los resultados en pacientes con riesgo de hiperestimulación ovárica y en aquellas que experimentan una elevación de los niveles de progesterona el día de la administración de gonadotropina coriónica^{6,7}. Por otra parte, la aplicación de las técnicas de diagnóstico genético preimplantacional, que en muchas ocasiones implican la congelación de los embriones biopsiados en espera del resultado, ha llevado también a un incremento en el número de ciclos segmentados con transferencia embrionaria diferida⁸.

A pesar de este incremento exponencial en el número de ciclos de criotransferencia, el mejor método para llevar a cabo la preparación endometrial antes de la descongelación y transferencia embrionarias sigue siendo motivo de estudio y debate. El objetivo principal de esta monografía es revisar los diferentes métodos de preparación existentes en la actualidad, empezando por la fisiología de la receptividad endometrial y repasando desde un punto de vista crítico todos los elementos implicados (fármacos, dosis, duración, posibilidad de aplicar el ciclo natural, etc.); todo ello, con la finalidad de poder elegir el método que nos permita alcanzar la mejor sincronización entre el embrión y el endometrio y, en consecuencia, la mayor probabilidad de conseguir finalmente un recién nacido vivo, asegurando además un buen estado de salud tanto de la madre como del feto durante la gestación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Centers for Disease Control and Prevention. 2016 Assisted Reproductive Technologies National Summary Report. Último acceso: 3-3-2020. Disponible en: <https://www.cdc.gov/art/pdf/2016-report/ART-2016-National-Summary-Report.pdf>
2. De Geyter CH, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: the European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Hum Reprod. 2018;33:1586-601.
3. Registro Nacional de Actividad 2017-Sociedad Española de Fertilidad. Último acceso: 3-3-2020. Disponible en: https://registrosef.com/public/docs/sef2017_IAFIVm.pdf
4. Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Álvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev. 2016:CD002118.
5. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing

versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 2017;23:139-55.

6. Devroey P, Polyzos NP, Blockeel C. An OHSS-free clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod*. 2011; 26:2593-7.
7. Roque M, Valle M, Kostolias A, Sampaio M, Geber S. Freeze-all cycle in reproductive medicine: current perspectives. *JBRA Assist Reprod*. 2017;21:49-53.
8. Blockeel C, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Tournaye H. A fresh look at the freeze-all protocol: a SWOT analysis. *Hum Reprod*. 2016;31:491-7.



FISIOLOGÍA DE LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

Claudio Álvarez Pinochet y Joaquín Llácer Aparicio

El tejido endometrial humano es complejo y único en nuestra especie, con cambios dinámicos y características diferentes a lo largo del ciclo menstrual, todos ellos encaminados a la anidación exitosa del embrión y el establecimiento del embarazo.

Este dinamismo cíclico, llamado *ciclo menstrual*, presenta tres fases distintas, denominadas *proliferativa*, *secretora* y *menstrual*. La progresión a las distintas fases se debe a la exposición secuencial a estrógenos y progestágenos; esta progresión acarrea una serie de cambios que incluyen la expresión de factores biológicamente activos como citocinas, factores de crecimiento, factores de transcripción, y moléculas específicas de la superficie celular y de la reestructuración tisular endometrial¹. Para ello se debe lograr una correcta coordinación entre sistema nervioso central (hipotálamo y glándula hipofisaria), ovarios y útero.

El endometrio humano está constituido por un compartimento epitelial, uno estromal y otro vascular, así como por distintos tipos celulares, que incluyen el epitelio glandular y de superficie, estroma, endotelio vascular, músculo liso y células inmunitarias residentes. Morfológicamente se divide en una capa funcional y otra basal. La primera se transforma y regenera cada ciclo, mientras que la basal permanece y constituye la base para regenerar un endometrio receptivo. Para ello, se suceden de forma cíclica tres etapas:

1. Primero, una *fase proliferativa*, con la multiplicación de las células del estroma y de las glándulas endometriales, y el alargamiento de las arterias espirales como respuesta al aumento gradual de los estrógenos
2. Tras la ovulación y la consiguiente secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo, los componentes celulares del endometrio sufren una diferenciación, que incluye la secreción glandular y la decidualización del estroma: la *fase secretora*.

3. En ausencia de gestación, se produce la degeneración del cuerpo lúteo, con una caída en los niveles de estradiol y progesterona que conduce a la degeneración tisular característica de la *fase menstrual*; este proceso está mediado por enzimas autolíticas y sustancias vasoactivas que dan lugar a un desprendimiento controlado del endometrio, una especie de autodestrucción del estroma endometrial^{2,3}.

El epitelio endometrial está formado por una monocapa de células cuboidales polarizadas que cubren el interior de la cavidad uterina, y se compone de un componente luminal y otro glandular. Esta monocapa actúa como barrera ante agentes externos, pero también regula la implantación del embrión humano. La parte glandular del epitelio, constituido por glándulas endometriales, prolifera y crece durante la fase secretora, y tiene como función la producción y secreción de sustancias necesarias para la implantación y nutrición del embrión.

El compartimiento estromal está formado por tejido conectivo, y lo componen células y matriz extracelular. El principal tipo celular del estroma es el fibroblasto responsable de la remodelación de la matriz extracelular a lo largo del ciclo menstrual que conduce al proceso de decidualización.

La parte vascular está formada por una red de vasos que parten del miometrio y que al llegar a la unión miometrio-endometrio se diferencian en arterias basales formando una red anastomótica de donde nacen las arterias espirales terminales encargadas de mantener la capa basal. Las arterias espirales se ramifican en la capa funcional del endometrio. Si bien en el individuo adulto la angiogénesis tiene lugar principalmente en los procesos de cicatrización, en el endometrio durante el ciclo menstrual de la mujer el proceso angiogénico se estimula y desarrolla en todas las fases: durante el desarrollo folicular, en la formación del cuerpo lúteo, en el desarrollo endometrial, en la implantación y, también, en la placentación durante la gestación. Todo este proceso está regulado por un equilibrio entre factores angiogénicos y antiangiogénicos. La angiogénesis en el endometrio es vital durante todo el ciclo menstrual, y en este proceso participan muchos factores, como el óxido nítrico, metaloproteinasas de la matriz y factores de crecimiento como el del endotelio vascular, o VEGF (*vascular endothelial growth factor*).

Las células del sistema inmunitario presentes en el endometrio humano son importantes para la función endometrial, especialmente por la coordinación de la respuesta inmunitaria local frente a agentes patógenos externos y para evitar el rechazo durante la implantación embrionaria. Entre el 10 % y el 15 % de las células del estroma son leucocitos, que varían cíclicamente y alcanzan sus máximos niveles en la fase secretora y premenstrual. Dicha población está formada principalmente por células citolíticas (*natural killers*), macrófagos y linfocitos T citotóxicos¹.

La capa basal es la responsable de la regeneración cíclica de la capa funcional. Este proceso es posible gracias a un mecanismo de proliferación celular y diferenciación de células madre endometriales pluripotentes presentes en las capas basal y funcional

del endometrio². En el caso de una fecundación y un desarrollo embrionario exitosos, este dinamismo cíclico del endometrio debe ser concurrente con el desarrollo evolutivo del embrión, para permitir una implantación e invasión trofoblástica sin pasar a una invasión agresiva, desmedida y profunda por parte del trofoblasto³. Además de los factores endocrinos esteroideos, actúan una serie de factores paracrinos y autocrinos (factores de crecimiento y citocinas) que median los efectos de las hormonas esteroideas (estrógenos y progesterona).

La entrada a la cavidad uterina del blastocisto preimplantatorio con su trofoectodermo diferenciado en un día 5 de desarrollo coincide con el ecuador de la fase secretora. La implantación es un proceso mediante el cual el embrión se adhiere a la superficie del endometrio, migra y lo invade. Para esto debe haber un *endometrio receptivo*, un *embrión funcional* en la etapa de blastocisto y una *sincronía* en el desarrollo embrionario y endometrial. El momento en que se produce esta implantación debe coincidir con el período de máxima receptividad uterina conocido como *ventana de implantación*, que comprende un lapso de tiempo que va desde el día LH+7 al día LH+11. Dicho período coincide con la mitad de la fase lútea o secretora en ciclos de 28 días (día 20-24 del ciclo). Antes de LH+7, el endometrio es no receptivo, y después de LH+11 es resistente a una implantación embrionaria. Durante este breve período, el endometrio expresa una serie de genes conservados evolutivamente que regulan episodios clave en la implantación como son el posicionamiento del embrión cerca del fondo uterino, la absorción de fluido endometrial, el «cierre» luminal y la aposición del blastocisto en la superficie del epitelio endometrial, la adherencia a la superficie de las células luminales epiteliales, la penetración a través del epitelio y su lámina basal y, finalmente, la invasión del estroma. En respuesta a la implantación, el estroma uterino circundante sufre una transformación tisular llamada *decidualización* que facilita el crecimiento embrionario y la invasión trofoblástica, desplazando el epitelio endometrial, destruyendo la membrana basal y, por tanto, invadiendo el estroma y los vasos sanguíneos. Esta decidualización es un proceso intuitivo que limita la excesiva invasión del trofoblasto, previniendo así complicaciones como la placenta *accreta*^{4,5}. Las células del estroma experimentan una transformación morfológica, pasando de ser pequeñas y compactas a grandes y poligonales, con un aparato de Golgi desarrollado, que producen moléculas responsables de dicha decidualización.

La no obtención del estado receptivo del endometrio es una causa probable de infertilidad, tanto con gestación natural como con técnicas de reproducción asistida. Una correcta ventana de implantación necesita un tejido endometrial normal y funcional. Se han realizado múltiples esfuerzos para encontrar biomarcadores de receptividad endometrial, desde el estudio histológico hasta la inmunohistoquímica, pasando por la proteómica en biopsias endometriales y el análisis de citocinas, proteómica y lipídica de secreciones endometriales obtenidas por lavado uterino^{4,6}.

De estos, a falta de otros medios, el examen histológico de una biopsia endometrial, utilizando los criterios de Noyes para datar la maduración tisular y, secundariamente, la «receptividad endometrial», constituía hasta hace poco la única forma de evaluar esta. Los criterios de Noyes permiten una datación histológica del endometrio y durante mucho tiempo se han utilizado para el diagnóstico de la infertilidad. Un retraso en la maduración endometrial llevaba al diagnóstico de «fase lútea inadecuada» y a considerarse como causa de esterilidad. Trabajos posteriores evidenciaron una pobre correlación entre los hallazgos histológicos entre diferentes observadores así como una distribución similar de endometrios fuera de fase en la población fértil e infértil^{7,8}.

Como ya se ha dicho, la decidualización del estroma en la mitad de la fase lútea es un fenómeno necesario para la funcionalidad endometrial que asegure la correcta implantación embrionaria. A la decidua se le atribuyen más funciones, que son claves a la hora de dirigir la respuesta materna al embrión implantado; tendría una función selectiva y receptiva, cuya normalidad se traduce en una correcta evolución del proceso implantatorio, mientras que el desequilibrio entre estas dos funciones acarrearía consecuencias clínicas⁸. Una receptividad excesiva y una pobre selectividad pueden traer consigo una implantación inapropiada de embriones poco viables que acaben en pérdidas reproductivas tempranas. Por otro lado, una baja receptividad y una alta selectividad se traduciría clínicamente en un fallo de implantación^{8,9}. En modelos de cultivo *in vitro* se describió que trofoblastos no selectivos se adhirieron a células estromales independientemente del día del ciclo; sin embargo, las células trofoblásticas se adhirieron a células del epitelio endometrial superficial solo si estaban en el día 19 del ciclo menstrual, lo que sugiere que el epitelio superficial es un componente crítico en la selectividad endometrial⁹.

Así pues, podemos concluir que la reproducción humana depende de un endometrio receptivo. En los últimos tiempos se han comercializado diversos test para valorar la funcionalidad de esta capa mucosa. El método más aceptado es la utilización de nuevas tecnologías para establecer una datación no histológica sino transcriptómica. Dicho método evalúa, mediante el estudio de una muestra obtenida por biopsia endometrial, la expresión de un grupo de genes con patrones de sobreexpresión y represión distintos en función del momento del ciclo¹⁰. Los patrones clasifican el endometrio secretor en prerreceptivo, receptivo y posreceptivo, lo que permite, por ejemplo, realizar una transferencia personalizada de embriones congelados y programar la descongelación y posterior transferencia en función de los días de exposición a progesterona que precisa cada paciente. Esta prueba sugiere, por un lado, que la ventana de implantación es corta y relativamente variable entre una persona y otra, factor que sería de importancia especialmente en pacientes con fallo de implantación idiopático, y, por otro, que el tiempo de exposición a la progesterona es uno de los factores más importantes¹¹. La importancia clínica real de esta prueba está aún por definirse y demostrarse¹¹.

La receptividad endometrial se puede ver afectada por factores mecánicos, inflamatorios y sistémicos.

- Los factores mecánicos pueden ser congénitos, como algunas malformaciones uterinas müllerianas, o adquiridos, como miomas submucosos, pólipos endometriales, adherencias intrauterinas, etc.
- Entre los problemas inflamatorios están la endometriosis, la adenomiosis con presencia de hidrosálpinx y la endometritis.
- Entre las causas sistémicas cabe mencionar la disfunción tiroidea, el déficit de vitamina D, las enfermedades autoinmunitarias, las enfermedades inflamatorias intestinales, la obesidad o el consumo de tabaco.

El manejo de estas situaciones puede mejorar el pronóstico implantatorio de un embrión y la evolución posterior de la gestación¹².

A tenor de todo lo expuesto hasta aquí resulta que el conocimiento de la anatomía y la fisiología endometriales es de vital importancia en el manejo de la paciente a la que se va a preparar para recibir embriones criopreservados o frescos procedentes de donante. La necesaria exposición secuencial y controlada a estrógenos y progestágenos puede provenir o de la secreción ovárica (en los ciclos naturales y estimulados) o de la administración farmacológica (en los ciclos artificiales o sustituidos).

La necesidad de una adecuada sincronización de endometrio y embrión hace fundamental en los ciclos naturales monitorizar el momento en el que se produce la ovulación. Esto puede realizarse mediante controles ecográficos u hormonales o bien provocarse con la administración exógena de gonadotropina coriónica para marcar con exactitud el momento en el que se va a producir la ovulación y, por tanto, para predecir cuándo se inicia la exposición endometrial a progesterona procedente del cuerpo lúteo.

En los ciclos artificiales o sustituidos, el inicio de la administración farmacológica de progesterona marcará dicho momento, y será de especial importancia asegurarse de que la paciente no ha ovulado con anterioridad, evitando dicha ovulación con la administración de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas o realizando determinación sérica de progesterona antes del inicio de su administración.

Sin duda alguna, durante los próximos años, el mejor control del proceso de implantación va a mejorar las herramientas diagnósticas y de tratamiento de los problemas de reproducción. Los avances en cuanto a mejora de la calidad embrionaria y en el conocimiento de la receptividad endometrial serán determinantes en el éxito de los tratamientos de reproducción asistida⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Timeva T, Shterev A, Kyurkchiev S. Recurrent implantation failure: the role of the endometrium. *J Reprod Infertil*. 2014;15(4):173-83.
2. Cervelló I, Simón C. Somatic stem cells in the endometrium. *Reprod Sci*. 2009;16(2):200-5.
3. Kliman HJ, Frankfurter D. Clinical approach to recurrent implantation failure: evidence-based of the endometrium. *Fertil Steril*. 2019;111(4):618-28.
4. Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev*. 2014;35(6):851-905.
5. Zhang S, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H, Wang H, et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med*. 2013;34(5):939-80.
6. Vilella F, Ramírez LB, Simón C. Lipidomics as an emerging tool to predict endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2013;99:1100-6.
7. Coutifaris C, Guzick DS, Legro RS, Carr BR, Vogel DL. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. 2004;82(5):9.
8. Macklon NS. Recurrent implantation failure is a pathology with a specific transcriptomic signature. *Fertile Steril* 2017;108(1):9-14.
9. Macklon NS, Brosens JJ. The human endometrium as a sensor of embryo quality. *Biol Reprod*. 2014;91(4):98:1-8.
10. Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero J, Esteban FJ, Álamo P, Pellicer A, et al. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril*. 2015;95:50-60.
11. Smith MB, Paulson RJ. Endometrial preparation for third-party parenting and cryopreserved embryo transfer. *Fertil Steril*. 2019;111(4):641-9.
12. Fox C, Morin S, Jeong J, Scott R, Lessey B. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? *Fertil Steril*. 2016;105(4):873-84.

ESTRÓGENOS EN LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

Jose Landeras Gutiérrez

INTRODUCCIÓN

El proceso de implantación embrionaria en el útero humano sigue sin estar del todo esclarecido y continúa abierto a continua investigación. A partir de la base de que el principal factor pronóstico de las técnicas *in vitro* es disponer de buena calidad embrionaria tanto a nivel morfológico como de ploidía, el proceso de implantación va a depender principalmente de dos factores cruciales: 1) la receptividad endometrial; y 2) la adecuada sincronización entre el desarrollo embrionario y la aparición de dicha receptividad en lo que se ha dado en llamar *ventana de implantación* endometrial¹. En el ciclo natural, esta sincronización entre embrión y endometrio se produce de manera directa mediante la producción secuencial de estrógenos en la fase proliferativa y de estroprogestágenos en la fase lútea del propio ciclo ovárico de manera que, fisiológicamente, la ventana de implantación coincidirá con la llegada del embrión en estadio de blastocisto a través de su desarrollo intratubárico. De manera análoga, en ciclos de preparación artificial del endometrio, tanto en la donación de ovocitos como en la transferencia de embriones congelados, deberemos proporcionar unas condiciones hormonales similares a las del ciclo natural si queremos optimizar el diálogo entre el embrión y el endometrio, generando la ventana de implantación y su adecuada sincronización con la transferencia embrionaria con vistas a maximizar los resultados reproductivos.

Varios aspectos son objeto de controversia; entre ellos, la posible superioridad de alguno de los protocolos clínicos sobre el resto, la vía de administración de estrógenos más adecuada, la importancia del tiempo de exposición a los estrógenos antes de incluir la progesterona o la determinación de los niveles séricos de estradiol durante

dicha preparación. Vamos a estudiar todos estos puntos de discusión a través de la revisión de los datos publicados.

INDICACIONES DE LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL ARTIFICIAL

Fueron Lutjen *et al.* quienes en 1984 comunicaron la primera gestación conseguida con donación de ovocitos en una mujer con fallo ovárico prematuro (FOP)². Desde entonces, se han conseguido muchos miles de gestaciones a través de programas como el de la ovodonación; esta técnica permitió el desarrollo del ciclo artificial con la administración de estrógenos y gestágenos exógenos con el objetivo de preparar el endometrio, manejar adecuadamente la ventana de implantación y posibilitar así una correcta sincronización endometrio-embrión.

Podemos indicar este tratamiento a dos grupos diferentes de pacientes:

- El primer grupo incluye a las mujeres sin función ovárica, ya sea como consecuencia de una menopausia fisiológica o de un FOP tras castración quirúrgica inducido por tratamientos con quimioterapia/radioterapia, o en casos de disgenesia gonadal con alteración cromosómica o sin ella. En este grupo de pacientes, la preparación artificial es una condición *sine qua non*, ya que carecemos del ciclo natural y, por tanto, de la posibilidad de basarnos en la producción hormonal endógena.
- El segundo grupo incluye mujeres con función ovárica cuyos ovocitos se han demostrado incompetentes o de mala calidad en ciclos previos de fecundación *in vitro*, especialmente cuando existe una edad cronológica avanzada³. La dificultad para sincronizar el ciclo natural de la receptora con el ciclo estimulado de la donante fue el estímulo principal para aplicar también este tipo de preparación artificial en estos casos. Actualmente, el desarrollo de la vitrificación ovocitaria y, con ella, la creación del banco de ovocitos, permiten realizar el procedimiento apoyándose en el ciclo natural de la paciente receptora, si bien se sigue prefiriendo la preparación artificial por ofrecer una mayor flexibilidad, tanto para el paciente como para el médico, a la hora de planificar la transferencia embrionaria.

Posteriormente, ante los buenos resultados que dicho protocolo de preparación ofrecía en los ciclos de ovodonación y la gran flexibilidad que brindaba en la planificación del trabajo, su aplicación se extendió a los ciclos de transferencia de embriones criopreservados. Este programa representa un volumen cada vez mayor dentro de la práctica clínica diaria en reproducción asistida gracias a los procedimientos sistematizados de transferencia electiva de embrión único (eSET), al gran desarrollo de los programas de diagnóstico genético preimplantacional, especialmente para descartar aneuploidías (PGT-A) o enfermedades monogénicas (PGT-M), o a la transferencia diferida tras congelación de todos los embriones (*freeze-all*) para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica ante respuestas ováricas altas o por factores endometriales sobrevenidos (metrorragias, elevaciones de la progesterona, etc.).

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE LOS ESTRÓGENOS

Disponemos en el mercado de múltiples presentaciones de estrógenos para realizar la preparación artificial endometrial, a través también de múltiples vías de administración, con farmacocinética y biodisponibilidad diferentes en función de la que se utilice. Con estos fármacos se han diseñado numerosos protocolos que, tras someterse a evaluación en la práctica clínica, han demostrado su eficacia sobre la base de los resultados publicados en diferentes estudios.

De todas las vías de administración, las más empleadas son la oral y la transdérmica; también se emplea la transvaginal, aunque, por lo general, como complemento de alguna de las dos anteriores. Excepcionalmente se ha recurrido a otras formas de acceso, como la intranasal, los implantes subcutáneos o la vía intramuscular, o como terapia hormonal sustitutiva en la menopausia.

A través de la vía oral, los estrógenos se exponen al medio intestinal y, una vez allí, una parte proporcional del valerianato de estradiol administrado es metabolizado a estrona⁴. Los estrógenos se absorben y pasan al hígado mediante el sistema portal, donde tanto el valerianato como la estrona son de nuevo metabolizados a estriol. Por esta vía metabólica perderemos en torno al 30 % de la biodisponibilidad de los estrógenos por una rápida conjugación de estos que produce formas estrogénicas inactivas en los órganos diana⁵. El compuesto más utilizado por vía oral es el valerianato de estradiol.

La vía transdérmica (principalmente a través del empleo de parches) evita, a diferencia de la vía oral, tanto el medio intestinal como el metabolismo del primer paso hepático; y, al disminuir la conversión a estrona, se obtiene una proporción casi fisiológica de estradiol/estrona (1,25), más cercana a la del ciclo natural (1,00) que a la obtenida por vía oral (0,20). Otra ventaja de la vía transdérmica es que no afecta a los factores de la coagulación ni al sistema renina-angiotensina-aldosterona⁶. Los compuestos más empleados por esta vía son el valerianato de estradiol y el 17 β -estradiol.

Finalmente, la vía de administración vaginal a través de anillos o de comprimidos de valerianato de estradiol produce también niveles adecuados de absorción estrogénica, si bien en nuestro medio es empleado básicamente como adyuvante tanto de la vía oral como de la transdérmica cuando queremos conseguir un nivel sérico de estradiol o un grosor endometrial (GE) superiores a los obtenidos por esas vías. Por otra parte, se ha observado que la absorción del estrógeno por vía vaginal se inhibe con la administración de la progesterona cuando es incluida por este procedimiento (que es el de primera elección en nuestro medio) en la segunda parte del ciclo artificial⁷.

PROTOCOLOS DE PREPARACIÓN ENDOMETRIAL ARTIFICIAL

Disponemos de múltiples protocolos de preparación endometrial artificial, con diferentes preparados, diferentes vías de administración y diferentes dosificaciones de los

estrógenos, para conseguir la impregnación estrogénica necesaria para la adecuada transformación decidual del endometrio durante la segunda fase del ciclo, imprescindible para el adecuado proceso de implantación. A continuación buscaremos entre los datos publicados posibles evidencias en cuanto a la posible superioridad de alguno de ellos respecto del resto y respecto del ciclo natural.

Ciclo natural o ciclo artificial

La primera gran pregunta que se plantea es si el ciclo de preparación artificial logra remedar correctamente el ciclo natural y si ha demostrado ser al menos igual de eficaz en cuanto a resultados clínicos, ya que este último constituye la manera fisiológica de preparación hormonal del endometrio y de la sincronización embrión-endometrio para abrir la ventana de implantación. Aunque la mayoría de los trabajos publicados que comparan el ciclo natural y el ciclo artificial de preparación endometrial son retrospectivos y con pequeños tamaños muestrales⁸, existe también algún ensayo controlado y aleatorizado (ECA) de tipo prospectivo¹, pero ninguno de ellos encuentra diferencias significativas entre ambos protocolos en cuanto a resultados clínicos.

Dos metaanálisis^{9,10} tampoco consiguieron encontrar pruebas de la superioridad de ninguno de los dos protocolos. Tanto el ECA ANTARCTICA¹¹ como, más recientemente, una revisión de la Cochrane Database of Systematic Reviews (CDSR) llevada a cabo en 2017¹² concluyen que no encuentran evidencias de superioridad de ningún protocolo de preparación endometrial sobre el resto en ciclos de transferencia de embriones congelados. El único hallazgo significativo de esta última se obtuvo tras comparar estrogenoterapia con vs. sin agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH [*gonadotropin-releasing hormone*]); los datos favorecieron al primero en cuanto a tasas de recién nacidos vivos, gracias al posible aumento de niveles de hormona luteinizante (LH [*luteinizing hormone*]) durante la fase proliferativa que induciría la producción local en el endometrio de estrógeno y progesterona e interferiría con el normal desarrollo endometrial y con la implantación embrionaria. Sin embargo, en esta línea, Griesinger *et al.*, mediante un ECA que evaluaba niveles bajos, intermedios y altos de LH el día 14 de la preparación endometrial artificial, no hallaron diferencias significativas en los resultados clínicos de los tres grupos de estudio¹³.

Siguiendo con la comparación entre ciclo natural y artificial, algún otro trabajo sí encuentra mejores resultados clínicos en el ciclo natural¹⁴, mientras que otros advierten un aumento en las tasas de pérdida gestacional con el ciclo artificial, lo que apunta a la posibilidad de que niveles suprafisiológicos de estrógenos o una ratio deficiente entre estrógeno y progesterona pudieran comprometer la viabilidad de la gestación^{8,15}. Finalmente, dos metaanálisis, llevados a cabo por Yarali *et al.* en 2016¹⁶ y Poletto *et al.* en 2018¹⁷, tampoco encuentran diferencias significativas entre ambos tipos de preparación endometrial, y señalan la necesidad de un mayor número de ECA prospectivos para poder ser más contundentes en estas afirmaciones. A pesar

de la igualdad de resultados, hay casos en los que estará indicado el ciclo artificial por razones médicas, como en mujeres mayores de 40 años, debido a la irregularidad de los ciclos, o en casos de anovulación (síndrome del ovario poliquístico) o de menopausia y FOP, por razones obvias¹⁸.

En cuanto al bienestar de la paciente, algunos señalan el mayor número de cancelaciones en el ciclo natural ante endometrios insuficientes o presencia de ciclos irregulares, mientras que otros remarcan los efectos secundarios de los estrógenos en el ciclo artificial y registran una mayor incidencia de cefaleas o mareos un mayor riesgo de problemas de tromboembolismo.

Vía oral o vía transdérmica en el ciclo artificial con estrógenos

Las dos vías principales de preparación endometrial artificial en nuestro medio son la vía oral, con comprimidos de valerianato de estradiol, y la transdérmica, con parches de 17 β -estradiol. Como ya hemos mencionado, la revisión sistemática realizada por la CDSR en 2017 sobre diferentes protocolos de preparación endometrial no encontró pruebas de superioridad en ninguno de ellos.

En 2017-2018, tres ECA confrontaron específicamente la vía oral y la vía transdérmica. En el primero, que arrojaba mejores resultados clínicos en el grupo de la vía transdérmica, halló menores tasas de aborto y mayores tasas de gestación evolutiva y de recién nacidos vivos, todo ello con significación estadística¹⁹; los otros dos no percibieron disparidades significativas entre los grupos. La diferencia en el diseño del primer estudio reside en el hecho de que es el único que asocia el frenado de la hipófisis previo con agonistas de la GnRH. En el apartado Discusión se destaca la importancia que otorgan los autores a las diferencias metabólicas de las vías oral y transdérmica, ya que esta última se acompaña de un perfil más fisiológico en la proporción sérica estradiol/estrón, sin que podamos entender por qué esto no se hace patente cuando no se asocia el agonista de la GnRH²⁰.

OTRAS CONSIDERACIONES

Duración y dosis de la preparación estrogénica

La duración ideal del tratamiento con estrógenos antes del inicio de la progesterona durante la preparación endometrial es un punto también controvertido e importante de resolver, habida cuenta, por ejemplo, de las listas de espera en los programas de ovodonación. Los mejores resultados reproductivos se obtienen en el intervalo que va desde los 11 hasta los 40 días de administración de estrógenos previos a la inclusión de la progesterona. En este sentido, se ha observado que períodos más cortos de 11 días se relacionan con altas tasas de aborto, mientras que períodos superiores a 40 días implican un elevado riesgo de aparición de sangrado endometrial y, como

consecuencia, de cancelación del ciclo²¹. Además, hay evidencia de que los mejores resultados reproductivos se obtienen cuando el tiempo de imprimación de estrógeno no supera los 28 días²².

En cuanto a las dosis de estrógenos, en un estudio retrospectivo sobre más de 8000 ciclos que evaluaba dosis continuas respecto a dosis crecientes de estrógenos, tanto por vía oral como por vía transdérmica, no se advirtieron diferencias significativas en cuanto a tasas de recién nacidos vivos; en cambio, sí que las hubo en las de gestación bioquímica, que resultaron favorables a la pauta de dosis continua, tanto por vía oral como transdérmica²³. Se ha constatado la necesidad de niveles muy moderados de estradiol sérico para conseguir la receptividad endometrial, así como la temprana producción de estrógenos placentarios en cantidades de autosuficiencia. Todo ello parece indicar que probablemente sean necesarias dosis menores de estrógenos, y también durante menos tiempo, de lo que pensábamos para conseguir resultados clínicos adecuados²⁴. Por otra parte, en experimentación animal se ha observado una ventana de implantación más corta cuando el endometrio se ve expuesto a niveles altos de estradiol²⁵.

Grosor endometrial

Sigue sin estar claro qué GE puede considerarse óptimo, pero en general se acepta que un endometrio fino por ecografía transvaginal implica pobres resultados en reproducción asistida. En la mayoría de los estudios se busca superar un umbral de 7-8 mm, asumiéndose mal pronóstico por debajo de 7 mm. No obstante, la mayoría de los casos cursan con grosores adecuados; de hecho, en la práctica clínica diaria, más que al grosor, se da relevancia al patrón ecogénico endometrial, considerándose óptimo el patrón trilaminar (fig. 1).



Figura 1. Imagen ecográfica transvaginal de un patrón endometrial trilaminar.

Un metaanálisis realizado por Kasius *et al.* en 2014 anotó menores tasas de embarazo clínico cuando el GE no superaba los 7 mm, si bien es una eventualidad muy rara

que aparece tan solo en el 2,4 % de los ciclos de preparación endometrial artificial²⁶. Una opción terapéutica utilizada para estos casos de endometrio fino es aumentar las dosis de estrógenos o asociar más de una vía de administración para obtener un aumento del grosor. Los casos realmente resistentes requieren el avance de opciones terapéuticas que se hallan aún en fase experimental²⁷.

Niveles séricos de estradiol

En la mayoría de los estudios se establece en 200 pg/mL el umbral mínimo para considerar adecuada la dosis de estrógenos administrada. Sin embargo, parece que los niveles de estradiol sérico adolecen de valor pronóstico significativo y que su monitorización estrecha durante la preparación endometrial carece de valor predictivo en cuanto a tasas de implantación, gestación clínica o recién nacidos vivos en pacientes de buen pronóstico²⁸. Tampoco se han encontrado diferencias en la expresión de biomarcadores de receptividad endometrial en función de los niveles séricos de este estrógeno²⁹.

Ciclo estimulado

Un acercamiento diferente al ciclo artificial habitual lo puede constituir el ciclo estimulado con gonadotrofinas en dosis bajas, aunque apenas hay datos que estudien esta vía de preparación endometrial para ciclos de transferencia de embriones congelados. En un estudio reciente llevado a cabo por Hatoum *et al.* en 2018, se encuentra significación estadística a favor del ciclo estimulado frente al artificial, con mayores tasas de recién nacidos vivos y menores tasas de pérdida gestacional precoz. Sobre la base de estos resultados, los autores interpretan que una producción de hormonas esteroideas *más fisiológica* por parte del propio ovario estimulado es preferible respecto a la administración de hormonas exógenas³⁰.

CONCLUSIONES

Partiendo de la vital importancia que la calidad embrionaria reviste en los resultados de todos los programas de reproducción asistida, el proceso de implantación va a depender principalmente de dos factores cruciales: la receptividad endometrial y la adecuada sincronización entre el desarrollo embrionario y la ventana de implantación endometrial.

La preparación endometrial artificial ofrece muy buenos resultados, tanto en el programa de ovodonación como en el de embriones congelados, proporcionando una gran flexibilidad en la planificación del trabajo. Una vez revisados los resultados publicados de estudios que comparan diferentes protocolos de preparación endometrial artificial entre sí y respecto al ciclo natural, ninguno de ellos demuestra ser claramente superior a los otros, si bien serían necesarios más ECA para apoyar esta observación. Aunque faltan también más investigaciones en este sentido, se

acepta que, para obtener resultados óptimos y minimizar los índices de cancelación, el tiempo de duración de la preparación endometrial debería ser de como máximo 28 días y que el GE ha de estar por encima de los 7 mm.

Por último, no parece que el nivel sérico de estradiol o las dosis empleadas de estrógenos repercutan de forma significativa en los resultados clínicos. Queda abierta una nueva línea de investigación en cuanto a lo que el ciclo estimulado puede aportar al programa de transferencia de embriones criopreservados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Greco A, et al. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(7):873-84.
2. Lutjen P, Trounson A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renou P. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature.* 1984;1218;307:174-5.
3. Devroey P, Pados G. Preparation of endometrium for egg donation. *Hum Reprod Update.* 1998; 4(6):856-61. Review.
4. Ryan KJ, Engel LL. The interconversion of estrone and estradiol by human tissue slices. *Endocrinology.* 1953;52(3):287-91.
5. Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold KA, Randle D, Lu JK, Eggena P, et al. Biologic effects of transdermal estradiol. *N Engl J Med.* 1986;314(25):1615-20.
6. Powers MS, Schenkel L, Darley PE, Good WR, Balestra JC, Place VA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of transdermal dosage forms of 17 beta-estradiol: comparison with conventional oral estrogens used for hormone replacement. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;152(8): 1099-106.
7. Rosenwaks Z, Navot D, Veeck L, Liu HC, Steingold K, Kreiner D, et al. Oocyte donation. The Norfolk Program. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;541:728-41.
8. Gelbaya TA, Nardo LG, Hunter HR, Fitzgerald CT, Horne G, Pease EE, et al. Cryopreserved-thawed embryo transfer in natural or down-regulated hormonally controlled cycles: a retrospective study. *Fertil Steril.* 2006;85(3):603-9.
9. Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and metaanalysis. *Hum Reprod Update.* 2017;23(2):255-61.
10. Glujovsky D, Pesce R, Fiszbajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD006359.
11. Groenewoud ER, Macklon NS, Cohlen BJ; ANTARCTICA trial study group. Cryo-thawed embryo transfer: natural versus artificial cycle. A non-inferiority trial. (ANTARCTICA trial). *BMC Womens Health.* 2012;12:27.
12. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;7:CD003414. Review.
13. Griesinger G, Weig M, Schroer A, Diedrich K, Kolibianakis EM. Mid-cycle serum levels of endogenous LH are not associated with the likelihood of pregnancy in artificial frozen-thawed embryo transfer cycles without pituitary suppression. *Hum Reprod.* 2007;22(10):2589-93.

14. Levron J, Yerushalmi GM, Brengauz M, Gat I, Katorza E. Comparison between two protocols for thawed embryo transfer: natural cycle versus exogenous hormone replacement. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(7):494-7.
15. Alama P, Melo MAB, García G, Garrido N, Meseguer M, Remohí J. Higher ongoing pregnancy rates in blastocyst transfer of frozen-thawed embryos in natural cycles. *Fertil Steril.* 2007;8:s161.
16. Yarali H, Polat M, Mumusoglu S, Yarali I, Bozdogan G. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and metaanalysis. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(10):1287-304.
17. Poletto KQ, Lobo MP, Giovanucci M, Approbato MS, Castro EC. Pregnancy rates from natural and artificial cycles of women submitted to frozen embryo transfers: a metaanalysis. *JBRA Assist Reprod.* 2019;23(3):268-72.
18. Alur-Gupta S, Hopeman M, Berger DS, Gracia C, Barnhart KT, Coutifaris C. Impact of method of endometrial preparation for frozen blastocyst transfer on pregnancy outcome: a retrospective cohort study. *Fertil Steril.* 2018;110(4):680-6.
19. Shahrokh Tehraninejad E, Kabodmehri R, Hosein Rashidi B, Jafarabadi M, Keikha F, Masomi M, et al. Trans dermal estrogen (oestrogel) for endometrial preparation in freeze embryo transfer cycle: an RCT. *Int J Reprod Biomed.* 2018;16(1):51-6.
20. Kahraman S, Çetinkaya CP, Sahin Y, Oner G. Transdermal versus oral estrogen: clinical outcomes in patients undergoing frozen-thawed single blastocyst transfer cycles without GnRH α suppression, a prospective randomized clinical trial. *Assist Reprod Genet.* 2019;36(3):453-9.
21. Borini A, Dal Prato L, Bianchi L, Violini F, Cattoli M, Flamigni C. Effect of duration of estradiol replacement on the outcome of oocyte donation. *J Assist Reprod Genet.* 2001;18(4):185-90.
22. Bourdon M, Santulli P, Kefelian F, Vienet-Legue L, Maignien C, Pocate-Cheriet K, et al. Prolonged estrogen (E2) treatment prior to frozen-blastocyst transfer decreases the live birth rate. *Hum Reprod.* 2018;33(5):905-13.
23. Madero S, Rodríguez A, Vassena R, Vernaev V. Endometrial preparation: effect of estrogen dose and administration route on reproductive outcomes in oocyte donation cycles with fresh embryo transfer. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1755-64.
24. Melnick AP, Rosenwaks Z. Oocyte donation: insights gleaned and future challenges. *Fertil Steril.* 2018;110(6):988-93. Review.
25. Harper MJ. The implantation window. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1992;6(2):351-71. Review.
26. Kasius A, Smit JG, Torrance HL, Eijkemans MJ, Mol BW, Opmeer BC, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and metaanalysis. *Hum Reprod Update.* 2014;20(4):530-41.
27. Liu SM, Zhou YZ, Wang HB, Sun ZY, Zhen JR, Shen K, et al. Factors associated with effectiveness of treatment and reproductive outcomes in patients with thin endometrium undergoing estrogen treatment. *Chin Med J (Engl).* 2015;128(23):3173-7.
28. Celik C, Asoglu MR, Karakis LS, Findikli N, Gultomruk M, Cavkaytar S, et al. The impact of serum oestradiol concentration prior to progesterone administration on live birth rate in single vitrified-warmed blastocyst transfer cycles. *Reprod Biomed Online.* 2019;39(6):1026-33.
29. Groll JM, Usadi RS, Lessey BA, Lininger R, Young SL, Fritz MA. Effects of variations in serum estradiol concentrations on secretory endometrial development and function in experimentally induced cycles in normal women. *Fertil Steril.* 2009;92(6):2058-61.
30. Hatoum I, Bellon L, Swierkowski N, Ouazana M, Bouba S, Fathallah K, et al. Disparities in reproductive outcomes according to the endometrial preparation protocol in frozen embryo transfer: the risk of early pregnancy loss in frozen embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2018; 35(3):425-9.

PROGESTERONA Y ENDOMETRIO

Adriana Riobó, Elkin Muñoz y Juan Antonio García-Velasco

INTRODUCCIÓN

La progesterona es un esteroide sexual derivado del colesterol y posee 21 moléculas de carbono con un núcleo pregnano como estructura básica. Se produce fundamentalmente en el ovario, y una pequeña cantidad en las glándulas suprarrenales. Durante la fase folicular, la tasa de producción en sangre es de menos de 1 mg/día, y durante la fase lútea aumenta a 20-30 mg/día, consiguiendo unos niveles que varían de 3 a 15 ng/mL¹.

Existen diferentes preparados aparte de la progesterona natural que poseen actividad progestágena; entre ellos se incluyen, además de la retroprogesterona (p. ej., didrogesterona), los derivados de la progesterona (medrogestona), de la 17 α -hidroxiprogesterona (acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol), de la 19-norprogesterona (nomegestrol, promegestona, trimegestona, nesterona), de la 19-nortestosterona (noretisterona, linestrenol, levonorgestrel, desogestrel, gestodeno, norgestimato, dienogest) y de la espironolactona (drospiridona)². Todos estos productos tienen un efecto progestágeno común sobre el endometrio previamente estimulado con estrógenos.

El endometrio es el tejido fisiológico destinado a albergar el embarazo, favorecer la placentación y promover el desarrollo embrionario hasta la llegada de la gestación a término. Para ello, sufre una serie de cambios morfológicos y funcionales necesarios para permitir la receptividad a la implantación del embrión, una primera impregnación del efecto estrogénico y el efecto progestagénico posterior. La capa funcional del endometrio se asienta sobre una capa basal a través de la cual pasa la circulación sanguínea, por donde llegan el estradiol y la progesterona.

Los estrógenos inducen la transcripción de los receptores de progesterona, que son básicamente de tres tipos: A, B y C, aunque se suele añadir un cuarto (el tipo M).

De ellos, los dos primeros son los relevantes en el efecto progestágeno; por su parte, el C, el más pequeño y sin capacidad para iniciar la transcripción, podría de hecho ejercer un efecto de supresión de los dos primeros³.

El objetivo de esta revisión es describir la relación entre la aplicación de progesterona o sus derivados y el endometrio en la preparación para la transferencia embrionaria.

MECANISMO DE ACCIÓN HORMONAL

Las células productoras de progesterona sintetizan colesterol desde el acetato, excepto la placenta que lo realiza desde otros sustratos. Sin embargo, su mayor fuente es el colesterol sanguíneo, que viaja unido, sobre todo —pero no exclusivamente—, a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y cuya entrada en la célula está mediada por un receptor de membrana. El receptor reconoce las apoproteínas de la superficie y fija el LDL desde la sangre para llevarlo dentro de la célula y, posteriormente, degradarlo.

La esteroidogénesis sucede por dos tipos de enzimas: deshidrogenasas y oxidasas del grupo del citocromo P-450, que deben su nombre a la absorbencia (*absorbance*) de un pigmento (450) cuando se reducen. El genoma humano codifica 57 enzimas de dicho grupo, 7 de las cuales están en las mitocondrias y 50 en el retículo endoplásmico. En la síntesis de la progesterona intervienen la P-450_{scc} (*side-chain cleavage*), que transforma el colesterol en pregnenolona, y la 3 β -hidroxiesteroideo-deshidrogenasa, que transforma esta en progesterona por la llamada *vía Δ^4 -3 cetona*.

Como otras hormonas esteroideas, la progesterona actúa sobre el útero mediante un mecanismo que incluye la difusión simple de la hormona a través de la membrana celular, la unión de aquella a su receptor de proteína en el citoplasma, la interacción del complejo hormona-receptor con el ADN nuclear, la síntesis de ARN mensajero, su transporte hasta los ribosomas y, finalmente, la síntesis proteica⁴.

El endometrio, como toda mucosa, está formado por un tejido epitelial que contiene asociadas glándulas (compartimento epitelial) y un tejido conjuntivo laxo (compartimento estromal) que soporta ese epitelio por donde discurren vasos sanguíneos (compartimento vascular). El compartimento epitelial se divide en dos zonas: la basal, que permanece todo el tiempo, y la funcional, que sufre la transformación secretora y, en caso de menstruación, se descama para regenerarse en el siguiente ciclo. La progesterona induce cambios en el endometrio a dos niveles: 1) en el compartimento epitelial, modificando la actividad de las glándulas cuyas células inician la producción y secreción de sustancias que nutren y facilitan la implantación del blastocisto; y 2) en el estroma, induciendo la *decidualización*, una serie de cambios bioquímicos, génicos y morfológicos de los fibroblastos dirigidos a facilitar la invasión del trofoblasto. Esa habilidad del endometrio para permitir la implantación normal de un embrión es lo que se ha denominado *receptividad*⁵.

Ese período de maduración endometrial durante el cual el trofoectodermo del blastocisto puede unirse a las células epiteliales endometriales y, posteriormente, invadir el estroma endometrial y la vasculatura depende de la acción conjunta de los estrógenos, de la modificación en los receptores de esteroides y de la regulación a la baja de los receptores α de estrógenos⁶. La progesterona es la encargada de esa regulación de receptores de estrógenos⁷ y de su propio receptor⁸, y su papel induciendo una disminución de los receptores de estrógenos y progesterona es clave en la receptividad endometrial; si esto no sucede, existe un retraso histológico en la transformación endometrial para la receptividad⁹. La decidualización requiere la acción sinérgica del receptor de progesterona y el monofosfato de adenosina cíclico, y estos cambios en el estroma pueden funcionar como biosensor para detectar la calidad del embrión durante la fase temprana de implantación¹⁰. Adicionalmente, ciertos mecanismos epigenéticos y la expresión de ARN monocatenarios de pequeña longitud (microRNA) pueden alterar la acción de la progesterona¹¹.

La receptividad del endometrio al embrión sucede durante un breve período de tiempo y es dependiente de su exposición a la progesterona. En los ciclos naturales, esta receptividad se establece alrededor del 7.º día después de la ovulación durante un período que varía horas; este intervalo se conoce como *ventana de implantación*¹². Con las técnicas de evaluación de la receptividad, la fase secretora endometrial se puede dividir en prerreceptiva, receptiva y posreceptiva¹³.

VALOR DE LA PROGESTERONA SÉRICA

La progesterona sérica debería permanecer muy baja durante la fase folicular, y su elevación prematura influiría negativamente en la maduración igualmente prematura del endometrio¹⁴. El valor de la progesterona que define su elevación es variable según cada clínica y, aunque oscila alrededor de 1,5-2,0 ng/mL, lo recomendable es establecerlo de forma individual en cada centro. Un estudio de más de 4000 ciclos de fecundación *in vitro* (FIV) con inyección intracitoplásmica de espermatozoides o ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*) demostró peores resultados cuando los niveles de progesterona eran superiores a 1,5 ng/mL el día de la inducción de la maduración ovocitaria¹⁵.

Más recientemente se ha cuestionado el valor de una determinación única de progesterona considerando la enorme variabilidad que tiene en un período corto de tiempo. Un estudio en donante de ovocitos demostró que los valores de progesterona tomados a las 8:00 horas eran un 55 % más altos que tomados a las 20:00 horas en la misma donante el día de la inducción de la maduración ovocitaria¹⁶. No existen estudios que evalúen los valores de progesterona durante la preparación endometrial para transferencia de embriones congelados, excepto un estudio aleatorizado de 271 pacientes en ciclos naturales modificados con dos tipos diferentes de estimulación. Se tomó una medición de progesterona y de hormona luteinizante durante la fase folicular tardía, demostrando que valores elevados de una u otra no se relacionaron

con el resultado en la tasa de recién nacidos vivos¹⁷. El valor utilizado como medida de una adecuada preparación endometrial es el valor de progesterona sérica el día de la transferencia o el día anterior. La mayoría de los ensayos coincide en que un valor bajo de progesterona está relacionado con tasas menores de embarazo evolutivo¹⁸⁻¹⁹.

Un estudio de 211 pacientes que recibían donación de ovocitos en ciclos de preparación endometrial artificial con 800 mg/día de progesterona micronizada vaginal mostró que con valores menores de 9,2 ng/mL había una reducción significativa de la tasa de gestación evolutiva comparada con aquellas que registraban niveles superiores a esa cifra²⁰.

TIPOS DE PREPARADOS Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

Además de la progesterona natural producida por el cuerpo lúteo, la placenta y, en pequeñas cantidades, la corteza suprarrenal, existe un grupo de productos derivados de ella, como la retroprogesterona. La didrogesterona es un fármaco de este grupo que se ha empleado recientemente en el soporte de fase lútea²¹, o los derivados de la 17-hidroxi-progesterona, como el acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera® [inyectable] y Progevera® [oral]). La forma más frecuente de uso de la progesterona en reproducción asistida en nuestro medio es la natural micronizada, con partículas de pequeño tamaño que la hace más homogénea y de más fácil absorción.

Una vez aplicada, sus concentraciones séricas dependen de la absorción, metabolismo gastrointestinal, efecto del primer paso hepático, distribución y almacenamiento en la grasa y otros tejidos, en el hígado, unión a las proteínas séricas y su inactivación y conjugación.

En relación con el momento idóneo para empezar con la progesterona, existe igualmente controversia. Si se consideran los múltiples trabajos que defienden la necesidad de una exposición del endometrio a la progesterona durante un número muy exacto de horas para abrir la ventana de implantación, nos obliga a pensar lo relevante del momento exacto del inicio de la misma²². Esto obliga a pensar lo relevante del momento exacto de inicio. Sin embargo, un estudio que evaluaba la tasa de gestación en donación de ovocitos cuando se iniciaba la progesterona el día de la donación de ovocitos y la comparaba con el inicio al día siguiente no encontró diferencias en cuanto a resultados reproductivos²³.

Uno de los aspectos más controvertidos es determinar cuál es la mejor vía de administración, oral o parenteral (vaginal, intramuscular o transdérmica)²⁴. La vía oral, incluso de la forma micronizada, muestra una amplia variación individual en su absorción y biodisponibilidad. Después de la administración oral, las progesteronas sintéticas alcanzan una concentración máxima sérica a las 2-5 horas y tienen una vida media más larga, mostrando unos niveles plasmáticos estables a largo plazo. La mayoría de ellas son metabolizadas en el hígado y excretadas por la orina²⁵.

Las concentraciones plasmáticas alcanzadas por vía oral, subcutánea o intramuscular son más elevadas que las obtenidas por vía vaginal. Sin embargo, los cambios en el patrón endometrial convirtiéndolo en secretor son mejores por vía vaginal debido a la absorción linfática y al efecto del primer paso en el endometrio, logrando así una mayor concentración tisular que la vía intramuscular.

No parece haber un preparado superior a otro entre las diferentes formas o vías de administración de la progesterona, ni en tasas de gestación ni en tasas de recién nacidos vivos²⁶. La controversia en torno al mejor preparado, la vía de administración y la dosis de progesterona ha sido objeto frecuente de estudio, aunque el alto grado de heterogeneidad de las investigaciones les resta validez práctica. Los estudios iniciales presentaban la vía intramuscular como superior a la progesterona vaginal. La tasa de embarazos clínicos y de nacidos fueron significativamente mejores con la administración por vía intramuscular que con gel o crema vaginales, con un riesgo relativo de 1,33 (intervalo de confianza al 95 %: 1,02-1,75)²⁷. En un metaanálisis más reciente, que incluye más de 9000 pacientes, que comparaba las diferentes formas de administración de la progesterona no encontró un preparado, vía o dosis más eficaz que los otros²⁸. Una alternativa más reciente es la progesterona por vía subcutánea (25 mg/día). Los estudios de fase III muestran que este preparado es, en cuanto a eficacia, similar al administrado por vía vaginal en los ciclos de FIV²⁹.

Un metaanálisis sobre el uso de la progesterona como suplemento de la fase lútea en los ciclos de transferencia de embriones frescos incluyó 26 726 pacientes. La tasa de embarazos clínicos fue mayor con el uso de progesterona intramuscular (*odds ratio*: 4,57), vaginal (3,34), subcutánea (3,36) u oral (2,57) respecto de no administrar tratamiento³⁰. Un estudio aleatorio que comparaba el efecto endometrial de administración subcutánea de 25 mg y 50 mg de progesterona en preparación acuosa demuestra que el 100 % de las biopsias de endometrio, tomadas en voluntarias previamente previo estímulo estrogénico, mostraban cambios predeciduales en el 100 % de ellas, sin diferencia entre las dos dosis³¹. Un estudio aleatorizado abierto de 800 pacientes evaluó la eficacia de la progesterona subcutánea acuosa respecto al gel de progesterona en el soporte de fase lútea en FIV. La tasa de gestación evolutiva hasta la semana 12 fue comparable entre los dos grupos. De esta manera, la progesterona subcutánea se presenta como una alternativa para mujeres que no deseen o no puedan aplicarse la sustancia por vía vaginal o que prefieran evitar los efectos adversos de la administración intramuscular³².

Se verifica una pobre relación entre los niveles séricos de progesterona y la tasa de gestación, como se ha demostrado en un estudio que comparaba la eficacia de la administración por vía intramuscular y vaginal con la administración solo vaginal. Sin embargo, la diferencia en el tamaño muestral entre grupos (22 vs. 229, respectivamente) y las tasas de gestación fueron 72,7 % vs. 51,5 %³³.

La vía oral, considerada tradicionalmente poco fiable por adolecer de baja absorción y de respuesta errática, así como por causar efectos secundarios de tipo sedación, ha resurgido recientemente con el uso de la didrogesterona. Un estudio aleatorizado de fase III encontró que la didrogesterona oral en dosis diarias de 30 mg no presentaba peores resultados que la progesterona por vía vaginal (600 mg/día) como soporte de la fase lútea³⁴.

En general, los resultados son similares, y la utilización de un preparado u otro, o de una vía de administración u otra, depende de la disponibilidad y de las preferencias de cada centro y de cada paciente. También se describen preferencias según los países en lo que concierne a la vía de administración; así, resulta que la intramuscular es la preferida en Estados Unidos y Canadá, mientras que en Europa se recurre con más frecuencia a la vía vaginal.

La dosis óptima de progesterona no está claramente establecida. Un estudio prospectivo aleatorizado de 146 pacientes concluye que no existen diferencias en el tratamiento con progesterona vaginal en dosis de 200 mg/día vs. 300 mg/día³⁵.

Así pues, las dosis más aceptadas varían entre 100 y 800 mg/día para la progesterona natural micronizada, entre 25 y 50 mg/día en el caso de la intramuscular y entre 10 y 30 mg/día en el de la didrogesterona³⁶.

CONCLUSIONES

La progesterona es una hormona esteroidea producida fundamentalmente en el cuerpo lúteo que exhibe afinidad por sus receptores endometriales. Su acción sobre el endometrio permite la implantación embrionaria durante el período de receptividad conocido como *ventana de implantación*. Tanto esta hormona como sus derivados son los productos de elección para suplementar la fase lútea en reproducción asistida.

No se ha podido demostrar una vía de administración superior a otra, aunque parecen observarse mejores resultados con la vía parenteral que con la vaginal, mientras que la vía oral sigue siendo la menos recomendada.

El inicio de la progesterona debe relacionarse con el tiempo de vida embrionaria. La indicación de estudios de transcriptómica endometrial no está lo suficientemente demostrada para su aplicación en la población general. De la misma manera, la determinación de la progesterona sérica durante la fase lútea necesita de mayor validación para ser utilizada de forma universal en la programación y ejecución de las transferencias de embriones congelados. Finalmente, se conocen pocos estudios dirigidos a evaluar su uso en ciclos de preparación endometrial para transferencia de embriones congelados, por lo que la mayoría de la información se obtiene de su empleo en transferencia de embriones en fresco.

BIBLIOGRAFÍA

1. Taylor H, Pal L, Seli E. Speroff's clinical gynecologic endocrinology and infertility (9.^a ed.). New Heaven: Wolters Kluwer; 2020. p. 18-158.
2. Schindler A, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini J, Schweppef K, et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas*. 2003;46(S1):S7-S16.
3. Samalecos A, Gellersen B. Systematic expression analysis and antibody screening do not support the existence of naturally occurring progesterone receptor (progesterone receptor)-C, progesterone receptor M, or other truncated progesterone receptor isoforms. *Endocrinology*. 2008;149:5872-87.
4. Young SL. Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*. 2013;27:497-505.
5. Lessey B, Young S. What exactly is endometrial receptivity? *Fertil Steril* 2019;111:611-7.
6. Dorostghoal M, Ghaffari HOA, Marmazi F, Keikhah N. Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility. *Int J Fertil Steril*. 2018;12:37-42.
7. Large MJ, DeMayo FJ. The regulation of embryo implantation and endometrial decidualization by progesterone receptor signaling. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;358:155-65.
8. Wetendorf M, Wu SP, Wang X, Creighton CJ, Wang T, Lanz RB, et al. Decreased epithelial progesterone receptor A at the window of receptivity is required for preparation of the endometrium for embryo attachment. *Biol Reprod*. 2017;96:313-26.
9. Lessey BA, Yeh I, Castelbaum AJ, Fritz MA, Ilesanmi AO, Korzeniowski P, et al. Endometrial progesterone receptors and markers of uterine receptivity in the window of implantation. *Fertil Steril*. 1996;65:477-83.
10. Lucas E. Epigenetic effects on the embryo as a result of periconceptual environment and assisted reproduction technology. *Reprod Biomed Online*. 2013;27:477-85.
11. Guo SW. The endometrial epigenome and its response to steroid hormones. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;358:185-6.
12. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:1796-9.
13. Díaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Sebastián-León P, Pellicer A, Valbuena D, Simón C. Window of implantation transcriptomic stratification reveals different endometrial subsignatures associated with live birth and biochemical pregnancy. *Fertil Steril*. 2017;108:703-10.
14. Muñoz E. La adición de LH en la estimulación ovárica no modifica la maduración endometrial prematura ni el patrón de expresión génica endometrial. Un estudio en donantes de ovocitos. Tesis doctoral. Universidad de Valencia. 2015.
15. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis over 4000 cycles. *Hum Reprod*. 2010;25:2092-100.
16. González-Foruria I, Rodríguez I, Martínez F, Rodríguez-Purata J, Montoya P, Rodríguez D, et al. Clinically significant intra-day variability of serum progesterone levels during the final day of oocyte maturation: a prospective study with repeated measurements. *Hum Reprod*. 2019;34:1551-8.
17. Groenewoud E, Macklon N, Cohlen B; ANTARCTICA Study Group. The effect of elevated progesterone levels before HCG triggering in modified natural cycle frozen-thawed embryo transfer cycles. *Reprod Biomed Online*. 2017;34:546-54.
18. Boynukalin F, Gultomruk M, Turgut E, Demir B, Findikli N, Serdarogullari M, et al. Measuring the serum progesterone level on the day of transfer can be an additional tool to maximize ongoing pregnancies in single euploid frozen blastocyst transfers. *Reprod Biol Endocrinol* 2019; 17:102.
19. Gaggiotti-Marre S, Martínez F, Coll L, García S, Álvarez M, Parriego M, et al. 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;35:439-42.

20. 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;32:2437-42.
21. Taş M, Uludag SZ, Aygen ME, Sahin Y. Comparison of oral dydrogesterone and vaginal micronized progesterone for luteal phase support in intrauterine insemination. *Gynecol Endocrinol* 2020;36:77-80.
22. Díaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Bosch N, Martínez-Conejero JA, Alamá P, et al. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2013;99:508-17.
23. Escribá MJ, Bellver J, Bosch E, Sánchez M, Pellicer A, Remohí J. Delaying the initiation of progesterone supplementation until the day of fertilization does not compromise cycle outcome in patients receiving donated oocytes: a randomized study. *Fertil Steril*. 2006;86:92-7.
24. De Lignières B, Dennerstein L, Backstrom T. Influence of route of administration on progesterone metabolism. *Maturitas*. 1995;21:251-7.
25. Schindler AE. Progesterone effects on various organs and their functions. *Gynecol Endocrinol*. 2007;23(suppl. 1):1.
26. Hershko Klement A, Samara N, Weintraub A, Mitri F, Bentov Y, Chang P, et al. Intramuscular versus vaginal progesterone administration in medicated IVF frozen embryo transfer (FET) cycles: a randomized clinical trial. Abstracts of the 32nd Annual Meeting of the ESHRE. Helsinki, 2016. PO-736. Disponible en: <https://www.eshre.eu/en/Annual-Meeting/Helsinki-2016/Abstract-book>
27. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in fertility treatments: a meta-analysis of the randomized trials *Hum Reprod*. 2002;17:2287-99.
28. Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer Jan A, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011:CD009154.
29. Doblinger J, Cometti B, Trevisan S, Griesinger G. Subcutaneous progesterone is effective and safe for luteal phase support in IVF: an individual patient data meta-analysis of the phase III trials. *PLoS One*. 2016;11:e0151388.
30. Mohamed A, Woad K, Mann G, Craigon J, Raine-Fenning N, Robison R. Evaluation of progesterone supplementation for luteal phase support in fresh in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2019;112:491-502.
31. De Ziegler D, Sator M, Binelli D, Leuratti C, Cometti B, Bourgain C, et al. A randomized trial comparing the endometrial effects of daily subcutaneous administration of 25 mg and 50 mg progesterone in aqueous preparation. *Fertil Steril*. 2013;100:860-6.
32. Baker V, Jones C, Doody K, Foulk R, Yee B, Adamson D, et al. A randomized, controlled trial comparing the efficacy and safety of aqueous subcutaneous progesterone with vaginal progesterone for luteal phase support of in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2014;29:2212-20.
33. Torelli F, Padilla C, Cavagnoli M, Bonetti T, Serafini P, Motta E. Intramuscular progesterone (IM-P4) administration is associated with better pregnancy rates in frozen-thawed blastocyst transfers, regardless of progesterone serum levels. Abstract ESHRE. *Hum Reprod*. 2016;31(suppl. 1):i426.
34. Tournaye H, Sukhikh GT, Kahler E, Griesinger G. A Phase III randomized controlled trial comparing the efficacy, safety and tolerability of oral dydrogesterone versus micronized vaginal progesterone for luteal support in in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2017;32:2152.
35. Aslih N, Ellenbogen A, Shavit T, Michaeli M, Yakobi D, Shalom-Paz E. Can we alter pregnancy outcome by adjusting progesterone treatment at mid-luteal phase: a randomized controlled trial. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33:602-6.
36. Muñoz E, Taboas E, Portela S, Aguilar J, Fernández I, Muñoz L, et al. Treatment of luteal phase defects in assisted reproduction. *Curr Drug Targets*. 2013;14:832-42.

EMPLEO DE ANÁLOGOS DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS EN LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

Mónica Álvarez Sánchez y Sonia Lobo Martínez

INTRODUCCIÓN

Gracias a los avances técnicos en los laboratorios de fecundación *in vitro* (FIV), se ha producido una mejora considerable en la calidad embrionaria y, por tanto, en la tasa de implantación, lo que ha permitido la disminución del número de embriones a transferir hasta conseguir de manera eficiente la transferencia de un embrión único. De igual manera, estas mejoras han conseguido la posibilidad de criopreservar los embriones sobrantes de un ciclo de FIV mediante vitrificación para posteriormente ser descongelados y transferidos, aumentando con ello la tasa acumulada de embarazo y disminuyendo los costes.

Es por ello por lo que, entre las técnicas de reproducción asistida, las transferencias de embriones criopreservados han aumentado de manera considerable en los últimos años, tal y como se observa en los registros de la Sociedad Española de Fertilidad¹ (de 6281 en el año 2007 se pasa, diez años después, a la cifra de 26539) y también en los registros de sociedades internacionales^{2,3}. Además, la implementación de la política de segmentación del ciclo de FIV, o vitrificación embrionaria electiva (también conocida como *freeze-all*) para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica, el intento de evitar la transferencia en situaciones con niveles hormonales suprafisiológicos y el aumento de los ciclos de diagnóstico genético preimplantacional han contribuido también al aumento evidente de este procedimiento⁴.

Para la preparación previa a la transferencia de embriones vitrificados, es preciso conseguir una maduración adecuada del endometrio y su receptividad óptima previa a la implantación del embrión sincronizando aquel con el estadio embrionario.

En líneas generales, disponemos de dos métodos para conseguir este objetivo: el *ciclo natural*, que será objeto de otro capítulo de este libro, y el *ciclo sustituido con tratamiento hormonal*. Este último consiste en la administración de terapia de reemplazo hormonal, fundamentalmente con estrógenos y progesterona exógena, aunque también se pueden utilizar gonadotropinas, citrato de clomifeno o inhibidores de la aromatasa.

La administración exógena de estos esteroides no es garantía de una completa supresión hipofisaria y podría desarrollarse un folículo dominante, iniciando, al estar expuesto a la producción de progesterona, una luteinización precoz del endometrio que modificaría la ventana implantatoria y disminuiría las posibilidades de implantación. Con el fin de evitar cancelaciones por ovulación espontánea, que producirían este desarrollo prematuro de la ventana de implantación, hay autores que emplean supresión hipofisaria.

Esta inhibición de la hipófisis puede realizarse mediante la utilización de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas, o GnRHa (*gonadotropin-releasing hormone agonists*), o bien con antagonistas de esta hormona, ya que la ovulación prematura que conduce a la cancelación del ciclo se produce en el 1,9% a 7,4% de los ciclos, y se trata del principal inconveniente de la preparación hormonal sustitutiva sin supresión hipofisaria⁵.

UTILIZACIÓN DE AGONISTAS DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS

Su administración generalmente se inicia en la fase lútea del ciclo previo (día 21-22 del ciclo menstrual), antes de comenzar con la administración de estrógenos y progesterona. La combinación de estos fármacos junto con los esteroides incrementa el coste económico, y, además, el GnRHa puede tener efectos adversos como consecuencia del hipoestrogenismo y conllevar un retraso en la reanudación de la ovulación espontánea si falla la criotransferencia, así como generar una preparación endometrial más larga⁶.

Los agonistas más utilizados son los de depósito, acetato de leuprorrelina/triptorrelina, 3,75 mg, en dosis única. Sin embargo, distintos estudios que utilizan diferentes clases de agonistas no observan ninguna evidencia de la supremacía de uno sobre otro en cuanto a tasas de gestación⁷.

En una revisión de la Cochrane Database of Systematic Reviews (CDSR) de 2017⁸ que incluía 18 ensayos clínicos aleatorizados (ECA) se analizaron diferentes regímenes de preparación del ciclo para transferencia de embriones vitrificados en 3815 mujeres. Se evaluó el ciclo natural respecto a los ciclos con tratamiento hormonal con o sin supresión hipofisaria de GnRHa. No se encontraron evidencias de una diferencia en

las tasas de nacimientos vivos (*odds ratio* [OR]: 0,77; intervalo de confianza al 95 % [IC95]: 0,39-1,53; 1 ECA, n = 159, evidencia de baja calidad) o embarazo múltiple (OR: 0,58; IC95: 0,13-2,50; 1 ECA, n = 159, evidencia de baja calidad) entre pacientes con transferencia de embriones en ciclo natural y aquellas que se habían sometido a ciclos suplementados con supresión con GnRH α . El estudio no informó sobre las tasas de aborto espontáneo⁹. También se valoró si existían diferencias entre transferencias de embriones vitrificados en ciclo con suplementación hormonal y transferencias en las que se había administrado esta suplementación junto con GnRH α (7 ECA)^{6,10-15}. Los autores de la revisión reconocen la dificultad de la combinación de estudios para esta comparación.

Los ciclos sustituidos combinados con la supresión de GnRH α arrojaron tasas de recién nacidos vivos más altas en comparación con los ciclos preparados con terapia hormonal sola (OR: 0,10; IC95: 0,04-0,30; 1 ECA, n = 75, evidencia de baja calidad), pero no hubo evidencia de diferencias en las tasas de abortos espontáneos (OR: 0,64; IC95: 0,37-1,12; 6 ECA, n = 991, $I^2 = 0\%$, evidencia de baja calidad) o de embarazos clínicos ni gestaciones evolutivas (OR: 1,72; IC95: 0,61-4,85; 1 ECA, n = 106, evidencia de muy baja calidad). El estudio implicado fue pequeño, con un número de casos muy reducido¹². No hubo datos sobre tasa de embarazos múltiples.

Los autores del metaanálisis comentan que la diferencia en los nacidos vivos se puede atribuir a un incremento prematuro de los niveles de la hormona luteinizante (LH), que puede suceder en mujeres de ovulación normal sin supresión con un agonista de GnRH. Este aumento en la LH se informó incluso sin un reclutamiento folicular observado⁴. Se sabe que la LH afecta el desarrollo del endometrio a través de su efecto sobre la producción de estrógenos y progesterona, alterando la correcta sincronización entre el endometrio y el embrión y dificultando la implantación embrionaria.

En esta revisión de la CDSR también se realizó una comparación entre transferencia de embriones vitrificados en un ciclo natural modificado en el que administra gonadotropina coriónica humana (hCG) para desencadenar la ovulación y un ciclo sustituido con supresión hipofisaria mediante un GnRH α . Esta comparación incluyó solo un ECA¹⁶ con transferencia de un blastocisto euploide único, sin encontrarse diferencias entre los dos grupos ni en la tasa de recién nacidos vivos (OR: 1,11; IC95: 0,66-1,87; 1 ECA, n = 236, evidencia de baja calidad) ni de abortos espontáneos (OR: 0,74; IC95: 0,25-2,19; 1 ECA, n = 236, evidencia de baja calidad).

Sin embargo, la calidad de la evidencia fue baja o muy baja. Las principales limitaciones fueron la falta de notificación de resultados clínicos importantes, el informe deficiente de los métodos de estudio y la imprecisión debida a las bajas tasas de eventos.

Los autores de esta revisión concluyen que no se encontraron pruebas suficientes para respaldar el uso preferente de un régimen de preparación endometrial sobre

otro para la transferencia de embriones congelados en mujeres subfértiles con ciclos ovulatorios regulares. Por este motivo, recomiendan que la elección de un método de preparación endometrial u otro debe basarse en las características de los patrones ovulatorio y menstrual de la paciente, así como en la necesidad o no de planificación del ciclo.

En otra revisión de la CDSR del 2010⁷ se realizó una revisión sistemática de la preparación endometrial en mujeres sometidas a transferencia de embriones congelados o embriones derivados de ovocitos de donantes. Se incluyeron cinco ECA con un total de 778 mujeres y se analizó el uso de un GnRH α respecto al empleo de tratamiento hormonal sustitutivo aislado. La tasa de embarazos clínicos se estableció sobre la base de cuatro ensayos^{6,11,12,14} que evaluaron la eficacia de la administración de busserrelina por vía nasal y vía subcutánea y la triptorrelina de depósito por vía intramuscular en pacientes que realizan una transferencia de embriones vitrificados. Un quinto estudio¹⁷ analizó el acetato de leuprorrelina diario por vía subcutánea en receptoras de embriones procedentes de ciclos de ovodonación.

El ensayo prospectivo aleatorizado de El-Toukhy¹² mostró, como se ha apuntado antes, que el grupo de busserrelina nasal obtenía tasas más altas de embarazo clínico (37,6 % vs. 24 %; OR: 1,8; IC95: 1,1-3,4), de embarazo evolutivo clínico (24 % vs. 11,3 %; OR: 2,5; IC95: 1,2-5,5) y de recién nacidos vivos (20 % vs. 8,5 %; OR: 2,9; IC95: 1,2-8) que el grupo de control, si bien con un número reducido de casos (234 pacientes aleatorizadas, 117 en cada brazo de tratamiento).

Estos resultados parecen contrastar con los de otro estudio aleatorizado previo⁶, en el que se concluía que la preparación endometrial para la transferencia de embriones congelados usando únicamente suplementos de esteroides era tan efectiva como en la que se asocia además la administración de un GnRH α . Sin embargo, la comparación de los dos estudios es difícil, ya que la formulación y la dosis de la medicación utilizada fueron diferentes. Además, en el primero⁶, los ciclos en los que las pacientes mostraron signos ecográficos sugestivos de ovulación se excluyeron del análisis, mientras que el segundo no monitorizó la ovulación.

Por otro lado, no hubo evidencia de una diferencia estadísticamente significativa entre las mujeres que recibieron agonistas de GnRH y las que no lo hicieron en los otros cuatro estudios^{6,11,14,17} con respecto a las tasas de embarazos clínicos (OR: 1,19; IC-95: 0,73-1,94; $I^2 = 39\%$) ni tampoco en las tasas de cancelaciones del ciclo (OR: 0,49; IC95: 0,21-1,17; $I^2 = 0\%$), que afectaban al 4 % de las pacientes.

En algunas pacientes (5,3 %) no tratadas con un GnRH α se ha observado un desarrollo folicular inicial, si bien en ninguna de ellas el folículo alcanzó un diámetro ovulatorio⁶. Cuando no existe supresión hipofisaria con un agonista de GnRH, es muy importante comenzar la administración de estradiol en la fase folicular temprana (primer o segundo día del ciclo). De esta manera, aunque pueda existir cierta actividad folicular

inicial, se consigue inhibir la ovulación. Si se inicia la administración de estradiol después del tercer día del ciclo, se puede producir un incremento en los niveles de LH y una maduración prematura del endometrio¹⁷.

En esta revisión⁷ también se compara el beneficio de un GnRHa en particular sobre otros. Tres estudios¹⁸⁻²⁰ evaluaron el uso de diferentes tipos de agonistas de GnRH en ciclos de donantes de ovocitos. Uno de ellos¹⁸ comparó tres grupos de intervención: acetato de leuprorrelina de depósito intramuscular, triptorrelina de depósito intramuscular y acetato de leuprorrelina subcutáneo diario; otro¹⁹, el acetato de leuprorrelina y la nafarrelina, ambos administrados diariamente; y el tercero, el acetato de leuprorrelina diario y la triptorrelina de depósito²⁰. Se incluyeron un total de 301 mujeres. No se hallaron diferencias entre el uso diario de nafarrelina y el de acetato de leuprorrelina (OR: 1,26; IC95: 0,49-3,27) ni entre la triptorrelina de depósito y el acetato de leuprorrelina de depósito (OR: 1,46; IC95: 0,71-3,00) ni entre la triptorrelina de depósito y el acetato de leuprorrelina diario (OR: 1,93; IC95: 0,62-5,98). Por otro lado, no existiría justificación biológica alguna para creer que los GnRHa de depósito son mejores que los GnRHa diarios, ya que, de ser así, también se podría haber observado en ciclos de FIV; sin embargo, la revisión de la CDSR que comparaba estos dos tipos distintos de GnRHa no encontró diferencias estadísticamente significativas²¹.

En resumen, los autores concluyen que existen pocos estudios con un diseño adecuado que permitan comparar las intervenciones especificadas previamente. En esos estudios no hubo suficiente poder estadístico para llegar a conclusiones definitivas con respecto a la comparabilidad de las intervenciones. Así pues, se requieren ECA con enmascaramiento doble (*double-blind*) y suficiente potencia estadística para determinar si alguna de las intervenciones evaluadas en esta revisión aumenta las posibilidades de lograr recién nacidos vivos en mujeres sometidas a transferencia de embriones congelados o ciclos de recepción de ovocitos. No se ha demostrado ningún beneficio significativo con el empleo de GnRHa ni se ha encontrado una evidencia clara de beneficio para un GnRHa sobre otro.

Una revisión sistemática y metaanálisis de Groenewoud *et al.*²² incluyó veinte estudios en los que se comparaban los distintos regímenes de preparación endometrial antes de la transferencia de embriones desvitrificados. Con la finalidad de comparar el ciclo natural frente al ciclo con suplementación con GnRHa se incluyen cuatro estudios retrospectivos²³⁻²⁶, alcanzando un total de 2485 ciclos, y un estudio cuasialeatorizado²⁷. El análisis de los resultados obtenidos concluyó que no hay diferencias significativas en las tasas de embarazos clínicos (OR: 0,82; IC95: 0,67-1,0) ni de recién nacidos vivos (OR: 0,80; IC95: 0,52-1,2). El tipo de análogo utilizado, la vía de administración y el momento de su suspensión fueron distintos en los ensayos incluidos, con un nivel variable de heterogeneidad entre ellos. También se comparó la preparación endometrial con ciclo sustituido y con ciclo sustituido junto a un GnRHa, y para ello se incluyeron tres estudios prospectivos que incluían 631 ciclos^{6,12,15}. No se observaron

diferencias en la tasa de embarazos clínicos (OR: 0,77; IC95: 0,44-1,4) y también se detectó una considerable heterogeneidad. De nuevo, los autores concluyen que no es posible, de acuerdo con los datos publicados hasta la actualidad, recomendar un método de preparación endometrial en transferencia de embriones congelados sobre otro. El número de ECA es limitado y el número de pacientes incluidas es pequeño. Los futuros ECA prospectivos deberían no solo abordar las tasas de embarazo, sino también considerar la conveniencia y la rentabilidad de los distintos protocolos de preparación endometrial en ciclos de criotransferencia embrionaria²⁸.

En otra revisión sistemática y metaanálisis reciente⁴ que incluyó treinta y tres estudios, se evaluaron las distintas formas de preparación endometrial. Respecto a la comparación de la preparación endometrial con estrógenos y progesterona con o sin supresión con GnRHa, se incluyeron un total de cinco estudios, cuatro ECA^{6,10,12,15} y un estudio de cohorte retrospectivo⁵, con un total de 1752 ciclos. Las estimaciones agrupadas para el embarazo clínicos (OR: 1,26; IC95: 0,86-1,84; 5 estudios) y nacimientos vivos (OR: 1,55; IC95: 0,58-4,11; 2 estudios) no encontraron diferencias estadísticamente significativas para ambos resultados.

En el estudio de Van Vijver *et al.*⁵ se analizan de forma retrospectiva las tasas de recién nacidos vivos en 1129 ciclos de preparación endometrial artificial para la transferencia de embriones criopreservados. Compara dos grupos (A y B) que recibieron administración de estrógenos y progesterona, pero el grupo A (n = 280 ciclos) recibió además buserrelina nasal en la fase lútea previa, mientras que al grupo B no se le administró (n = 849 ciclos). Las tasas de recién nacidos vivos por ciclo iniciado (14,9% [41/275] en el grupo A vs. 15,1% [127/839] en el grupo B) o por transferencia (17,5% [41/234] en el grupo A vs. 17,6% [127/723] en el grupo B) resultaron equiparables. El análisis de regresión logística puso en evidencia que las únicas variables que se asociaron significativamente con la tasa de recién nacidos fueron el día de la transferencia embrionaria (OR: 0,69; IC95: 0,48-0,98 para los embriones del día 3 frente al día 5), el número de embriones transferidos (OR: 2,13; IC95: 1,58-2,86 para dos embriones vs. un embrión transferido) y el grosor endometrial el día de la transferencia embrionaria (OR: 1,15; IC95: 1,05-1,25). La tasa de recién nacidos vivos después de la transferencia de embriones criopreservados en ciclos artificiales no aumentó con la administración conjunta de un GnRHa.

UTILIZACIÓN DE ANTAGONISTAS DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS

El tratamiento con GnRHa en la preparación endometrial para la transferencia de embriones criopreservados, pese a su potencial utilidad, es poco habitual dados los efectos secundarios y el incremento de los costes que genera^{22,29,30}.

Debido a su diferente mecanismo de acción, el bloqueo hipofisario que producen los antagonistas de la GnRH (GnRHant) es inmediato, persistente y rápidamente reversible; además a diferencia de los GnRHa, no existe una liberación inicial de hormona foliculoestimulante ni de LH (el denominado fenómeno *flare-up*), no aumenta la incidencia de quistes y no aparecen los síntomas de privación propios de la situación de hipoestrogenismo³¹. La duración media del efecto de los GnRHant de 0,25 mg no supera las 24 horas, por lo que es importante no superar el intervalo de 24 horas entre la administración de una dosis de GnRHant y la siguiente.

Se están desarrollando GnRHant de liberación retardada, lo que permitiría prolongar durante más tiempo la inhibición hipofisaria producida, minimizando el número de inyecciones y facilitando la adhesión al tratamiento³². A diferencia de los GnRHa, que se administran en fase lútea media del ciclo previo, los GnRHant se administran al inicio de la fase folicular, lo que descarta la posibilidad de iniciar el tratamiento en caso de gestación espontánea, un riesgo que se estima entre el 0,43 % y el 6 % de las pacientes tratadas con GnRHa en fase secretora media³³. Esto supone una gran ventaja para conseguir la supresión del pico endógeno de LH frente a los GnRHa³⁴.

El uso de los GnRHant para la preparación de una transferencia embrionaria es controvertido, dada la baja probabilidad de escape ovulatorio en los ciclos con tratamiento hormonal y el posible efecto del GnRHant sobre el endometrio. Hace ya más de dos décadas que se describió el efecto nocivo de los antagonistas a nivel endometrial³⁵. Sin embargo, estudios posteriores, como el de Simón en 2005, no encontraron diferencias en los perfiles de expresión génica endometrial en donantes, ya fuera en ciclo natural o sustituido con GnRHa o con GnRHant³⁶.

A diferencia de lo que sucede con el empleo de los GnRHant para la estimulación ovárica en ciclos de FIV, son escasos los datos que avalan la administración de GnRHant para evitar el pico ovulatorio de LH en la preparación endometrial para la transferencia de embriones congelados. Por otra parte, estos datos proceden en su mayor parte de estudios realizados en ciclos de ovodonación.

En 2011, Martínez *et al.*³⁷ publicaron un estudio observacional prospectivo no aleatorizado en donación de ovocitos que incluía 186 ciclos.

- En 123 de ellos se administró una dosis única de 3,75 mg de acetato de leuprorrelina por vía intramuscular en la receptora el día 20-22 del ciclo previo. En este grupo, el tratamiento en la receptora se iniciaba con 6 mg/día de valerato de estradiol por vía oral desde el primer día de la menstruación de la donante, añadiendo 200 mg/8 h de progesterona natural micronizada por vía vaginal desde las 12 horas previas a la punción de la donante hasta el día de la determinación de la subunidad β de la hCG (hCG- β).

- En el otro grupo (63 ciclos), tanto la donante como la receptora se sometieron a pretratamiento con anticonceptivos, suspendiéndose su administración el mismo día e iniciándose la preparación de la receptora con 6 mg diarios de valerato de estradiol oral al tercer día de haber sido retirado el anticonceptivo. Se administraba una inyección diaria de ganirelix 0,25 mg el mismo día que en la donante hasta el día de la descarga ovulatoria, suplementando con 200 mg/8 h de progesterona natural micronizada desde 12 horas antes de la punción hasta la realización del test de embarazo.

En caso de resultado positivo de hCG- β , el tratamiento con estrógenos orales y progesterona se mantuvo en ambos grupos hasta la semana 10 de embarazo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de gestaciones clínicas entre los dos (56,1 % en el de GnRHa *depot* y 52,4 % en el de GnRHant). Sobre la base de estos resultados, los autores proponen el empleo de GnRHant para facilitar la sincronización con la donante en ciclos de ovodonación³⁷.

En 2016, Palmerola *et al.*³⁸ publicaron el único estudio en el que se compara la administración de un GnRHa frente a un GnRHant en la preparación endometrial para la transferencia de embriones propios criopreservados. El trabajo presenta importantes limitaciones, ya que se trata de un estudio retrospectivo, no aleatorizado, con diferentes vías de administración del estrógeno y diferentes estadios evolutivos de los embriones transferidos (en células y blastocisto). En este estudio se incluyeron un total de 1047 ciclos, con 840 criotransferencias realizadas (610 con GnRHa y 230 con GnRHant). En los ciclos con GnRHa se administró acetato de leuprorrelina 0,1 mg/día desde el segundo día del ciclo previo durante dos semanas; el tratamiento sustitutivo con estrógenos se inició tras la confirmación analítica de la presencia de niveles de estradiol por debajo de 50 pg/mL. Se realizó una ecografía transvaginal el día 11 del tratamiento con estrógenos, añadiendo progesterona vaginal micronizada de acuerdo con el patrón y grosor endometriales, y programando la transferencia en función del estadio de congelación embrionaria. En los ciclos con GnRHant, la administración de estrógenos se inició el primer día del ciclo; se realizó un control ecográfico el día 11, añadiendo entonces una inyección diaria de GnRHant (ganirelix 0,25 mg) durante un mínimo de cuatro días hasta el día de inicio de la suplementación con progesterona. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de gestación entre los ciclos con agonistas (34,1 %) y antagonistas (29,1 %). Los autores concluyen que no existen diferencias clínicas significativas entre los ciclos con GnRHa y con GnRHant, y sugieren que la utilización de GnRHant podría ser útil con el fin de reducir el tiempo requerido para realizar la criotransferencia y disminuir los efectos adversos de la administración de los análogos de GnRH.

En 2018, Vidal *et al.*³⁹ publicaron un estudio prospectivo aleatorizado en el que compararon los resultados obtenidos en 276 ciclos de recepción de ovocitos en los que se administraba una dosis única de GnRHa (acetato de triptorrelina 3,75 mg

IM) en fase lútea media del ciclo previo con 287 ciclos en los que administraba un GnRHant diario (cetrorelix 0,25 mg) durante 7 días comenzando entre los días 1 y 3 del ciclo³⁶. Ambos grupos recibieron la misma preparación hormonal, con 150 µg de estradiol transdérmico cada 72 horas, iniciando el soporte de fase lútea con 800 mg de progesterona natural micronizada por vía vaginal desde el día posterior a tasa de la punción de la donante o a la desvitrificación de ovocitos. No se observaron diferencias en la tasa de cancelación (16,5% en el grupo de GnRHant vs. 11,4% en el de GnRHa). Entre las pacientes que llegaron a la transferencia, la tasa de gestaciones clínicas fue mayor en el grupo de GnRHant (57,8% vs. 46,6%), si bien estas diferencias se atribuían a una mayor tasa de transferencia en blastocisto en el grupo de GnRHant (40,5% vs. 26,1%). Una vez ajustados los diferentes factores de confusión, no se observan diferencias estadísticamente significativas en la tasa de gestación evolutiva entre los dos grupos (OR: 1,42; IC95: 0,97-2,89).

CONCLUSIONES

A la vista de todas las publicaciones anteriores y sobre la base de la evidencia actual, podemos concluir que la supresión hipofisaria tanto con un agonista como con un antagonista de la GnRH, que algunos especialistas utilizan con el fin de evitar cancelaciones por ovulación espontánea en ciclos de preparación endometrial para transferencia de embriones desvitrificados, es tan efectiva como la preparación endometrial utilizando únicamente reemplazo de esteroides. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a tasas de embarazos clínicos, de cancelaciones, de gestaciones evolutivas o de abortos espontáneos. Tampoco se ha observado ninguna evidencia de la superioridad de un GnRHa sobre otro en cuanto a tasas de gestaciones.

La administración de un GnRHa junto con estrógenos y progesterona conlleva un incremento en el coste económico del ciclo, entraña riesgo de efectos adversos como consecuencia del hipoestrogenismo y puede llevar a un incremento en la duración de la preparación endometrial.

Al administrar GnRHant, no existe una liberación inicial de hormona de hormona foliculoestimulante ni de LH (el fenómeno *flare-up*), y por esto no se producen síntomas de privación propios de la situación de hipoestrogenismo, aunque es dudoso su efecto perjudicial en el endometrio.

Sin embargo, la calidad de la evidencia es baja o muy baja, motivo por el cual se requieren ensayos controlados aleatorizados con enmascaramiento doble y suficiente potencia estadística para determinar si estas intervenciones son superiores, no solo abordando las tasas de gestaciones, sino también considerando la comodidad de los pacientes y la rentabilidad del procedimiento e individualizando la preparación endometrial en cada mujer.

BIBLIOGRAFÍA

1. Registro Nacional de Actividad 2017. Sociedad Española de Fertilidad. Último acceso: 3-3-2020. Disponible en: https://registrosef.com/public/docs/sef2017_IAFIVm.pdf
2. Assisted Reproductive Technologies National Summary Report. 2016. Centers for Disease Control and Prevention.
3. De Geyter CH, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: the European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod.* 2018;33:1586-601.
4. Yarali H. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and metaanalysis. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33:1287-304.
5. Van de Vijver A, Polyzos NP, Van Landuyt L, De Vos M, Camus M, Stoop D. Cryopreserved embryo transfer in an artificial cycle: is GnRH agonist down-regulation necessary? *Reprod Biomed Online.* 2014;29:588-94.
6. Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bon MA, Sciajno R, Flamigni C. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril.* 2002;77:956-60.
7. Glujovsky D, Pesce R, Fiszbajn G, Sueldo C, Hart RJ, Clapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;1:CD006359.
8. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke R. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;7:CD003414.
9. Mounce G, McVeigh E, Turner K, Child TJ. Randomized, controlled pilot trial of natural versus hormone replacement therapy cycles in frozen embryo replacement in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2015;104:915-20.
10. Azimi Nekoo E, Chamani M, Shahrokh Tehrani E, Hossein Rashidi B, Davari Tanha F, Kalantari V. Artificial endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with depot gonadotropin releasing hormone agonist in women with regular menses. *J Fam Reprod Health.* 2015;9:1-4.
11. Davar R, Eftekhar M, Tayebi N. Transfer of cryopreserved-thawed embryos in a cycle using exogenous steroids with or without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist. *J Med Sci* 2007;7:880-3.
12. El-Toukhy T, Taylor A, Khalaf Y. Pituitary suppression in ultrasound-monitored frozen embryo replacement cycles. A randomised study. *Hum Reprod.* 2004;19:874-9.
13. Loh SKE, Ganesan G, Leong N. Clomid versus hormone endometrial preparation in FET cycles. 17th World Congress on Fertility and Sterility, Nov 25-30; Melbourne, 2001.
14. Ramos J, Caligara C, Tocino A, Rodríguez I, Carranza F, Fernández-Sánchez M. Prospective randomized study to compare frozen-thawed embryo transfer cycles outcome in women with function ovaries and HRT for endometrium preparation with or without prior GnRH α suppression. *Fertil Steril.* 2007;88(suppl. 1):S114-S115.
15. Simon A, Hurwitz A, Zentner B, Bdohad Y, Laufer N. Transfer of frozen-thawed embryos in artificially prepared cycles with and without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression: a prospective randomised study. *Hum Reprod.* 1998;13:2712-7.
16. Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio T. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33:873-84.
17. Remohí J, Gutiérrez A, Vidal A, Tarin JJ, Pellicer A. The use of gonadotrophin-releasing hormone analogues in women receiving oocyte donation does not affect implantation rates. *Hum Reprod.* 1994;9:1761-4.

18. Neuspiller F, Levy M, Remohí J, Ruiz A, Simón C, Pellicer A. The use of long and short acting forms of gonadotrophin-releasing hormone analogues in women undergoing oocyte donation. *Hum Reprod.* 1998;13:1148-51.
19. Gutiérrez A, Hernández F, Mendoza S, Monroy E, Pérez-Petia E, Gallardo E. Nafarelin acetate vs. leupolide acetate in woman with ovarian function undergoing oocyte donation. 55th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, 1999.
20. Tocino A, Caligara C, Ramos J, Carranza F, González A, Fernández-Sánchez M. Prospective randomized study to compare use of daily vs depot GnRh analogue in endometrial preparation for oocyte donations cycles in recipients. *ASRM Anual Meeting 2007. Fertil Steril.* 2007; 88(suppl. 1):S261.
21. Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC. Depot versus daily administration of gonadotrophin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005;1:CD002808.
22. Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, Macklon NS, Colhen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and metaanalysis. *Hum Reprod Update.* 2013;19:458-70.
23. Al Shawaf T, Yang D, Al Magid Y, Seaton A, Iletubosin F, Craft I. Ultrasonic monitoring during replacement of frozen/thawed embryos in natural and hormone replacement cycles. *Hum Reprod.* 1993;8:2068-74.
24. Queenan Jt Jr, Veeck LL, Seltman HJ, Muasher SJ. Transfer of cryopreserved-thawed pre-embryos in a natural cycle or a programmed cycle with exogenous hormonal replacement yields similar pregnancy results. *Fertil Steril.* 1994; 62:545-50.
25. Gelbaya TA, Nardo LG, Hunter HR, Fitzgerald CT, Horne G, Pease EE, et al. Cryopreserved-thawed embryo transfer in natural or down-regulated hormonally controlled cycles: a retrospective study. *Fertil Steril.* 2006; 85:603-9.
26. Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol as a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles. *Fertil Steril.* 2010; 93:416-22.
27. Tanos V, Friedler S, Zajicek G, Neiger M, Lewin A, Schenker JG. The impact of endometrial preparation on implantation following cryopreserved-thawed embryo transfer. *Gynecol Obstet Invest.* 1996;41:227-31.
28. Blockeel C, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Polyzos N, Tournaye H. A fresh look at the freeze-all protocol: a SWOT analysis *Hum Reprod.* 2016;31:491-7.
29. Tomas C, Alsbjerg B, Martikainen H, Humaidan P. Pregnancy loss after frozen-embryo transfer-a comparison of three protocols. *Fertil Steril.* 2012;98:1165-9.
30. Groenewoud ER, Cohlen B, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertil Steril.* 2018;109:768-74.
31. Tarlatzis BC, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K, Rombauts L, Devroey P. GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod Up Date.* 2006;12:333-40.
32. García-Velasco JA, Kupesic S, Pellicer A. Follicular and endocrine profiles associated with different antagonist regimens: a randomized controlled trial. *Reprod Biomed Online.* 2012;24:153-62.
33. Tan HH, Yeong CT, Lok KES. Perinatal outcome of pregnancies after inadvertent exposure to gonadotrophin-releasing hormone analogue. *Austr N Z J Obstet Ginecol.* 2006;46:336-40.
34. Al-Innany HG, Youssef M, Broekmans FJ, Sterenburg MD, Smit JG, Abouu-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;115:CD001750.
35. Hernández ER. Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists. *Hum Reprod.* 2000;15(6):1211-6.

36. Simón C, Oberye J, Bellver J, Vidal C, Bosch E, Horcajadas JA, et al. Similar endometrial development in oocyte donors treated with either high-or standard dose GnRH antagonist compared to treatment with a GnRH agonist or in natural cycles. *Hum Reprod.* 2005;20:3318-27.
37. Martínez F, Latre L, Clua L, Rodríguez I, Coroleu B. Replacing GnRH agonists with GnRH antagonists in oocyte recipient cycle did not adversely affect the pregnancy rates. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159:355-98.
38. Palmerola KL, Hsu JY, Grossman LC, Sauer MV, Lobo RA. Repeated doses of GnRH antagonist at midcycle in artificial frozen embryo transfer cycles may not affect pregnancy outcomes. *Gynecol Endocrinol.* 2017;33:301-5.
39. Vidal C, Giles J, Garrido N, Remohí J, Simón C, Bellver J, Pellicer A. GnRH antagonist for endometrial priming in oocyte donation programme: a prospective, randomized controlled trial. *RBMO.* 2018;37;4:415-24.



¿HASTA CUÁNDO MANTENER EL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA?

Eric Saucedo de la Llata

INTRODUCCIÓN

Por diferentes motivos, cada vez es más común que las parejas que buscan un embarazo y no lo consiguen deban recurrir a tratamientos de reproducción asistida. Es tarea de todos los especialistas que trabajamos con este tipo de pacientes encontrar estrategias que permitan conseguir el mayor porcentaje de éxito, traducido en el nacimiento de un hijo sano, con la menor cantidad de efectos colaterales y con el menor costo posible. Hoy día, más de un millón y medio de parejas al año alrededor del mundo necesitan recurrir a algún tipo de técnica de reproducción asistida para poder ser padres¹.

En la última década han existido modificaciones importantes en las conductas de los centros de reproducción. Técnicas más eficientes en la vitrificación embrionaria han llevado a un incremento en la estrategia denominada *freeze-all*, y esto, unido a un incremento en la demanda de los ciclos de recepción de ovocitos, ha hecho que cada vez sea más común la realización de transferencias de embriones congelados².

Según los datos publicados por el registro de la Sociedad Española de Fertilidad, dos tercios de las transferencias realizadas lo fueron en un endometrio que debió ser preparado previamente por tratarse de embriones criopreservados o embriones frescos procedentes de tratamiento de donación de ovocitos. Determinar la manera ideal para preparar un endometrio receptivo que ocasione el mejor índice de embarazos y el menor número de abortos es una de las principales metas de la medicina reproductiva, y uno de los puntos esenciales será demostrar si el empleo del ciclo

natural aporta alguna ventaja respecto al uso de la terapia de reemplazo hormonal o ciclo artificial en sus diferentes modalidades.

En el ciclo natural existe una preparación endometrial secundaria al desarrollo del folículo ovárico dominante, mientras que en el ciclo artificial se da un crecimiento y maduración endometriales ocasionados por la administración secuencial exógena de estrógenos y progesterona. Tras numerosas revisiones bibliográficas, no se ha podido probar superioridad en términos de tasa de gestaciones para ninguna de estas estrategias sobre la otra³.

Mackens *et al.* publicaron en 2017⁴ una revisión donde se analizaban los diferentes protocolos de preparación endometrial utilizados para la TEC, y que concluyó que el número de estudios de alta calidad publicados es escaso y no ofrece conclusiones definitivas que apoyen una estrategia terapéutica sobre otra. En cualquier caso, reconocen los autores, es necesario y conveniente un mayor número de investigaciones en este tema.

Si el consenso para definir la preparación endometrial óptima es pobre debido a la falta de investigaciones de calidad, impresiona aún más la ausencia de estudios donde se analice el momento ideal para suspender el reemplazo hormonal en los ciclos de TEC. De hecho, la mayoría de los datos disponibles acerca del momento de abandonar el soporte de la fase lútea (SFL) provienen de estudios realizados en ciclos de fecundación *in vitro* (FIV) con transferencia en fresco.

CONCEPTO DE «CAMBIO LÚTEO-PLACENTARIO»

El trabajo clásico de Csapo⁵ demostró que la práctica de una lutectomía (exéresis del cuerpo lúteo) durante las primeras semanas de gestación conducía al aborto a menos que se suplementase con progesterona.

Una justificación fisiológica que podría ser válida para la suspensión del apoyo de la fase lútea y que ha sido argumentada en diferentes publicaciones es el momento en el que se inicia la esteroidogénesis por parte de la placenta durante el llamado «cambio lúteo-placentario» (*luteoplacental shift*). De acuerdo con el estudio de Scott *et al.*, este cambio podría ocurrir a partir de la quinta semana de gestación⁶.

Otro estudio que analizó este proceso es el presentado por Gavrizia *et al.* en la reunión anual de la ASRM en 2017⁷ y cuyo objetivo principal fue definir el momento en el que se verificaba en mujeres a quienes se les había realizado una TEC. Se trata de un estudio retrospectivo que incluye a 262 mujeres a las que se les había realizado la transferencia de un único blastocisto previamente vitrificado. Tras la transferencia se efectuaron determinaciones semanales de estradiol y progesterona. Los autores establecieron que, cuando se producía una elevación de la progesterona sérica por encima de 15 ng/mL o un incremento significativo de

los niveles de estradiol (>500 pg/mL), se consideraba que se había producido el cambio lúteo-placentario. En relación con la progesterona, el 47 % de las pacientes mostraron niveles superiores a 15 ng/mL a las 5 semanas de gestación, el 80 % a las 7 semanas y el 97 % a las 9 semanas. El 100 % de las mujeres llegaron a la cifra establecida a las 10 semanas. Respecto al estradiol, el incremento de sus niveles por encima de 500 pg/mL se registró entre las 6 y las 7 semanas de gestación. Los autores sugieren que las mujeres embarazadas tras una TEC constituyen un excelente modelo para estudiar el desplazamiento, y que este se produciría alrededor de las 7 semanas de gestación. Por último, concluyen que las pacientes que reciben suplementación hormonal con estradiol deben continuarla hasta las 7 semanas, mientras que la suspensión en la administración de progesterona debería ser entre las 8 y las 9 semanas de gestación.

En una de las publicaciones iniciales respecto al momento en el que sucede, Devroey *et al.*⁸ estudiaron en 1990 a 17 mujeres ovariectomizadas que alcanzaron un embarazo tras un tratamiento de recepción de ovocitos. Las pacientes recibieron terapia de reemplazo hormonal con valerato de estradiol y progesterona vaginal micronizada. Se realizaron determinaciones séricas semanales de 17β -estradiol y de progesterona, detectándose un incremento significativo de los niveles de estradiol a las 7 semanas de gestación; sin embargo, el incremento significativo de los niveles de progesterona ocurrió a las 9 semanas. Los autores sugieren que la secreción hormonal placentaria puede ser ya evidente a las 7 semanas de gestación; sin embargo, la administración exógena de estroprogestágenos resultaría indispensable hasta más avanzado el embarazo.

DURACIÓN DEL SOPORTE DE LA FASE LÚTEA EN CICLOS DE FECUNDACIÓN 'IN VITRO' CON INYECCIÓN INTRACITOPLÁSMICA DE ESPERMATOZOIDES Y TRANSFERENCIA EN FRESCO

El empleo de agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas en los protocolos de estimulación ovárica presenta diferentes efectos colaterales, y uno de ellos es la alteración en la funcionalidad del cuerpo lúteo con la consiguiente reducción en la producción de progesterona y el desarrollo de una fase lútea deficiente. Otras posibles causas que se han relacionado con esta disminución en la concentración de progesterona es la reducción en la población de células de la granulosa como consecuencia de la aspiración folicular o la retroalimentación negativa a nivel hipofisiario secundaria a los niveles suprafisiológicos de hormonas esteroideas asociados a la estimulación ovárica⁹.

Existen entre la bibliografía especializada seis ensayos clínicos en los que se valora el momento adecuado para la suspensión de la administración de progesterona en la fase lútea de ciclos de FIV. En algunos de ellos se suspende la progesterona cuando se objetiva una prueba de embarazo positiva, mientras que en otros la ad-

ministración de progesterona se mantiene hasta que se detecta actividad cardíaca embrionaria¹⁰⁻¹⁵.

Rusell *et al.*¹⁶ realizaron dos estudios multicéntricos que evaluaron el empleo de SFL en ciclos de reproducción asistida en diferentes clínicas. La mayoría de estas utilizaba progesterona vaginal en dosis de 400 mg dos veces al día, pero no se pudo constatar consenso acerca de su duración. Mientras que en el 24 % la progesterona se mantuvo hasta el diagnóstico de embarazo mediante la determinación de los niveles plasmáticos de la subunidad β de la gonadotropina coriónica humana o hCG (*human chorionic gonadotropin*), el 40 % continuó el tratamiento hasta las 12 semanas de gestación, e incluso en algunos centros el tratamiento se prolongó más allá de las 12 semanas, lo que venía a demostrar la ausencia en la práctica clínica de una actitud uniforme respecto a la duración del SFL.

Liu *et al.* publicaron en el año 2012¹⁷ un metaanálisis en el que se valoró el tiempo de duración del SFL en pacientes a quienes se practicó una FIV con inyección intracitoplásmica de espermatozoides o ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*). Se incluyeron seis estudios aleatorizados (1201 mujeres) que estudiaban los efectos de una detención temprana. Cuando se comparó el SFL y detención temprana con el tratamiento convencional, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de gestaciones (*odds ratio* [OR]: 0,97; intervalo de confianza al 95 % [IC95]: 0,90-1,05), de abortos (OR: 1,01; IC95: 0,74-1,38) o de nacidos vivos (OR: 0,95; IC95: 0,86-1,05).

Watters *et al.* han publicado recientemente¹⁸ un nuevo metaanálisis con la inclusión de 1627 pacientes en el que el SFL durante un período largo de tiempo se comparó con el SFL durante un período corto en mujeres que realizaban un ciclo de FIV/ICSI. En ambos grupos se obtuvieron tasas similares de embarazo clínico evolutivo (OR: 0,98; IC95: 0,91-1,05), de abortos (OR: 0,91; IC95: 0,69-1,20) y de nacidos vivos (OR: 0,94; IC95: 0,88-1,00). Estos datos apuntan a que el SFL con progesterona en ciclos de FIV/ICSI más allá de la prueba de embarazo positiva podría no ser necesaria.

A pesar de las pruebas publicadas, la mayoría de los centros de reproducción mantienen el apoyo con progesterona hasta la semana 8 de gestación¹⁹, fundamentalmente por el temor a que se produzca un aborto durante las primeras semanas y a que la interrupción de la gestación pudiera ser atribuida a la suspensión prematura de la administración de progesterona. Sin embargo, en 2011 Griesinger²⁰ analizó la necesidad de prolongar el SFL en las gestaciones conseguidas tras FIV/ICSI. Si bien la mayoría de los clínicos consideraba que esta suplementación hormonal era «barata, segura y fácil de administrar», existen publicaciones que sugerirían la posibilidad de efectos teratógenos de la administración de progesterona durante la gestación temprana. En esta publicación, el investigador también definió el tamaño muestral necesario para que un estudio pueda proporcionar conclusiones definitivas acerca del momento

ideal para suspender el SFL, tamaño que estableció en 3140 mujeres. Asimismo, expresó la necesidad de un mayor número de estudios bien diseñados (incluso con grupo placebo) dirigidos a poblaciones específicas (pacientes con síndrome del ovario poliquístico, endometriosis o mujeres de edad reproductiva avanzada, entre otros). Respecto a los casos de TEC en ciclo artificial, el autor concluye que, ante la ausencia de estudios en este tipo de pacientes, no estamos todavía en disposición de poder definir el momento ideal para suspender el SFL.

DURACIÓN DEL SOPORTE DE LA FASE LÚTEA EN CICLOS DE TRANSFERENCIA DE CONGELADOS

La TEC o de embriones procedentes de ciclos de donación de ovocitos puede realizarse en ciclo artificial o en ciclo natural. En el ciclo artificial, la preparación endometrial se realiza mediante la administración exógena y secuencial de estrógenos y progesterona. En el ciclo natural, la preparación del endometrio se consigue a través de las hormonas esteroideas endógenas producidas por el folículo ovárico en desarrollo. En esta estrategia, el momento para transferir el embrión se determina en función de la detección del pico endógeno de LH (ciclo natural «verdadero») o tras la administración de hCG para la inducción de la rotura del folículo y su posterior luteinización (ciclo natural «modificado»).

Aunque este tema será tratado en el capítulo dedicado a la transferencia embriónica en ciclo natural, podemos avanzar que no se ha establecido con claridad la conveniencia de suplementar la fase lútea con hCG o con progesterona en las TEC realizadas en ciclo natural «verdadero» o en ciclo natural modificado. En caso de utilizar SFL, si bien no hay estudios sobre el momento adecuado para suspender la suplementación, parece razonable pensar que, una vez que los niveles de hCG- β son similares a los obtenidos tras la administración exógena de hCG, el estímulo del cuerpo lúteo sería suficiente para mantener niveles hormonales adecuados para el desarrollo del embarazo durante el primer trimestre. En consecuencia, no tendría sentido mantener la administración de progesterona o de hCG más allá de la semana 5 de gestación.

En lo que respecta al tema central de esta monografía, la mayoría de las transferencias de embriones congelados y la totalidad de las transferencias de embriones frescos procedentes de ciclos de donación de ovocitos se realizan utilizando pautas de preparación endometrial en ciclo sustituido o artificial. Esta situación es única, ya que el embarazo se desarrolla durante el primer trimestre en ausencia de cuerpo lúteo y, por tanto, el aporte hormonal necesario para el establecimiento y mantenimiento del embarazo tendrá un origen exclusivamente exógeno.

No existen estudios controlados sobre el momento adecuado para la finalización del tratamiento estroprogestágeno en las gestaciones conseguidas tras TEC en ciclo ar-

tificial, si bien, sobre la base de todo lo expuesto, hasta el momento actual no existe una evidencia suficiente en la literatura médica que apoye la suspensión temprana del tratamiento hormonal en estos casos. La mayoría de los profesionales optan por mantener el tratamiento hasta la semana 12 de gestación, aunque probablemente podría suspenderse con seguridad algunas semanas antes. Es difícil que en los próximos años obtengamos evidencias que sustenten un cambio de actitud debido a la dificultad para realizar ensayos controlados y a los posibles riesgos asociados.

Por tanto, y a modo de conclusiones, las recomendaciones para suspender la suplementación hormonal en los tratamientos de preparación endometrial serían:

- Ciclo natural o ciclo natural modificado: no estaría justificada la continuación de la medicación hormonal más allá de la semana 5 de gestación.
- Ciclo artificial: suspender la terapia hormonal a partir de la semana 12 de gestación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adamson GD, De Mouzon J, Chambers GM, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology: world report on assisted reproductive technology, 2011. *Fertil Steril.* 2018;110(6):1067-80.
2. Blockeel C, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Tournaye H. A fresh look at the freeze-all protocol: a SWOT analysis. *Hum Reprod.* 2016;31:491-7.
3. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertil Steril.* 2018;109(5):768-74.
4. Mackens S, Santos-Ribeiro S, Van de Vijver A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, et al. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Hum Reprod.* 2017;32(11):2234-42.
5. Csapo AI, Pulkkinen M. Indispensability of the human corpus luteum in the maintenance of early pregnancy. Luteectomy evidence: *Obstet Gynecol Surv.* 1978;33:69-81.
6. Scott R, Navot D, Liu HC, Rosenwaks Z. A human in vivo model for the luteoplacental shift. *Fertil Steril.* 1991;56:481-4.
7. Gavrizia S, Silverberg K. Examining the luteal placental shift in pregnancy after frozen embryo transfer. *Fertil Steril.* 2017;108:375-6.
8. Devroey P, Camus M, Palermo G, Smits J, Van Waesberghe L, Wisanto A, et al. Placental production of estradiol and progesterone after oocyte donation in patients with primary ovarian failure. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162:66-70.
9. Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E, Donoso P, Devroey P. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Hum Reprod Update.* 2007;13:581-90.
10. Prietl G, Diedrich K, Van der Ven HH, Luckhaus J, Krebs D. The effect of 17 alfa-hydroxyprogesterone caproate/oestradiol valerate on the development and outcome of early pregnancies following in vitro fertilization and embryo transfer: a prospective and randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 1992;7:1-5.
11. Nyobe Andersen A, Popovic-Todorovic B, Schmidt KT, Loft A, Lindhard A, Hojgaard A, et al. Progesterone supplementation during early gestations after IVF or ICSI has no effect on the delivery rates: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2002;17:357-61.

12. Aboulghar MA, Amin YM, Al-Inany HG, Aboulghar MM, Mourad LM, Serour GI, et al. Prospective randomized study comparing luteal phase support for ICSI patients up to the first ultrasound compared with an additional three weeks. *Hum Reprod.* 2008;23:857-62.
13. Goudge CS, Nagel TC, Damario MA. Duration of progesterone-in-oil support after in vitro fertilization and embryo transfer: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2010;94:946-51.
14. Kyrou D, Fatemi HM, Zepiridis L, Riva A, Papanikolaou EG, Tarlatzis BC. Does cessation of progesterone supplementation during early pregnancy in patients treated with recFSH/GnRH antagonist affect ongoing pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2011;26:1020-24.
15. Kohls G, Ruiz F, Martínez M, Hauzman E, de la Fuente G, Pellicer A, et al. Early progesterone cessation after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a randomized, controlled trial. *Fertil Steril.* 2012;98:858-62.
16. Rusell R, Kingsland C, Alfirevic Z, Gazvani R. Duration of luteal support after IVF is important, so why is there no consistency in practice? The results of a dynamic survey of practice in the United Kingdom. *Hum Reprod.* 2015;18:43-7.
17. Liu XR, Mu HQ, Shi Q, Xiao XQ, Qi HB. The optimal duration of progesterone supplementation in pregnant women after IVF/ICSI: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012;10:107.
18. Watters M, Noble M, Child T, Nelson S. Short versus extended progesterone supplementation for luteal phase support in fresh IVF cycles: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2020;40:143-50.
19. Tomic V, Kasum M, Vucic K. The role of luteal support during IVF: a qualitative systematic review. *Gynecol Endocrinol.* 2019;29:1-6.
20. Griesinger G. Is it time to abandon progesterone supplementation of early pregnancy after IVF? *Hum Reprod.* 2011;26:1017-9.

CICLO NATURAL COMO MÉTODO DE PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

Joana Peñarrubia Alonso y Manuel Álvarez Almodóvar

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de reproducción en el siglo XXI deben participar de, al menos, dos premisas fundamentales. La primera consistiría en tener presente y priorizar en cualquier momento la seguridad de nuestras pacientes. La segunda implicaría tomar en consideración tanto las preferencias como la comodidad de estas a la hora de su realización.

- Tanto la premisa de la seguridad como otros muchos motivos (la transferencia diferida o *freeze all*, o las técnicas de diagnóstico genético preimplantacional entre otras) han conllevado un incremento en el porcentaje de las transferencias de embriones congelados (TC) reconocido por las diferentes sociedades científicas. Así, según datos procedentes de los Centers for Disease Control and Preventions estadounidenses en 2014, uno de cada dos embriones transferidos en ese país había sido congelado¹. En Europa, los datos más recientes hacen referencia al incremento progresivo en el porcentaje de TC respecto a las transferencias en fresco de la fecundación *in vitro* (FIV), siendo ya del 37,8% en 2014 según la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)².
- Por otro lado, la premisa de la *comodidad* nos permitiría establecer la preparación endometrial para la criotransferencia embrionaria en función de la ovulación espontánea de las pacientes, lo que se conoce como ciclo natural «verdadero» (CNv-TC). De este modo, la paciente no precisa un tratamiento hormonal exógeno (CA-TC), al que generalmente no considera muy «amigable», e intentamos una reducción en los costos del proceso. Con ello asumimos la necesidad de la monitorización del ciclo menstrual, así como la imposibilidad de programar el ciclo. Si a todo ello sumamos el hecho de que todavía no existe un consenso respecto al mejor método de preparación endometrial para la realización de la TC³, así como la aparición

reciente de publicaciones respecto a los posibles beneficios obstétricos del primero respecto del segundo⁴, tendremos las causas que justifican el interés creciente en los llamados ciclos naturales (CN-TC).

MODALIDADES DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA EN CICLO NATURAL

En contraste con los complejos protocolos de estimulación empleados para estimular el desarrollo folicular múltiple en FIV, los protocolos para la TC son simples y su objetivo principal es conseguir una adecuada preparación del endometrio para recibir el embrión previamente descongelado.

Con la finalidad de optimizar las tasas de gestaciones, el desarrollo embrionario y endometrial deben estar sincronizados. En el CN, la preparación del endometrio se consigue a través de las hormonas esteroideas endógenas producidas por el folículo ovárico en desarrollo. El momento para transferir el embrión se determina en función de la detección del pico endógeno de hormona luteinizante o LH (*luteinizing hormone*), propia del CNv-TC, o tras la administración de gonadotropina coriónica humana o hCG (*human chorionic gonadotropin*) para la inducción de la rotura del folículo y su posterior luteinización, propia del ciclo natural modificado (CNm-TC). En ambos casos, las tasas de gestaciones van a depender de la identificación del momento de la ovulación y del cálculo del período de receptividad endometrial óptima. En este sentido, hay que tener en cuenta que la práctica de la transferencia en CN implica el riesgo de una ovulación inesperada y no observada. En estos casos no se puede abordar una programación adecuada de la descongelación y transferencia embrionarias y, en consecuencia, puede estar indicada la cancelación del ciclo (7-12 % de los casos)^{5,6}.

Una modalidad diferente de CNv-TC, descrita en un número limitado de estudios^{7,8}, es aquella en la que el momento de la ovulación se establece cuando se objetiva la desaparición del folículo dominante en la ecografía. Este tipo de protocolo exige de la monitorización ecográfica diaria del crecimiento del folículo dominante hasta comprobar su rotura, programando la transferencia embrionaria con dos días de adelanto respecto a las otras modalidades descritas previamente.

MONITORIZACIÓN DEL CICLO NATURAL

El CNv-TC requiere la monitorización regular de los niveles de LH en sangre o en orina. Cuando se observa un incremento en dichos niveles, se asume que la ovulación ocurrirá 36-40 horas más tarde⁹. Sin embargo, el pico de LH en orina se produce con 21 horas de retraso respecto a su aparición en sangre, lo cual ha de tenerse en consideración cuando se interpretan los resultados en orina¹⁰. Otro problema asociado a la detección del pico espontáneo de LH es la variación del momento en el que se produce entre ciclos y entre pacientes¹¹. Con la finalidad de valorar de forma correcta

los niveles, estos deben determinarse al menos diariamente y, a ser posible, dos veces al día. Por otra parte, los kits para determinar la LH en orina adolecen de una notable variabilidad en su nivel de detección, lo cual entraña el riesgo de incurrir en hasta un 30 % de falsos negativos, un hecho referido con frecuencia por las pacientes¹².

No existe una definición uniforme de lo que constituye un pico de LH en sangre. Históricamente, un pico de LH se ha descrito como un incremento de los niveles de esta hormona por encima del 180 % de los niveles observados en las 24 horas anteriores¹³. Sin embargo, en la práctica clínica se han utilizado otras definiciones, como la presencia de niveles superiores al doble de la media de las determinaciones anteriores⁸ o, simplemente, por encima de 10 UI/mL¹.

Con la finalidad de eliminar las desventajas asociadas a la monitorización estricta de los niveles de LH, se ha utilizado con frecuencia la descarga ovulatoria con hCG (CNm-TC). Este manejo no requiere el control de los niveles de LH, pero sí la evaluación ecográfica seriada para comprobar el crecimiento correcto del folículo dominante y asegurar el momento óptimo para la administración de hCG. Cuando el folículo dominante alcanza un diámetro adecuado (17-18 mm), se administra una dosis de hCG (hCG urinaria 5000-10000 UI por vía intramuscular, o hCG recombinante 250 µg por vía subcutánea) para inducir la maduración ovocitaria final y la ovulación, la cual tendrá lugar entre 36 y 38 horas después⁹.

En cuanto al grosor endometrial (GE), no se ha establecido el valor umbral óptimo en el CN y, en general, se ha realizado una extrapolación a partir de los datos de la transferencia en fresco o tras la preparación artificial del endometrio. Así, en los estudios en los que se hace referencia al espesor óptimo del endometrio con vistas a la transferencia embrionaria en CN, el dato más aplicado es la existencia de un grosor superior a 7 mm.

Independientemente del método utilizado para monitorizar los niveles de LH (sangre u orina), el CNv-TC requiere un número superior de controles respecto al CNm-TC y, además, se asocia a un menor control del ciclo, a una menor flexibilidad (flexibilidad que permitiría evitar la transferencia durante el fin de semana) y a un mayor riesgo (de hasta un 6 % más) de cancelación del ciclo¹⁴. Todo ello hace que pueda ser más molesto tanto para la paciente como para el médico y el laboratorio⁷. A día de hoy no existen estudios aleatorizados que valoren las preferencias y la relación coste-efectividad de las dos modalidades de CN-TC.

EFFECTOS DE LA ELEVACIÓN DE LOS NIVELES DE PROGESTERONA Y HORMONA LUTEINIZANTE EN EL CICLO NATURAL MODIFICADO

Numerosos estudios han demostrado una asociación entre la elevación de los niveles de progesterona en fase folicular tardía de la estimulación ovárica en ciclos de FIV (>1,5 ng/mL)

y una reducción en las tasas de gestaciones tras transferencia embrionaria en fresco^{15,16}. Este efecto deletéreo de la elevación de la progesterona sugiere una aceleración en la maduración del endometrio que conduce a una asincronía embrión-endometrio, habiéndose descrito en estos casos alteraciones en la expresión génica del endometrio con desplazamiento de la ventana de implantación¹⁷.

En el CN, los niveles de progesterona pueden empezar a aumentar alrededor de 12 horas antes del inicio del pico de LH. Así, un estudio reciente¹⁸ en el que se realizaron controles ecográficos y hormonales en voluntarias sanas mostró que un 10 % de las mujeres presentaban niveles elevados de progesterona (>5 nmol/L o 1,57 ng/mL) en presencia del folículo dominante en la ecografía. En consecuencia, es posible que en el momento de la administración de hCG en el CNm-TC los niveles de progesterona estén elevados, lo que podría llevar a una desincronización entre el embrión y el endometrio. Este hecho ha llevado a algunos autores a apoyar la monitorización de los niveles de LH y de progesterona en las pacientes que realizan un CNm-TC y a cancelar la transferencia embrionaria si se detecta elevación. En un reciente estudio de Groenwoud *et al.*¹⁹ que incluía 271 pacientes que realizaban CNm-TC, se detectó una elevación de la progesterona por encima de 1,5 ng/mL en el 23,6 % de las mujeres y signos de luteinización prematura (elevación de niveles de progesterona y de LH en presencia de folículo dominante en la ecografía) en el 44,3 %, sin que se observara un efecto deletéreo en las tasas de gestaciones ni de nacidos vivos. Sobre la base de estos hallazgos, los autores concluyen que la monitorización ecográfica del crecimiento del folículo dominante es una forma efectiva y segura para planificar la transferencia en ciclos CNm-TC, sin que sea necesario el control de los niveles de LH y progesterona. En el mismo sentido, otro estudio²⁰ demostró que la monitorización intensiva del ciclo con controles hormonales y ecográficos seriados no aumentaba la tasa de gestación en la transferencia en CN en comparación con la monitorización ecográfica aislada.

Sin embargo, en el estudio de Fatemi *et al.*⁵ la elevación de los niveles de LH se observó en el 36 % de pacientes que realizaban CNm-TC, asociándose este hecho a una reducción significativa de la tasa de gestación. Hallazgos similares se obtuvieron en el estudio de Litwicka *et al.*²¹, en el que la elevación de los niveles de esta hormona por encima de 13 UI/L (19 % de las pacientes) se asoció a una reducción en las tasas de implantaciones y de gestaciones clínicas. Esto ha llevado a algunos autores a apoyar la monitorización estricta del ciclo, con ecografía y determinaciones hormonales (estradiol, progesterona y LH), con el fin de optimizar los resultados tras la transferencia en CN²².

PROGRAMACIÓN DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

La programación de la TC debe garantizar que el blastocisto preimplantatorio encuentre el estado endometrial óptimo durante la ventana de implantación.

En los diferentes estudios sobre el empleo del CN para la programación, se observa una gran variabilidad y confusión en torno al momento adecuado para programar la descongelación y transferencia embrionarias. Por este motivo, es importante conocer los hechos fisiológicos asociados a la ovulación y su efecto sobre la receptividad endometrial.

Se postula que, en el CN, la apertura de la ventana de implantación se produce 6 días después de la elevación posovulatoria de la progesterona y que esta ventana de implantación tendría una duración de 2-4 días (de LH+7 a LH+11). Cuando se utiliza el pico de LH para planificar la transferencia en el CNv-TC, se ha de tener en cuenta que este pico puede producirse a lo largo de un período de 30 horas y que la progesterona puede empezar a aumentar a niveles de 1-3 ng/mL entre 2 y 3 días antes de la ovulación debido a la estimulación de las células de la granulosa por la propia LH. Este incremento preovulatorio de la progesterona probablemente contribuya a la inducción de la ventana de implantación en el endometrio. El momento de la ovulación puede variar entre 24 y 56 horas tras el pico endógeno de LH²³; tras la ovulación, debido a su producción por el cuerpo lúteo (CL), los niveles de progesterona se incrementan abruptamente (3-10 ng/mL).

A diferencia del CNv-TC, en el CNm-TC se considera que la ovulación se produce entre 36 y 48 horas después de la administración de hCG. Datos obtenidos a partir de los resultados de ciclos de inseminación artificial sugieren que las tasas de gestaciones son más altas si la inseminación se realiza entre 36 y 42 horas después de la administración de hCG¹⁸ pero entre 18 y 24 horas después del pico espontáneo de LH²⁴. En consecuencia, podemos considerar que en caso de CNv-TC la transferencia debería realizarse un día antes respecto al CNm-TC. En el caso de que se utilice la determinación de LH en orina, no debería aplicarse esta diferencia, ya que se ha comunicado hasta un día de retraso en el pico urinario de LH respecto de su detección en sangre¹⁰.

Sobre la base de los razonamientos anteriores, y para ayudar a la homogeneización y comparabilidad de futuros estudios, Mackens *et al.*²⁵ proponen la siguiente estrategia (fig. 1):

- A) *CNm-TC*: realizar la transferencia tras la hCG sumando 2 días a la «edad» del embrión; es decir, en embriones de 3 días realizar la transferencia 5 días después de la hCG. En blastocistos, transferir 7 días después de la administración de hCG.
- B) *CNv-TC*: realizar la transferencia tras el pico de LH sumando 1 día a la «edad» del embrión; es decir, en embriones de 3 días realizar la transferencia 4 días después del pico de LH. En estadio de blastocisto, transferir 6 días después del pico de LH.

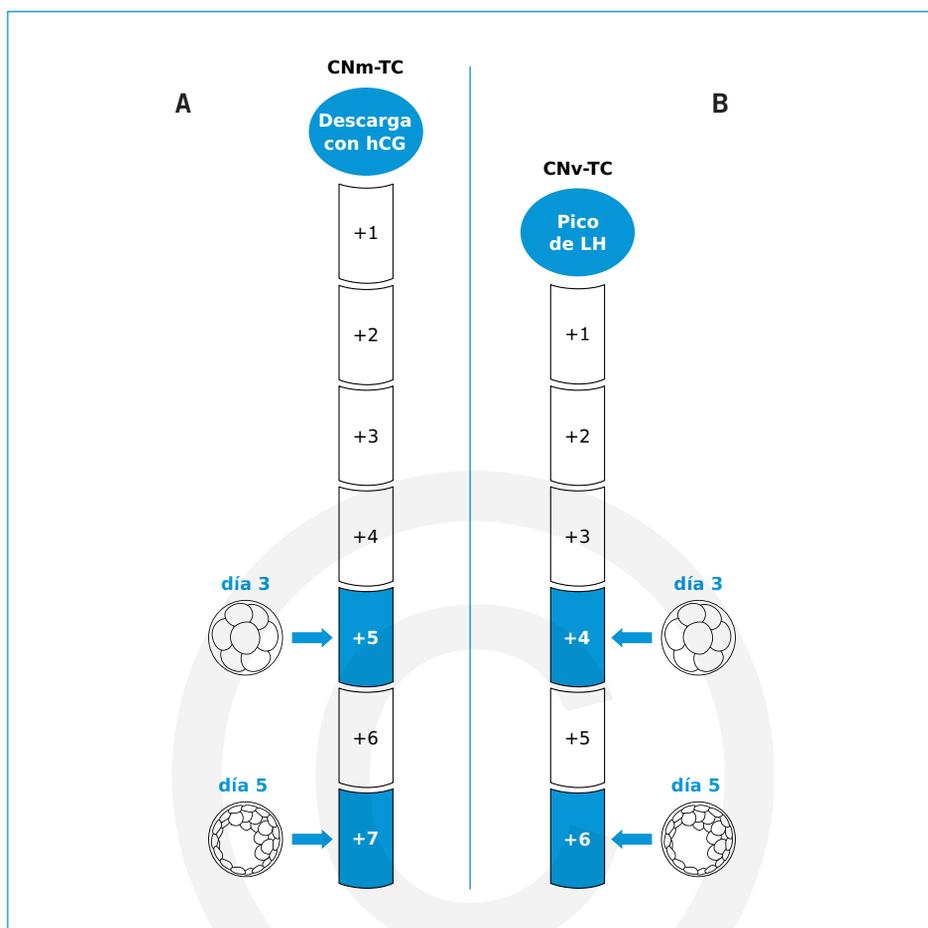


Figura 1. Estrategias para la planificación de la transferencia de embriones congelados (TC). A: en ciclo natural modificado (CNm), con gonadotropina coriónica humana (hCG); B: en ciclo verdadero (CNv), con hormona luteinizante (LH).

Ilustración: Estudio de Ilustración Científica NorArte.

RESULTADOS DEL CICLO NATURAL

La valoración de los resultados de este tipo de tratamientos puede resultar enormemente compleja, ya que son múltiples y diversas las diferentes combinaciones comparables. Pero también puede resultar enormemente sencilla. Al día de hoy, tanto la última revisión de la Cochrane Database of Systematic Reviews³ como los más recientes metaanálisis^{6,26-28} realizados que evalúan las diferentes formas de preparación endometrial para la realización de la TC (incluyendo CNv-TC, CNm-TC y CA-TC), así como un reciente estudio aleatorizado²⁹, finalizan siempre con la misma conclusión: no existe en este momento una evidencia científica respecto a la superioridad de

una forma de preparación endometrial sobre la otra. Así pues, en las próximas líneas intentaremos ir dando respuesta a diversos interrogantes en torno al CN-TC.

¿Mejora los resultados del ciclo natural el soporte de la fase lútea?

La argumentación para justificar el soporte de la fase lútea (SFL) vendría motivada por el hecho de que las pacientes podrían presentar un déficit de fase lútea a pesar de la existencia de ciclos ovulatorios³⁰ al tratarse de casos con infertilidad o subfertilidad. Es difícil llegar a una conclusión definitiva al respecto, sobre todo teniendo en cuenta la disparidad en cuanto a las dosis de progesterona utilizadas, así como en lo referente a las diferentes vías de administración de esta.

Algunos autores postulan que el beneficio se establecería básicamente en CNv-TC y no en CNm-TC¹. Para dicha conclusión, se basan en los resultados de un único estudio prospectivo aleatorizado³¹ y en un estudio retrospectivo³².

- En el primero, se observaron tasas de embarazos clínicos significativamente superiores con la administración de progesterona por vía vaginal 400 µg/día respecto al tratamiento sin SFL (*odds ratio* [OR]: 1,6; intervalo de confianza al 95 % [IC95]: 1,1-2,5), pero no al analizar las tasas de nacido vivo (TNV).
- En el segundo, las TNV fueron significativamente superiores con la administración de progesterona por vía vaginal 200 µg/día frente a tratamiento sin SFL (OR: 1,5; IC95: 1,1-2,2).
- En el tercero, por el contrario, un estudio retrospectivo reciente³³ equiparó las tasas de embarazos clínicos en CNv-TC con SFL o sin ella, y en ambos casos resultaron ser significativamente superiores a las de CNm-TC con SFL (aOR: 1,67; IC95: 1,31-2,12 vs. aOR: 2,18; IC95: 1,64-2,90).

Si ya es difícil establecer el beneficio de la suplementación con progesterona durante la fase lútea del CNv-TC, más aún lo es si hablamos de otros tratamientos, como el basado en los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH [*gonadotropin-releasing hormone*]) o, incluso, de la hCG. El beneficio del agonista se basaría tanto en su efecto hipofisario como sobre el endometrio y el propio embrión. En un reciente metaanálisis³⁴ con seis estudios prospectivos aleatorizados³⁴ (tres de ellos, en CNv-TC), se concluyó que las tasas de embarazos evolutivos eran significativamente superiores en TC con el uso de agonistas de GnRH como SFL (OR: 1,55; IC95: 1,15-2,09). Al subanalizar los datos obtenidos en función de CNv-TC o CA-TC, tanto las tasas de embarazos evolutivos (OR: 2,33; IC95: 1,47-3,69 vs. OR: 1,13; IC95: 0,75-1,69) como las de implantaciones (OR: 1,83; IC95: 1,28-2,63 vs. OR: 1,34; IC95: 0,88-2,02) fueron significativamente superiores en las pacientes que realizaron CNv-TC. Sin embargo, son necesarios más estudios al respecto, tanto por el número total de casos analizados como por la heterogeneidad en cuanto al número y

cuantía de las dosis de agonistas de GnRH administradas e incluso en lo referido a la administración concomitante de hCG en uno de los estudios analizados.

¿Cómo influye el día de la transferencia en los resultados del ciclo natural?

Ya hemos descrito con anterioridad las dificultades que nos encontramos a la hora de monitorizar un CN, así como la importancia de la óptima sincronización embrión-endometrio con vistas a la TC. Sin embargo, y de acuerdo con un reciente estudio retrospectivo³⁵, disponemos de cierta flexibilidad en la programación. Según dicho trabajo, las tasas de embarazos evolutivos (superiores al 60%) no fueron estadísticamente diferentes, tanto si la transferencia se realizó en LH+6 como LH+7 en CNv-TC. De este modo, dispondríamos de un margen de 24 horas para realizar la criotransferencia de blastocistos sin comprometer las tasas de embarazo. Estos resultados inducen a pensar que ha de reducirse la tensión que genera la monitorización de un ciclo espontáneo o, incluso, a tener presente la agenda de la paciente. Un nuevo estudio aleatorizado, actualmente en curso, arrojará luz sobre la existencia o ausencia de diferencia en TNV entre CNm-TC en LH+6 o LH+7, con suplementación de progesterona o sin ella³⁶.

También resulta controvertido si los resultados del CNv-TC pueden verse afectados por la presencia de ciclos menstruales cortos o largos, sobre todo teniendo en cuenta la descripción de una reducción de la fertilidad en la búsqueda natural de un embarazo ante un episodio de fase lútea corta³⁷. Afortunadamente, un estudio retrospectivo reciente³⁸ pero con una muestra considerable (1195 TC de blastocistos) aporta cierta tranquilidad al respecto. En dicho estudio no se aprecian diferencias en TNV en función de que la duración de la fase lútea resultara equiparable, acortada o alargada respecto a la habitual de la paciente. La principal limitación de dicho estudio se encuentra en el hecho de que solo fueron incluidas pacientes con ciclos regulares (de entre 25 y 35 días).

¿Influye el grosor endometrial en los resultados del ciclo natural?

A semejanza de los ciclos en fresco, se establece que un GE insuficiente en la TC puede comprometer nuestros resultados³⁹. En dicha línea se encuentra un reciente estudio retrospectivo que analiza 6181 nacidos procedentes tanto de CNm-TC como CA-TC con embriones en estadificación de células (D+3). Zhang *et al.*⁴⁰ concluyen que un GE por debajo de 8 mm comparado con un GE mayor de 10 mm medido el día de la descarga ovulatoria en CNm-TC y el día previo a la administración de progesterona en CA-TC se correlaciona de modo significativo no solo con una menor tasa de embarazo y una mayor tasa de aborto, sino también con un peso medio al nacimiento significativamente inferior (entre 89 y 108 g). Evidentemente, quedan pendiente de estudio las repercusiones que pueda suponer esa pequeña diferencia a pesar de la significancia.

Últimamente existe un creciente interés en cómo la variación existente entre el GE medido el día de ovulación y el día de la transferencia embrionaria en CNv-TC puede repercutir en los resultados de embarazo. Los resultados a día de hoy resultan contradictorios.

- En un estudio observacional de 3091 TC de un único blastocisto⁴¹, incluyendo 1334 CNv-TC con LPS y 1757 CA-TC, las tasas de embarazo fueron significativamente superiores en los casos donde se constató un incremento en el GE frente aquellos que no, tanto en CNv-TC (55,15 % vs. 49,55 %; $p = 0,00$) como en CA-TC (56,21 % vs. 47,13 %; $p = 0,00$). También describió una correlación positiva entre el porcentaje de incremento en el GE y las tasas de embarazo. Aunque uno de los criterios de inclusión era un GE de más de 7 mm el día de ovulación, encontraron hasta en el 21 % de los casos una disminución superior al 5 % del GE, siendo el porcentaje mayor en CNv-TC (26,24 %) frente a CA-TC (19,63 %), aunque sin diferencias significativas.
- Por el contrario, otros autores defienden la «compactación» del GE en la TC producto de los cambios secretores mediados por la progesterona (crecimiento continuo tanto de vasos como de glándulas, acumulación de glucógeno intraglandular, así como proliferación linfoide y de macrófagos, entre otros), tanto en CNv-TC como en CA-TC⁴². Desafortunadamente, dicho estudio retrospectivo incluyó únicamente 271 CA-TC en blastocisto. No solo las tasas de embarazos evolutivos resultaron ser significativamente superiores en los casos de compactación frente a los que no, sino que a mayor grado de compactación encontraron mayor tasa de embarazos evolutivos. Nuevamente, los casos con GE inferior a 7 mm fueron excluidos. Dicho estudio ha sido criticado tanto por el uso de la ecografía abdominal —y no vaginal— para la medición del GE en el momento de la transferencia como por la alta tasa de compactación descrita respecto al estudio de Bu *et al.* (2019), que también incluía casos de CA-TC (42,4 % vs. 21,9 %)⁴¹.

Son necesarios más estudios al respecto, no solo en aras de mejorar los resultados, sino también para individualizar los tratamientos y comprender los mecanismos moleculares y celulares que sustentan estos procesos.

¿Puede comprometer el ciclo natural el resultado de la transferencia de un embrión euploide?

Resultaría chocante que, una vez obtenido el embrión que nos permitiría optimizar los resultados de embarazo, no diésemos con la formulación adecuada para su transferencia. La escasa evidencia al respecto se resume en un único estudio aleatorizado y otro retrospectivo. El primero⁴³ analizó 236 TC y no encontró diferencias significativas en las tasas de embarazos evolutivos entre CNm-TC y CA-TC. El segundo⁴⁴ analizó 389 TC (214 CN-TC y 175 CA-TC). Las tasas de embarazos evolutivos fueron significativamente superiores en CN-TC (OR: 2,05; IC95: 1,27-3,31; $p = 0,003$), con

unas tasas de abortos equiparables entre ambos grupos. Las debilidades de dicho estudio no solo se centrarían en el carácter retrospectivo y la muestra limitada, sino también en la falta de homogeneidad del CN-TC (con o sin descarga ovulatoria, con o sin suplementación de progesterona), así como en la posible interferencia de los falsos positivos y negativos del estudio cromosómico en los resultados.

INCIDENCIA DE PREECLAMPSIA EN LAS CRIOTRANSFERENCIAS EN CICLO NATURAL

Diferentes estudios, incluidos estudios observacionales⁴⁵⁻⁴⁷, estudios aleatorizados^{48,49} y metaanálisis^{50,51}, han documentado un incremento en el riesgo de preeclampsia en las gestaciones conseguidas tras la TC respecto a la transferencia en fresco. Sin embargo, no es posible establecer a partir de estos estudios si el aumento se debe a factores embrionarios (congelación, transferencia de embriones en estado de blastocisto, biopsia embrionaria en casos de diagnóstico preimplantacional) o uterinos (método de preparación endometrial). Un hallazgo interesante a este respecto es que en un estudio aleatorizado⁵² en el que la mayor parte de las criotransferencias (74 %) se realizaron en CN no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la incidencia de preeclampsia entre ciclos con transferencia embrionaria en fresco o en congelados.

Este hecho sugiere que la preparación endometrial en ciclo artificial para la transferencia de embriones criopreservados (CA-TC) podría constituir un aspecto crítico en el desarrollo de esta complicación gestacional, incrementando el riesgo de preeclampsia y de sus formas graves, respecto a la transferencia en CN tal como se ha descrito en diferentes estudios recientes⁵³⁻⁵⁵. En el estudio de Von Versen-Höyneck *et al.*⁵⁵, las gestaciones conseguidas tras CA-TC presentaron una mayor incidencia de preeclampsia (12,8 % vs. 3,9 %; $p = 0,02$) y de formas graves de preeclampsia (9,6 % vs. 0,8 %; $p < 0,001$) comparadas con las gestaciones tras transferencia en CNm-TC. El CA-TC también se asoció a un mayor riesgo de preeclampsia y de sus formas graves en comparación con la transferencia en fresco tras FIV (12,8 % vs. 4,7 % [$p = 0,047$]), y 9,6 % vs. 2,7 % [$p = 0,04$]). Todo ello lleva a un incremento del riesgo relativo de desarrollar preeclampsia y de preeclampsia grave tras CA-TC respecto a CNm-TC del 2,73 (IC95: 1,14-6,49) y del 6,45 (IC95: 1-94-25,09), respectivamente.

La gestación normal en humanos se caracteriza por importantes cambios en el sistema cardiovascular materno, incluyendo una reducción de la presión arterial media acompañada de un incremento del gasto cardíaco y una disminución de la resistencia vascular periférica que suceden ya en la gestación temprana, antes del completo establecimiento de la unidad fetoplacentaria. Una deficiente adaptación del sistema circulatorio materno durante el primer trimestre de gestación se ha asociado a un incremento de complicaciones gestacionales, incluida la preeclampsia.

Aunque en los protocolos de preparación endometrial para TC se sustituyen tanto el estradiol como la progesterona durante el primer trimestre de gestación, otros productos del CL con acción vasoactiva, importantes para la adaptación cardiovascular materna al embarazo, no son reemplazados, dada la ausencia de CL en este tipo de protocolos. Uno de estos productos es la relaxina, hormona peptídica con un peso molecular de aproximadamente 6 kDa descubierta por Frederick Hisaw en 1926 y con un potente efecto vasodilatador. En la mujer, la relaxina, derivada exclusivamente del CL, muestra niveles que aumentan durante la fase secretora tardía y con un incremento más marcado en caso de gestación, y alcanza un pico al final del primer trimestre. Otro de los productos vasoactivos segregados por el CL y que tampoco es reemplazado en el ciclo artificial es el factor de crecimiento del endotelio vascular, o VEGF (*vascular endothelial growth factor*), que teóricamente también mediaría en la adaptación cardiovascular al embarazo.

Diferentes estudios^{54,56} han puesto en evidencia unos niveles indetectables de relaxina en las pacientes gestantes en ausencia de CL, es decir, tras CA-TC, que vienen a reforzar el concepto de que esta hormona es un producto de producción exclusiva por parte del CL. Por otra parte, en las pacientes que quedan gestantes de forma espontánea (1 CL) o tras la transferencia en fresco en un ciclo de FIV (>1 CL) los niveles de relaxina se correlacionan estrechamente con los niveles de hCG a las 5-6 semanas de gestación, lo cual apoya el papel de la hCG en el estímulo de la producción y secreción de relaxina por el CL en la gestación temprana⁵⁴.

Esta ausencia en la producción de relaxina, y probablemente de otros productos angiogénicos en ausencia de CL, podría explicar las anomalías hemodinámicas observadas en las gestaciones conseguidas tras CA-TC y que podrían explicar el incremento en el riesgo de que estas pacientes sufran preeclampsia. En este sentido, el estudio de Von Versen-Höyneck *et al.*⁵⁷ incluye de forma prospectiva gestaciones únicas viables (>8 semanas) conseguidas con óvulos propios tras gestación espontánea, CNm-TC o inseminación intrauterina (1 CL), tras CA-TC (0 CL) y tras transferencia en fresco tras FIV (>2 CL).

De acuerdo con los resultados de este estudio, la práctica de CA-TC se asocia a una adaptación cardiovascular anormal con una menor distensibilidad arterial central (aórtica), puesta de manifiesto por una atenuación de la reducción fisiológica de la velocidad de onda de pulso y del incremento fisiológico del tiempo de tránsito carótido-femoral esperados en el primer trimestre de gestación. Por su parte, Conrad *et al.*⁵⁸ resaltaron la existencia de un compromiso más generalizado de la función cardiovascular durante el primer trimestre de las gestaciones conseguidas tras CA-TC, concretamente una atenuación en los incrementos fisiológicos del gasto cardíaco, volumen auricular izquierdo y velocidad de la onda diastólica, junto con una menor elasticidad arterial global y una menor reducción de la presión arterial media.

Todos estos estudios apoyan la idea de que la ausencia de CL en el momento de la concepción puede contribuir al incremento de la incidencia de preeclampsia sobre la base de una peor adaptación cardiovascular. La presencia de CL se asociaría a parámetros vasculares más favorables y apoyaría el empleo de la CN-TC con la finalidad de reducir el riesgo de esta complicación gestacional. En última instancia, el reemplazo de los productos vasoactivos ausentes en los casos de inexistencia de CL podría ser beneficioso.

CONCLUSIONES

El ciclo natural es una alternativa válida y realista para la realización de una transferencia de embriones criopreservados. La ansiedad que genera la monitorización de este tipo de ciclos y las dudas que genera la detección del pico de LH no deberían suponer un freno para su realización. En todo caso, se necesitan más estudios para comprender los factores que pudieran comprometer los resultados (como el espesor endometrial), así como para establecer qué casos pueden verse favorecidos por la descarga ovulatoria o por la suplementación en fase lútea de progesterona. Asimismo, dichos estudios deberían valorar si estas circunstancias se comportan de un modo semejante tanto en la utilización de embriones no testados como en la de embriones euploides.

En cuanto a los resultados gestacionales, algunos datos recientes apoyarían el empleo del ciclo natural con vistas a reducir el riesgo de preeclampsia asociado a la transferencia de embriones congelados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycle. *Fertil Steril*. 2018;109:768-74.
2. De Geyter CH, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, et al. The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: the European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod*. 2018;33:1586-601.
3. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;7:CD003414.
4. Von Versen-Höynck F, Schaub AM, Chi YY, Chiu KH, Liu J, Lingis M, et al. Increased preeclampsia risk and reduced aortic compliance with in vitro fertilization cycles in the absence of a corpus luteum. *Hypertension*. 2019;73:640-9.
5. Fatemi HM, Kyrou D, Bourgain C, Van den AE, Griesinger G, Devroey P. Cryopreserved-thawed human embryo transfer: spontaneous natural cycle is superior to human chorionic gonadotropin-induced natural cycle. *Fertil Steril*. 2010;94:2054-8.
6. Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles. *Fertil Steril*. 2010;93:416-22.

7. Weissman AS, Horowitz E, Ravhon A, Steinfeld Z, Mutzafi R, Golan A, et al. Spontaneous ovulation versus HCG trigger for timing natural-cycle frozen-thawed embryo transfer: a randomized study. *Reprod Biomed Online*. 2011;23:484-9.
8. Cárdenas DF, Peñarrubia J, Goday A, Guimerá M, Vidal E, Manu D, et al. Frozen-thawed blastocyst transfer in natural cycle increase implantation rates compared artificial cycles. *Gynecol Endocrinol*. 2019;35:873-7.
9. Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Franch Andersen L. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Hum Reprod*. 1995;10:3202-5.
10. Miller PB, Soules MR. The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol*. 1996;87:13-7.
11. Park SJ, Goldsmith LT, Skurnick JH, Wojtczuk A, Weiss G. Characteristics of the urinary luteinizing hormone surge in young ovulatory women. *Fertil Steril*. 2007;88:684-90.
12. O'Connor KA, Brindle E, Miller RC, Shofer JB, Ferrell RJ, Klein NA, et al. Ovulation detection methods for urinary hormones: precision, daily and intermittent sampling and a combined hierarchical method. *Hum Reprod*. 2006;21:1442-52.
13. Frydman R, Testart J, Feinstein MC, Roger M. Interrelationship of plasma and urinary luteinizing hormone preovulatory surge. *J Steroid Biochem*. 1984;20:617-9.
14. Sathanandan M, Macnamee MC, Rainsbury P, Wick K, Brinsden P, Edwards RG. Replacement of frozen-thawed embryos in artificial and natural cycles: a prospective semi-randomized study. *Hum Reprod*. 1991;6:685-7.
15. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum Reprod*. 2010;25:2092-100.
16. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Lainas GT, Sfountouris IA, Tarlatzis BC, et al. Estimating the net effect of progesterone elevation on the day of hCG on live birth rates after IVF: a cohort analysis of 3296 IVF cycles. *Hum Reprod*. 2015;30:684-91.
17. Labarta E, Martínez-Conejero JA, Alama P, Horcajadas JA, Pellicer A, Simón C, et al. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis. *Hum Reprod*. 2011;26:1813-25.
18. Roos J, Johnson S, Weddell S, Godehardt E, Schiffner J, Freundl G, et al. Monitoring the menstrual cycle: comparison of urinary and serum reproductive hormones referenced to true ovulation. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2015;20:438-50.
19. Groenewoud ER, Macklon NS, Cohlen BJ; ANTARCTICA Study Group. The effect of elevated progesterone levels before HCG triggering in modified natural cycle frozen-thawed embryo transfers cycles. *Reprod Biomed Online*. 2017;34:546-54.
20. Park I, Sun H, Chi H, Kim S, Park J, Kwak S, et al. Frozen thawed embryo transfer with simple monitoring does not impair IVF outcomes in natural cycle. *Fertil Steril*. 2015;104:197.
21. Litwicka K, Mencacci C, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Minasi MG, et al. HCG administration after endogenous LH rise negatively influences pregnancy rate in modified natural cycle for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a pilot study. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35:449-55.
22. Casper RF, Yanushpolsky EH. Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles: window of implantation and progesterone support. *Fertil Steril*. 2016;105:867-72.
23. Kosmas IP, Tatsioni A, Fatemi HM, Kolibianakis EM, Tournaye H, Devroey P. Human chorionic gonadotropin administration vs. luteinizing monitoring for intrauterine insemination timing, after administration of clomiphene citrate: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2007;87:607-12.
24. Fuh KW, Wang X, Tai A, Wong I, Norman RJ. Intrauterine insemination: effect of the temporal relationship between the luteinizing hormone surge, human chorionic gonadotrophin administration and insemination on pregnancy rates. *Hum Reprod*. 1997;12:2162-6.
25. Mackens S, Santos Ribeiro S, van de Vijner A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, et al. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Hum Reprod*. 2017;32:2234-42.

26. Groenewoud ER, Cantineau AEP, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013;19:458-70.
27. Yarali H, Polat M, Mumusoglu S, Yarali I, Bozdag G. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and metaanalysis. *J Assist Reprod Genet*. 2016; 33:1287-304.
28. Poletto KQ, Lobo MP, Giovanucci M, Approbato MS, Castro EC. Pregnancy rates from natural and artificial cycles of women submitted to frozen embryo transfers: a metanalysis. *JBRA Assist Reprod*. 2019;23:268-72.
29. Madani T, Ramezani F, Yahyaee A, Hasani F, Bagheri Lankarani N, Mohammadi Yeganeh L. Live birth rates after different endometrial preparation methods in frozen cleavage-stage embryo transfer cycles: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet*. 2019;299:1185-91.
30. Kim C-H, Lee Y-J, Lee K-H, Kwon S-K, Kim S-H, Chae H-D, et al. The effect of luteal phase progesterone supplementation on natural frozen-thawed embryo transfer cycles. *Obstet Gynecol Sci*. 2014;57:291-6.
31. Bjuresten K, Landgren BM, Hovatta O, Stavreus-Evers A. Luteal phase progesterone increases live birth rate after frozen embryo transfer. *Fertil Steril*. 2011;95:534-7.
32. Veleva Z, Orava M, Nuojua-Huttunen S, Tapanainen JS, Martikainen H. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer. *Hum Reprod*. 2013;28:2425-31.
33. Montagut M, Santos Ribeiro S, De Vos M, Polyzos NP, Drakopoulos P, Mackens S, et al. Frozen-thawed embryo transfers in natural cycles with spontaneous or induced ovulation: the search for the best protocol continues. *Hum Reprod*. 2016;31:2803-10.
34. Li S, Li Y. Administration of a GnRH agonist during the luteal phase frozen-thawed embryo transfer cycles: a meta-analysis. *Gynecol Endocrinol*. 2018;11:920-4.
35. Bartels CB, Ditrio L, Grow DR, O'Sullivan DM, Benadiva CA, Engmann L, et al. The window is wide: flexible timing for vitrified-warmed embryo transfer in natural cycles. *Reprod Biomed Online*. 2019;39:241-8.
36. Saupstad M, Freiesleben NLC, Skouby SO, Andersen LF, Knudsen UB, Petersen KB, et al. Preparation of the endometrium and timing of blastocyst transfer in modified natural cycle frozen-thawed embryo transfers (mNC-FET): a study protocol for a randomised controlled multicentre trial. *BMJ Open*. 2019;9:e031811.
37. Crawford NM, Pritchard DA, Herring AH, Steiner AZ. Prospective evaluation of luteal phase length and natural fertility. *Fertil Steril*. 2017;107:749-55.
38. Reljić M, Knez J. Predicted luteal phase length has no influence on success of vitrified-warmed blastocyst transfer in natural cycle. *J Ovarian Res*. 2018;11:63.
39. Liu KE, Hartman M, Hartman A, Luo ZC, Mahutte N. The impact of a thin endometrial lining on fresh and frozen-thaw IVF outcomes: an analysis of over 40000 embryo transfers. *Hum Reprod*. 2018;33:1883-8.
40. Zhang J, Liu H, Mao X, Chen Q, Si J, Fan Y, et al. Effect of endometrial thickness on birthweight in frozen embryo transfer cycles: an analysis including 6181 singleton newborns. *Hum Reprod*. 2019;34:1707-15.
41. Bu Z, Yang X, Song L, Kang B, Sun Y. The impact of endometrial thickness change after progesterone administration on pregnancy outcome in patients transferred with single frozen-thawed blastocyst. *Reprod Biol Endocrinol*. 2019;17:99.
42. Haas J, Smith R, Zilberberg E, Nayot D, Meriano J, Barzilay E, et al. Endometrial compaction (decreased thickness) in response to progesterone results in optimal pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfers. *Fertil Steril*. 2019;112:503-9.
43. Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Greco A, et al. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical

- results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33:873-84.
44. Wang A, Murugappan G, Kort J, Westphal L. Hormone replacement versus natural frozen embryo transfer for euploid embryos. *Arch Gynecol Obstet.* 2019;300:1053-60.
 45. Sazonova A, Kallen K, Thurin-Kjellberg A, Wennerholm UB, Bergh C. Obstetric outcome in singletons after in vitro fertilization with cryopreserved/thawed embryos. *Hum Reprod.* 2012; 27:1343-50.
 46. Ishihara O, Araki R, Kuwahara A, Itakura A, Saito H, Adamson GD. Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertil Steril.* 2014;101:128-33.
 47. Opdahl S, Henningsen AA, Tiitinen A, Bergh C, Pinborg A, Romundstad PR, et al. Risk of hypertensive disorders in pregnancies following assisted reproductive technology: a cohort study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod.* 2015;30:1724-31.
 48. Chen Z-J, Shi Y, Sun Y, Zhang B, Liang X, Cao Y, et al. Fresh versus frozen embryos for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 2016;375:523-33.
 49. Wei D, Liu JY, Sun Y, Shi Y, Zhang B, Liu JQ, et al. Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2019;393:1310-8.
 50. Roque M, Haahr T, Geber S, Esteves SC, Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum Reprod Update.* 2019;25:2-14.
 51. Maheshwari A, Pandey S, Amalraj Raja E, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Hum Reprod Update.* 2018;24:35-58.
 52. Shi Y, Sun Y, Hao C, Zhang H, Wei D, Zhang Y, et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med.* 2018;378:126-36.
 53. Saito K, Kuwahara A, Ishikawa T, Morisaki N, Miyado M, Miyado K, et al. Endometrial preparation methods for frozen-thawed embryo transfer are associated with altered risks of hypertensive disorders of pregnancy, placenta accreta, and gestational diabetes mellitus. *Hum Reprod.* 2019;34:1567-75.
 54. Conrad KP, Graham GM, Chi YY, Zhai X, Li M, Williams RS, et al. Potential influence of the corpus luteum on circulating reproductive and volume regulatory hormones, angiogenic and immunoregulatory factors in pregnant women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2019;317:E677-E685.
 55. Von Versen-Höyneck F, Schaub AM, Chi YY, Chiu KH, Liu J, Lingis M, et al. Increased preeclampsia risk and reduced aortic compliance with in vitro fertilization cycles in the absence of a corpus luteum. *Hypertension.* 2019;73:640-9.
 56. Johnson MR, Abdalla H, Allman AC, Wren ME, Kirkland A, Lightman SL. Relaxin levels in ovum donation pregnancies. *Fertil Steril.* 1991;56:59-61.
 57. Von Versen-Höyneck F, Narasimhan P, Selamet Tierney ES, Martínez N, Conrad KP, Baker VL, et al. Absent or excessive corpus luteum number is associated with altered maternal vascular health in early pregnancy. *Hypertension.* 2019;73:680-90.
 58. Conrad KP, Petersen JW, Chi YY, Zhai X, Li M, Chiu KH, et al. Maternal cardiovascular dysregulation during early pregnancy after in vitro fertilization cycles in the absence of a corpus luteum. *Hypertension.* 2019;74:705-15.

PREPARACIÓN ENDOMETRIAL EN CASOS ESPECIALES

Elisa Gil Arribas y Ana Robles Corchado

ENDOMETRIO FINO O INSUFICIENTE

La prevalencia de endometrio fino según los estudios publicados se encuentra entre el 2,4 % y el 8,5 %^{1,2}. Su manejo es uno de los mayores y, con frecuencia, más frustrantes retos en los tratamientos de reproducción asistida. La complejidad en su tratamiento se debe, en primer lugar, a que es difícil establecer un punto de corte objetivo en el que denominar a un endometrio como insuficiente y porque no existe un límite por debajo del cual el embarazo sea imposible; de hecho, asumiendo que cuanto más próximo está el embrión a la capa basal del endometrio mayor exposición tiene a radicales libres y menor supervivencia y probabilidad de desarrollo e implantación, la mayoría de la literatura médica especializada establece en 7 mm el grosor endometrial mínimo, pero se han comunicado embarazos con grosores mucho menores^{1,3}. En segundo lugar, porque su corrección y tratamiento se antojan complicados, y el empleo de fármacos vasodilatadores o antioxidantes son las únicas estrategias que hasta la fecha se han considerado parcial y ocasionalmente útiles⁴. De esta manera, y tal y como se ha ido viendo a lo largo de esta monografía, como medidas de primera elección ante el hallazgo de un endometrio que no crece lo deseado, ya sea en un ciclo estimulado, sustituido o natural, se opta por estrategias farmacológicas con un importante componente empírico, como la aspirina en dosis bajas, la pentoxifilina, el tocoferol o el sildenafil por vía oral o vaginal, así como por otras terapias más controvertidas, como la acupuntura.

El hallazgo de un endometrio insuficiente en un ciclo de fecundación *in vitro* (FIV) lleva a la cancelación de la transferencia o a cambios de estrategias terapéuticas, como la congelación de todos los embriones o *freeze-all*. Ocasionalmente, en casos extremos, la situación puede llevar a recomendar el abandono terapéutico o la subrogación uterina.

Estudios retrospectivos de series de casos encuentran asociación entre endometrio fino y los siguientes factores etiológicos, aunque la evidencia científica que los avala es escasa (tabla 1)^{4,5}.

Tabla 1. Factores etiológicos del endometrio fino

Introgénia	Causa infecciosa	Causa vascular (secuestro)	Déficit estrogénico
Síndrome de Asherman	Endometritis posparto	Fibromas uterinos	Hipogonadismo hipogonadotrófico
Legrado-evacuador	Aborto séptico	—	Baja reserva ovárica
Radioterapia pélvica	—	—	Fallo ovárico oculto
Dietilestilbestrol	—	—	—

Las repercusiones del endometrio fino en los ciclos de FIV con inyección intracitoplásmica de espermatozoides, o ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*), han sido investigadas muy extensamente, pero la mayoría de los estudios son retrospectivos, muy heterogéneos y con distintos puntos de corte para la definición de *endometrio fino*. La mayoría de ellos evalúan ciclos de transferencia embrionaria en fresco.

La revisión sistemática de Kasius *et al.*, publicada en 2014, no encontró diferencias en tasas de recién nacidos vivos ni de gestaciones evolutivas en endometrios de no más de 7 mm, pero sí en las de embarazos clínicos, que fueron significativamente menores en el grupo del endometrio fino, si bien se trata de estudios de reducido tamaño muestral¹.

El reciente estudio multicéntrico retrospectivo del grupo canadiense de Liu demuestra, tras evaluar más de 40000 ciclos de transferencias embrionarias, que las tasas de embarazos clínicos y de recién nacidos vivos disminuyen significativamente con endometrios de menos de 8 mm. Las de recién nacidos vivos fueron de 33,7 %, 25,5 %, 24,6 % y 10,1 % para grosores endometriales de ≥ 8 , 7-7,9, 6-6,9 y 5-5,9 mm, respectivamente. En los ciclos de transferencia embrionaria de embriones congelados (TC), las tasas de embarazos y de recién nacidos vivos también disminuían significativamente con grosores endometriales de menos de 7 mm. No hubo diferencias en tasas de abortos. Este mismo estudio concluyó que la posibilidad de conseguir un endometrio de al menos 8 mm disminuye con la edad de la paciente⁶; además, demostró que, en ciclos en fresco, un grosor endometrial más fino podría afectar negativamente a la posibilidad de éxito y que en estos casos se debería ofrecer a las pacientes la opción de vitrificar y diferir la transferencia^{6,7}.

Las opciones de tratamiento para la preparación endometrial en casos de endometrio fino se podrían clasificar en tres grupos en función de su mecanismo de acción:

1. *Tratamientos hormonales*. Consistentes en modificaciones en la dosis y duración de la administración o tipo de estrógenos utilizados y en el empleo de análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas en fase lútea, y administración de gonadotropina coriónica humana, o hCG (*human chorionic gonadotropin*), en fase folicular.
2. *Tratamientos vasculares*. Destinados a mejorar la vascularización a nivel endometrial, disminuyendo la resistencia de las arterias uterinas y mejorando, desde un punto de vista teórico, la implantación: sildenafil, aspirina, pentoxifilina, tocoferol y técnicas de estimulación eléctrica neuromuscular y bioautorregulación (*biofeedback*).
3. *Tratamientos con factores de crecimiento endometrial*. Orientados a la regeneración del tejido endometrial en casos particulares como el síndrome de Asherman, endometritis graves o atrofas endometriales: factor estimulante de colonias granulocíticas, o G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*), infusión intrauterina de plasma rico en plaquetas y tratamiento con células madre.

Tratamientos hormonales

Incremento en la dosis de estradiol

Aumentar la duración del tratamiento con estradiol de 14 a 82 días, con una media de 30 días, parece incrementar de forma significativa la tasa de embarazos cuando se compara con la de un grupo de control (38,5 % vs. 4,3 %; $p = 0,016$)⁸.

Empleo de estradiol por vía vaginal

La vía oral suele ser la más utilizada por su biodisponibilidad y tolerancia. Sin embargo, las vías parenterales podrían aumentar los niveles plasmáticos de estradiol al evitar el paso hepático. Diversos estudios evalúan la utilización del estradiol vaginal⁹⁻¹¹:

- Liao *et al.*, en un estudio retrospectivo, compararon el empleo de estradiol oral extendido vs. pauta extendida combinada con estradiol vaginal a partir del día 13 de la preparación endometrial. El grupo de estradiol vaginal mostró mejoría en el grosor endometrial pero no en las tasas de embarazo.
- En el estudio prospectivo de Check *et al.*¹¹ se administra estradiol oral y se añade estradiol vaginal del día 2 al día 9 del ciclo (4 mg/día). Los autores no encuentran mejoría en el grosor endometrial, y, además, no informan sobre tasas de embarazos. La utilización de estradiol subcutáneo en receptoras de ovocitos con respuesta endometrial inadecuada sí que pareció aumentar significativamente el grosor endometrial en un período corto de tiempo ($13,1 \pm 3,9$ vs. $21,1 \pm 4,9$; $p < 0,001$)¹⁰. Sin embargo, en este estudio el punto de corte de grosor endometrial

para considerarlo subóptimo fue inferior a 10 mm, por lo que los resultados deben ser interpretados con cautela.

Empleo de estrógenos sintéticos

En el estudio controlado aleatorizado del grupo iraní de Zolghadri *et al.*¹² se comparan los efectos en el grosor endometrial de un estrógeno sintético (estradiol hemihidrato [Vagifem®]) y un estrógeno natural (estrógenos conjugados [Premarin®]) en pacientes con endometrio insuficiente. El día 14 de preparación endometrial, el grosor endometrial fue significativamente mayor en el grupo que había utilizado estrógenos sintéticos.

Administración de gonadotropina coriónica sistémica

La hCG, un glucopéptido segregado por el sincitiotrofoblasto, es responsable del mantenimiento del cuerpo lúteo y de la producción de progesterona durante las primeras semanas del embarazo. Además, cumple múltiples funciones locales y sistémicas y parece desempeñar un papel fundamental en la interacción entre endometrio y embrión durante la ventana de implantación. Se han identificado receptores de hormona luteinizante y hCG en el epitelio endometrial que podrían modular la diferenciación endometrial y la angiogénesis^{13,14}. Un estudio que incluyó a 17 pacientes receptoras de embriones frescos o congelados con un grosor endometrial inferior a 6 mm, histeroscopia normal y fallos repetidos de implantación evaluó la utilidad de la administración de hCG sistémica¹⁵: se emplearon 150 UI/día de hCG durante 7 días desde el día 8-9 de impregnación estrogénica (8 mg/día). El espesor endometrial aumentó de 5,2 mm a 6 mm ($p=0,008$), consiguiendo el 35,3 % de las pacientes mejorar su grosor endometrial en más del 20 %. El 17 % consiguió un endometrio mayor de 7 mm, aunque el 29,4 % no presentó mejoría. Finalmente, 9 de las 17 pacientes consiguieron gestación y 7 de ellas un recién nacido vivo.

Otro estudio no aleatorizado incluyó 28 pacientes en ciclos de TC con antecedente de dos ciclos previos fallidos por endometrio fino¹⁶. Se administraron 150 UI de hCG intramuscular a partir del día 8 del ciclo de preparación endometrial y hasta conseguir un endometrio de al menos 7 mm. La media de grosor endometrial antes y después de la administración de hCG fue de $5,07 \pm 0,43$ mm y $7,85 \pm 0,52$ mm, respectivamente ($p < 0,001$), y se obtuvieron 5 embarazos clínicos.

Estos prometedores hallazgos se deben interpretar con precaución, ya que se han descrito cambios en el patrón de receptividad endometrial en pacientes receptoras de ovocitos con endometrios normales y a las que se había administrado hCG^{17,18}.

Administración de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas en fase lútea

Se ha barajado un posible efecto beneficioso en la receptividad endometrial de los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas cuando se administran en fase

lútea. La administración de una sola dosis en fase lútea en pacientes receptoras de ovocitos parece mejorar las tasas de embarazos y de recién nacidos vivos¹⁹.

Un estudio de 120 pacientes²⁰ con un grosor endometrial de menos de 7 mm en un ciclo de FIV en el que 60 fueron aleatorizadas para recibir tres dosis de triptorelina 0,1 mg (el día de la punción folicular, el día de la transferencia embrionaria y tres días después) y otras 60 como grupo de placebo mostró mejoría en el grosor endometrial en el grupo en estudio, así como un aumento significativo en la tasa de implantación y embarazo (22/60 vs. 8/60; $p < 0,01$). Los niveles de estradiol y progesterona fueron significativamente más elevados en el grupo de triptorelina el día de la transferencia embrionaria. Sin embargo, la plausibilidad biológica es incierta y no se han vuelto a replicar estos resultados en otros estudios.

Tratamientos vasculares

Sildenafil

El óxido nítrico interviene en los procesos de relajación muscular vascular a través de una vía mediada por el nucleótido cíclico del monofosfato de guanosa, o cGMP (*cyclic guanosine monophosphate*). Diferentes isoformas de la enzima óxido nítrico-sintetasa han sido identificadas en la capa muscular de los vasos sanguíneos endometriales y miometriales. Las fosfodiesterasas son enzimas que hidrolizan nucleótidos como los cGMP. Los inhibidores de las fosfodiesterasas tienen la capacidad de aumentar el efecto de estos nucleótidos en sus órganos diana, entre ellos el endometrio. El citrato de sildenafil es un potente inhibidor selectivo de la fosfodiesterasa de tipo 5 (específica del cGMP) que previene la hidrólisis y degradación del cGMP potenciando el efecto vasodilatador del óxido nítrico sobre la capa muscular vascular. A continuación reseñamos algunos ensayos.

- En un estudio de 4 pacientes con ciclo FIV en fresco se administró citrato de sildenafil por vía vaginal en dosis de 25 mg/4 veces al día durante 7 días desde el principio de la estimulación ovárica²¹. Tres de las cuatro pacientes consiguieron la gestación.
- En otra publicación, en ciclos de TC se administró por la misma vía citrato de sildenafil en dosis de 50 mg/día desde el día de inicio de los estrógenos hasta el día en que se añadía la progesterona²². Se encontró un aumento del grosor endometrial en un 70 % de las pacientes y una disminución de las resistencias de las arterias uterinas, lo que derivó en un aumento en la tasa de embarazos evolutivos (45 % vs. 0 %).
- Una serie de dos casos de pacientes con síndrome de Asherman²³ reportó embarazo en ambas pacientes tras realizar el tratamiento con citrato de sildenafil (100 mg/día, por vía vaginal, del día 1 al 14 de preparación endometrial, o del día 3 al día 9 de la estimulación ovárica).

- En contraste, el ensayo clínico de Check *et al.* mencionado con anterioridad¹¹, con 16 pacientes de FIV o TC, no encontró diferencias ni en el grosor endometrial ni en el flujo sanguíneo.
- Un estudio prospectivo observacional²⁴ que incluyó 61 pacientes con grosores endometriales de menos de 8 mm y aumento de las resistencias de las arterias uterinas que habían sido tratadas con citrato de sildenafil por vía vaginal (100 mg/día, 4 veces al día desde el segundo día del ciclo hasta el día de la administración de la hCG) demostró un aumento del grosor endometrial en 11 de 12 pacientes (91 %), así como una mejoría significativa en las resistencias de las arterias uterinas. Seis pacientes de las 12 tratadas con sildenafil consiguieron la gestación (50 %).
- Otro estudio aleatorizado realizado en ciclos de preparación endometrial para TC²⁵ incluyó 80 pacientes con respuesta inadecuada a la preparación endometrial en ciclos previos (sin definir exactamente las características endometriales). Las pacientes fueron aleatorizadas a sildenafil 50 mg/día desde el primer día de regla hasta el día del inicio de la progesterona más valerato de estradiol (VE) en pauta ascendente vs. tratamiento con solo este fármaco. Los autores encontraron un aumento significativo en el grosor endometrial y en el patrón de triple línea en el grupo de sildenafil (77,5 % vs. 30 %; $p < 0,001$). Las tasas de implantación y de embarazo bioquímico fueron superiores en el grupo de sildenafil, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.
- En una revisión sistemática reciente sobre la utilización de vasodilatadores en las técnicas de reproducción asistida que incluía 15 ensayos clínicos aleatorizados, con un total de 1326 pacientes, se evaluaron y compararon los siguientes fármacos con efecto vasodilatador: trinitrato de glicerilo, mononitrato de isosorbida, sildenafil, amlodipino, tadalafil, pentoxifilina y tocoferol α , o vitamina E. Solamente tres de los estudios incluidos informaron sobre la tasa de nacidos vivos. Los autores concluyen que los vasodilatadores probablemente ejercen un efecto escaso o nulo en la tasa de nacidos vivos. La evidencia, de moderada calidad, muestra que los vasodilatadores probablemente aumenten los efectos secundarios (incluida la cefalea y la taquicardia) en comparación con el placebo o con la ausencia de tratamiento. Sin embargo, una evidencia de baja calidad indica que los vasodilatadores pueden aumentar las tasas de embarazo.

Tocoferol y pentoxifilina

La pentoxifilina es un inhibidor no específico de la fosfodiesterasa. El tocoferol α es un potente antioxidante con acción vasodilatadora. Diferentes estudios observacionales que incluían pocas pacientes han evaluado esta combinación²⁶⁻²⁹ en pacientes receptoras de ovocitos o de embriones congelados con endometrios finos (<6 mm). En todos los estudios se administran 800 mg/día de pentoxifilina durante períodos de entre 6 y 18 meses en combinación con 1000 UI/día de tocoferol α . Estos estudios

demonstraron un aumento en el grosor endometrial, y en tres de ellos una mejoría en las tasas de embarazo.

Aspirina

La aspirina ha sido ampliamente utilizada como coadyuvante en medicina reproductiva y de forma empírica en casos de endometrio fino. Sin embargo, solo un estudio comparativo aleatorizado ha evaluado el empleo de la aspirina en pacientes con endometrio insuficiente (≤ 8 mm)³⁰. En esta publicación se aleatorizaron 28 receptoras de ovocitos; 15 recibieron aspirina en dosis bajas (81 mg/día) junto al tratamiento habitual para la preparación endometrial y a las otras 13 no se les administró aspirina. Los autores no encontraron diferencias significativas en el grosor endometrial pero sí un aumento significativo en la tasa de implantación (24 % vs. 9 %).

Estimulación eléctrica neuromuscular y bioautorregulación

Se trata de una técnica utilizada en la recuperación posparto, en urología y en otras terapias de rehabilitación. La teórica estimulación del músculo liso uterino incrementaría el flujo sanguíneo y de esta manera el trofismo del tejido endometrial. Un estudio prospectivo de cohortes, en ciclos de TC y con endometrio insuficiente, encontró un aumento significativo del grosor endometrial en las pacientes sometidas a estas terapias complementarias³¹.

Tratamientos con factores de crecimiento endometrial

Plasma rico en plaquetas

La infusión de plasma enriquecido en plaquetas es una nueva opción terapéutica en pacientes con endometrio fino. Esta técnica fue descrita por primera vez por el grupo de Chang en 2015 en una pequeña muestra de 5 pacientes con endometrio fino a pesar del empleo de altas dosis de estrógenos y otros tratamientos habituales³². Las plaquetas son las primeras células en llegar al tejido lesionado, y sus gránulos, ricos en factores de crecimiento y proangiogénicos, se liberan favoreciendo la mitogénesis y la proliferación celular y mejorando la vascularización, reparación y regeneración tisular. En el modelo animal se ha objetivado un engrosamiento significativo del endometrio y una mejoría en la fibrosis de endometrios dañados³³. Se trata de una terapia ampliamente utilizada en otras disciplinas médicas (traumatología, oftalmología, dermatología) desde la década de 1970 —y, especialmente, desde los 90— y que ha demostrado seguridad biológica y buenos resultados clínicos. Obtener plasma enriquecido es una técnica sencilla y de bajo coste, al alcance de un laboratorio convencional, ya que a partir de una muestra de sangre autóloga y tras dos procesos de centrifugado se obtiene un plasma con alto contenido en plaquetas. Este origen autólogo evita riesgos inmunitarios e infecciosos. Hasta la fecha no se han descrito

reacciones adversas ni alteraciones en los recién nacidos obtenidos utilizando esta técnica.

La utilidad del empleo de plasma rico en plaquetas se evaluó en un pequeño estudio observacional que incluía 5 pacientes en ciclos de TC, con endometrios de menos de 7 mm y antecedentes de cancelación de ciclos de transferencia embrionaria³². A todas ellas se les infundió plasma rico en plaquetas y en todas se consiguieron endometrios de más de ese grosor, por lo que pudo realizarse la transferencia embrionaria. Todas las pacientes consiguieron la gestación, cuatro de ellas con embarazo evolutivo y otra con aborto de causa cromosómica (45 X0).

Al grupo de Chang le siguieron otros estudios^{34,35}, pero en todos ellos la muestra de pacientes fue pequeña, por lo que los resultados y la información sobre la aplicación del plasma no fueron concluyentes. Se demostró que la concentración de plaquetas en el plasma infundido es importante y que el objetivo es alcanzar un millón de plaquetas por cada microlitro infundido. Cifras menores producen efectos deficientes, y cifras mayores pueden generar efectos paradójicos³⁶. Posteriormente se han publicado otros cuatro estudios, incluido uno aleatorizado³⁷⁻⁴⁰, que también sugieren resultados favorables.

En 2019, completando el estudio piloto publicado unos años antes⁴¹, el grupo iraní de Nazari *et al.*⁴² publicó un ensayo con enmascaramiento doble sobre 60 mujeres menores de 38 años y con cancelaciones de transferencias embrionarias previas por endometrio insuficiente, en el que compararon los resultados endometriales y gestacionales entre mujeres en las que se infundió plasma enriquecido en plaquetas y los controles, en los que se utilizó un placebo. Los resultados obtenidos fueron prometedores, puesto que todas las pacientes del grupo en estudio cumplieron criterios para transferencia (endometrio > 7 mm) evitando las cancelaciones, pero solo 6 los cumplieron en el grupo de control. La tasa de gestación del grupo estudio fue significativamente mayor.

Se ha descrito esta técnica de manera puntual en el manejo del síndrome de Asherman⁴³, del fallo de implantación^{41,42} y en endometritis crónicas⁴⁴, con resultados también positivos.

Si bien los mecanismos moleculares no están bien esclarecidos todavía, los resultados clínicos parecen favorables, aunque se requieren estudios más completos, con mayor número de pacientes y en los que se analicen otros parámetros, como el volumen y flujo endometriales, mediante ecografía y tecnología Doppler.

Regeneración endometrial con células madre de médula ósea

Las células madre son células no diferenciadas, precursoras de células adultas de cualquier estirpe y que habitualmente sirven como regeneradoras y reparadoras de un tejido dañado o de una pérdida celular. Su descubrimiento ha impulsado el

desarrollo de la medicina regenerativa y reparadora, ya que su uso personalizado puede reemplazar líneas celulares dañadas, o incluso ausentes, desde el nacimiento⁴⁵. Así, en los últimos tiempos esta terapia se ha demostrado útil en el tratamiento de algunas patologías neurodegenerativas (como el Parkinson), de la isquemia miocárdica o de algunos tumores.

La médula ósea es el primer órgano al que se le atribuye la producción de células madre, si bien hay otros órganos productores, como el propio útero. Estas células son reconocidas por sus ligandos y receptores, y se activan gracias a factores de crecimiento y citocinas, que favorecen su diferenciación según el tejido en el que vayan a ejercer su acción reparadora. Según su origen y capacidad de diferenciación, se distinguen células madre *totipotenciales* (las embrionarias en sus primeros estadios de desarrollo), *pluripotenciales* (que se diferencian a estirpe endodérmica, ectodérmica o mesodérmica), *multipotentes* (p. ej., las hematopoyéticas que se polarizan a células blancas, rojas o plaquetas), las *oligopotentes* y, finalmente, las *unipotentes* o *progenitoras*, que regeneran un órgano específico⁴⁵.

El mejor ejemplo de órgano que se autorrepara y en el que participan activamente las células madre es el útero y, en concreto, el endometrio, cuya funcionalidad hace que prolifere, se modifique y, finalmente, se destruya y desprenda en cada ciclo menstrual de una mujer (unos 400 en toda la vida fértil). Desde este prisma, el útero se puede considerar como un órgano inmortal, presumiblemente gracias a una gran población de células madre endometriales localizadas tanto en la capa basal del endometrio como en el miometrio⁴⁶. Asimismo, desde el año 2004 se sabe que esta estructura está colonizada por células madre derivadas de la médula ósea; estas células suponen entre un 0,2% y un 50% de las células endometriales, tanto a nivel epitelial como estromal⁴⁷.

El conocimiento de la función de estas células a nivel endometrial ha abierto un prometedor campo de investigación para la restitución de patologías hasta la fecha prácticamente irresolubles ni con tratamiento médico ni quirúrgico, como son el síndrome de Asherman y la atrofia endometrial. A nivel endometrial, las células madre hematopoyéticas desempeñan un importante papel en la regeneración del endometrio, y se ha demostrado que, en situación de daño endometrial, se movilizan en gran número⁴⁵. Estos hallazgos han llevado a la interesante hipótesis de que el uso medicalizado de células madre para la reparación de la función endometrial en mujeres con endometrio insuficiente por patologías como el síndrome de Asherman o la atrofia endometrial podría resultar una realidad. Hasta la fecha, los datos reportados acerca de la reparación endometrial en situaciones uterinas patológicas son muy positivos, si bien todo lo publicado se basa en ensayos clínicos pequeños, tanto en el modelo animal⁴⁸ como en el humano.

Nagori *et al.* comunicaron en 2014 el uso autólogo de células madre de médula ósea de cresta ilíaca⁴⁹ en 6 pacientes con síndrome de Asherman. Se consiguieron

engrosamientos notables del endometrio, restablecimiento de la menstruación y un embarazo tras transferencia embrionaria.

En el estudio piloto de Santamaría *et al.*⁵ se seleccionó a 18 pacientes, de las cuales participaron finalmente 16 (11 con síndrome de Asherman y 5 con atrofia endometrial). Todas ellas fueron tratadas con una infusión autóloga de células madre derivadas de médula ósea (CD133+) y obtenidas mediante aféresis tras la administración sistémica de G-CSF. De media se inocularon, con ayuda de radiología intervencionista, 124 millones de estas células a través de la arteria femoral común y en las arterias espirales del útero. En todas las participantes se demostró un incremento del grosor y de la vascularización endometriales, así como una mejora en el patrón menstrual, evidenciable en los siguientes 3 meses y que disminuyó pasados 6. Se consiguieron 3 gestaciones espontáneas (una de las cuales finalizó en aborto espontáneo) y 7 gestaciones tras 14 transferencias embrionarias en el resto de las pacientes del estudio (2 de ellas, evolutivas). Contando con que se trataba de casos con fracasos repetidos de técnicas de reproducción debidos presumiblemente a un factor uterino, los resultados gestacionales se pueden considerar muy positivos. Actualmente, el mismo grupo investigador está seleccionando participantes para ampliar el tamaño muestral de su estudio.

Otros grupos de investigadores optaron por inocular las células madre directamente en la cavidad endometrial, obteniendo también aceptables crecimientos endometriales y recuperación de la menstruación espontánea⁵⁰.

Células madre endometriales

Descubiertas hace diez años, estas células se localizan en el propio órgano reproductor, tanto a nivel del endometrio basal (nicho endometrial) como en el miometrio (nicho miometrial). Estas últimas tendrían que ver con el crecimiento del útero durante la gestación y también con la génesis de miomas o la producción de leiomiomas uterinos por trastornos en la función y proliferación de estas células madre.

Estas células son fáciles de obtener porque el fluido menstrual es rico en ellas, pero su función reparadora a nivel del endometrio dañado parece menor que la de las derivadas de médula ósea debido a que ya están parcialmente diferenciadas.

Las células madre endometriales se han empleado en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y en el manejo de la isquemia cerebral. Su aplicación ha demostrado mejorar la electrofisiología de miocardios posisquemia y también podría ayudar en la cura de la diabetes a través de la regeneración de células pancreáticas.

Factor estimulante de colonias granulocíticas

Entre las opciones de segunda línea, y también controvertidas, ubicamos al filgrastim, o G-CSF (en España comercializado como Neupogen®). En el año 2012, Gleicher

*et al.*⁵¹ publicaron un estudio piloto en el que empleaban un fármaco hasta la fecha no descrito en reproducción asistida, el G-CSF, utilizado en tratamientos hematopoyéticos. Asumiendo la capacidad de esta molécula de hacer proliferar los granulocitos neutrófilos, y conociendo que presenta receptores específicos, no solo en las células hematopoyéticas sino también a nivel endotelial, los autores plantearon que ayudaría a la proliferación de células endometriales y, secundariamente, al engrosamiento del endometrio. El mecanismo por el que podría engrosarlo es, hasta la fecha, desconocido y ambiguo, si bien parece derivarse de la movilización de células dendríticas y de su secreción de citocinas, así como de la proliferación de células T reguladoras que favorecerían la inmunomodulación, el remodelado vascular endometrial y la adhesión celular, ayudando a la invasión trofoblástica y la placentación. En su estudio, el autor instiló G-CSF en el útero mediante una cánula de transferencia (30 MUI [300 µg/mL]) en 4 pacientes sometidas a una estimulación para FIV y cuyos endometrios no habían crecido lo suficiente en el día de la inducción ovulatoria. Cuarenta y ocho horas después se valoró ecográficamente el endometrio y en todas las pacientes había aumentado su grosor. Además, las cuatro pacientes consiguieron gestación clínica (una de ellas presentó una gestación cornual).

A raíz de estos resultados, el mismo grupo inició un ensayo clínico aleatorizado cuyo *interim*, publicado en 2013⁵², mostró también resultados alentadores. En este caso, se trató de mujeres en ciclo de FIV con un endometrio fino el día de la inducción de la ovulación. Las pacientes se dividieron en un grupo en estudio (aplicación del fármaco) y un grupo de control (placebo). En el grupo en estudio, el endometrio se engrosó por encima de 7 mm tras una sola dosis o tras una segunda aplicada 48 horas después (día de la punción ovárica). La gran mayoría de las pacientes del grupo en estudio consiguió un grosor endometrial de más de 7 mm con una sola dosis y en solo 48 horas (+2,9 mm [±2 mm]). No hubo diferencias significativas en las tasas de embarazos entre el grupo en estudio y el de control, ni tampoco cuando se evaluó el subgrupo expuesto al fármaco y de acuerdo con sus crecimientos endometriales. En resumen, se demostró que el filgrastim administrado en el interior del útero es útil en el engrosamiento de endometrios insuficientes, pero no pudo probarse una mejoría en los resultados gestacionales. Como críticas al estudio se citan la edad media de las pacientes (40,5 años), su baja reserva ovárica y, por tanto, su bajo potencial reproductivo, junto a un pequeño tamaño muestral.

Resultados similares se muestran en el estudio de Kunicki *et al.*⁵³ o en la publicación del grupo iraní de Sarvi *et al.*⁵⁴, en los que se utilizó el G-SFC en grupos pequeños de pacientes con endometrios finos el día de la inducción de la ovulación; en ambos estudios se hallaron diferencias en el grosor endometrial medido 48 horas más tarde, pero no en los resultados gestacionales. Barad *et al.* fueron más allá y se propusieron detectar posibles diferencias con el uso de G-CSF en pacientes de FIV no seleccionadas (endometrios suficientes e insuficientes). No hallaron diferencias

en ningún parámetro clínico ni ecográfico cuando se comparó el grupo en estudio con el de control⁵⁵.

En 2019, Lian *et al.* publicaron un estudio observacional retrospectivo acerca del uso de G-CSF en pacientes con endometrio insuficiente en ciclos de preparación endometrial artificial para TC. De acuerdo con lo descrito en ciclos estimulados, encuentran engrosamientos significativos del endometrio en las pacientes que habían recibido el fármaco, pero sin diferencias significativas en las tasas de implantaciones y embarazos; sin embargo, en un análisis secundario se observó que en el subgrupo de pacientes que consiguieron gestación el grosor endometrial era mayor, aunque sin diferencias estadísticamente significativas⁵⁶.

Dada la heterogeneidad de los estudios, los metaanálisis realizados sobre este tema muestran resultados inconsistentes en ambos sentidos, reconociendo los autores notables limitaciones en el diseño metodológico fundamentadas en las propias limitaciones de los artículos originales^{57,58}.

En conclusión, el G-CSF, imprescindible en los procesos de reproducción natural^{59,60} desde la foliculogénesis hasta la invasión trofoblástica y placentación, ha demostrado cierta utilidad en pacientes con fallos de implantación y aborto de repetición, y también resultados positivos en el engrosamiento endometrial. Estas conclusiones están animando a la comunidad científica al empleo de este fármaco, siempre como uso compasivo, no recogido en la ficha técnica (*off-label*) e informando previamente a la paciente (y todavía bajo una sombra de duda y controversia, ya que los resultados son dispares entre los diferentes autores).

A pesar de lo publicado, persisten numerosas dudas sobre el empleo del G-CSF en el endometrio insuficiente: el mecanismo fisiopatológico por el que produciría un engrosamiento endometrial en tan poco tiempo, la dosis que se requiere para ello, la dosis máxima, la utilidad de la repetición de la aplicación en caso de no respuesta y la posibilidad de plantear tratamientos con otras moléculas más potentes, como el M-CSF (factor estimulante de colonias de macrófagos). En resumen, se necesitan estudios bien diseñados, prospectivos y aleatorizados capaces de establecer no solo la utilidad del fármaco, sino también su dosis óptima, tiempo necesario hasta su acción y la recomendación sobre su aplicación e indicaciones.

RADIOTERAPIA Y ÚTERO

La mejora en el diagnóstico precoz del cáncer y en su tratamiento ha permitido aumentar la supervivencia a medio y a largo plazo de los pacientes afectados. Se estima que cerca de un 0,2% de la población en edad fértil habrá sido tratada en su infancia o juventud de un proceso oncológico. Desafortunadamente, muchos de estos supervivientes presentarán secuelas importantes secundarias a la propia enfermedad

o al uso de quimioterapia y radioterapia. Una de las más importantes es la reducción de la capacidad reproductiva^{61,62}, especialmente en la mujer, cuya fertilidad puede verse, a pesar de la recuperación de la menstruación, gravemente comprometida.

Es ampliamente conocido que la quimioterapia, y especialmente el uso de agentes alquilantes, genera una afectación habitualmente irreversible de los ovarios, y muchas mujeres sometidas a este tipo de fármacos padecerán un fallo ovárico posterior al tratamiento. Sin embargo, las primeras evidencias de que la radioterapia podía dañar la función uterina surgieron en 1989, cuando se reportó una cohorte de 38 mujeres que habían recibido altas dosis de radioterapia durante la infancia. La mayoría de estas niñas no consiguió una transición espontánea a la pubertad y algunas de las que experimentaron la regla de forma espontánea y gestaron sufrieron abortos del segundo trimestre. Por fortuna, no se reportaron mayores tasas de malformaciones fetales, por lo que ya desde entonces se plantea que la calidad ovocitaria no se ve afectada, al contrario de lo que sucede con la función uterina⁶³.

Si bien la evidencia es muy limitada, la revisión de la bibliografía concluye que las niñas o mujeres a las que se les había aplicado un tratamiento radioterápico que incidía, bien de forma directa (irradiación pélvica) o de forma indirecta (irradiación corporal total), en el útero se ven abocadas a una fertilidad comprometida; si además se quedan embarazadas, ya sea de forma natural o mediante técnicas de reproducción asistida, las complicaciones son mayores. La radiación a corto plazo produce en las células tumorales un efecto lesivo que acaba por destruirlas; a largo plazo, en el tejido circundante, se genera daño en forma de atrofia, necrosis, inflamación, cicatrización y esclerosis de la vascularización de la zona. La dosis de exposición y la edad a la que la paciente se somete al tratamiento parecen definitivas en el pronóstico reproductivo; sin embargo, poco sabemos acerca de este, y es muy difícil predecir de forma objetiva cuáles serán capaces de quedarse embarazadas y preservar una gestación evolutiva o a cuáles debemos sugerir una subrogación uterina o abstinencia terapéutica. Así, desde un punto de vista muy general, parece ser que la exposición a radiaciones uterinas de más de 4 Gy no afectaría de forma definitiva a la función del útero, mientras que exposiciones de más de 45 Gy en la mujer adulta (o de más de 25 Gy en la niña) conllevarían la práctica imposibilidad de conseguir un embarazo⁶⁴. Son imprescindibles estudios bien diseñados, con una correcta recogida de datos sobre dosificación, tiempo, tipo de tumor, edad de aplicación del tratamiento, etc., para poder emitir juicios clínicos correctos y recomendaciones concretas a las pacientes.

El útero, que crece durante la pubertad incluso antes de la aparición de los caracteres sexuales secundarios, no presenta un desarrollo histológico y vascular completo hasta transcurridos 7 años desde la menarquía. Durante todo ese tiempo es muy vulnerable a los tratamientos lesivos, y por ello la irradiación genera atrofia miometrial, fibrosis

de la capa submucosa y edema en la serosa; la vascularización de un útero irradiado está engrosada y el volumen general del útero y la elasticidad de su musculatura se ven notablemente reducidos⁶⁵.

La valoración del pronóstico reproductivo en el útero irradiado es difícil, ya que, a diferencia de la funcionalidad ovárica, no existen métodos diagnósticos de función uterina y únicamente podemos basarnos en técnicas de imagen:

- *Ecografía y Doppler*⁶⁶
 - Disminución de la longitud del útero en comparación con mujeres con fallo ovárico sin historia de irradiación uterina (4,1 cm vs. 7,3 cm).
 - En el 70 % de las mujeres irradiadas no se detecta flujo vascular, a diferencia de aquellas con un fallo ovárico por otra causa. El índice de pulsatilidad de la arteria uterina está significativamente disminuido⁶⁷.
 - Endometrio muy fino o ausente.
 - Volumen uterino disminuido por el efecto de la irradiación propiamente dicha, y no solo por el déficit estrogénico derivado del fallo ovárico secundario.
- *Resonancia magnética*⁶⁸
 - Cambios miometriales con descenso de señal T2, ya valorable tras el primer mes del inicio de la irradiación.
 - Disminución del volumen uterino tres meses después de la radioterapia.
 - Cambios a nivel endometrial, con reducción del grosor y de la intensidad de la señal, visibles a partir de los seis meses después de completar el tratamiento.
 - Desestructuración de la zona de unión con atrofia, fibrosis e isquemia.
 - Cambios muy similares a los observados en el útero de la mujer posmenopáusica sana.

En las pacientes que han recibido irradiación uterina se han descrito complicaciones gestacionales tales como aborto, parto prematuro, bajo peso al nacer, y muerte intrauterina y perinatal. Estas complicaciones serían consecuencia de una reducción de la distensibilidad uterina y de anomalías en los procesos de decidualización, invasión trofoblástica y placentación⁶⁹.

Los resultados de las técnicas de reproducción asistida en estas pacientes también son peores que en mujeres sanas. En este sentido, Vernaev *et al.* reportan buenas tasas de implantación en mujeres sometidas a una donación de ovocitos tras un tratamiento oncológico, pero peores resultados gestacionales que las del grupo de control sanas⁷⁰.

Dado el número creciente de mujeres supervivientes a cánceres tratados con radioterapia, es urgente buscar una solución a nivel reproductivo y discutir con ellas o con sus tutores legales la repercusión futura en su fertilidad y las opciones preventivas disponibles:

- *Terapia hormonal sustitutiva habitual*, si bien se recomiendan dosis mayores tanto de estrógenos como de gestágenos. Los resultados de la terapia hormonal sustitutiva habitual parecen ser más beneficiosos que con la toma de anticonceptivos. Con la terapia de reemplazo, el endometrio prolifera, si bien el volumen uterino no se recupera. En las mujeres en las que la irradiación fue en dosis muy altas no se ha demostrado beneficio a pesar del empleo de dosis altas durante largos períodos de tiempo.
- *Pentoxifilina y tocoferol α*
 - La pentoxifilina es un derivado de la metilxantina empleado en la enfermedad vascular (como la claudicación intermitente) que incrementa la flexibilidad de los eritrocitos, vasodilata e inhibe las reacciones inflamatorias y la liberación de factores de necrosis tumoral, favorece la proliferación de fibroblastos y promueve la actividad colagenasa.
 - El tocoferol α reduce la producción de radicales libres protegiendo la membrana celular. Los daños inespecíficos del tejido conectivo y matriz extracelular, así como el infiltrado inflamatorio, pueden reducirse con la administración conjunta de estos antioxidantes.

La combinación de estos dos fármacos ha demostrado, tanto en experimentación animal como en humanos, una reducción de la fibrosis superficial generada por la radioterapia²⁶. En este ensayo clínico de fase II de Letur-Könirsch *et al.* se observó que las pacientes sometidas a radioterapia y que recibieron terapia combinada con pentoxifilina (800 mg/día) y tocoferol (1000 UI/día) junto con terapia hormonal sustitutiva habitual a largo plazo (6 meses) mostraban unos mayores grosores endometrial y miometrial junto a un aumento del flujo diastólico en la arteria uterina. Esta terapia es generalmente bien tolerada y, por tanto, puede mantenerse de forma prolongada. Aun así, se necesitan estudios bien diseñados para confirmar su utilidad, dosificación óptima y perfil de seguridad.

- *Mejoría, personalización y disminución de la iatrogenia* en las técnicas de administración de radioterapia. La tomoterapia y la estereotaxia limitan el daño de los tejidos⁷¹.
- *Trasposición del útero*. Se trata de una técnica aún en evaluación que, al igual que la trasposición de los ovarios, pretende reubicar quirúrgicamente el útero en la parta alta del abdomen para evitar su irradiación. Todavía no se ha comunicado éxito reproductivo en estas pacientes y sus limitaciones son evidentes, por lo que se necesita más experiencia e información sobre los resultados de esta técnica. En este sentido, hay en marcha un ensayo clínico (NCT03040921) cuyas conclusiones se prevén para finales del 2020^{72,73}.
- *Trasplante uterino*. Se han descrito múltiples casos con éxito, si bien todavía se considera una técnica experimental con riesgos asociados a la medicación inmunosupresora y al acto quirúrgico^{74,75}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kasius A, Smit JG, Torrance HL, Eijkemans MJ, Mol BW, Opmeer BC, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and metaanalysis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(4):530-41.
2. Ribeiro VC, Santos-Ribeiro S, De Munck N, Drakopoulos P, Polyzos NP, Schutyser V, et al. Should we continue to measure endometrial thickness in modern-day medicine? The effect on live birth rates and birth weight. *Reprod Biomed Online*. 2018;36:416-26.
3. Mouhayar Y, Sharara FI. G-CSF and stem cell therapy for the treatment of refractory thin lining in assisted reproductive technology. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34:831-7.
4. García-Velasco JA, Acevedo B, Álvarez C, Álvarez M, Bellver J, Fontes J, et al. Strategies to manage refractory endometrium: state of the art in 2016. *Reprod Biomed Online*. 2016;32:474-89.
5. Santamaría X, Cabanillas S, Cervelló I, Arbona C, Raga F, Ferro J, et al. Autologous cell therapy with CD133+ bone marrow-derived stem cells for refractory Asherman's syndrome and endometrial atrophy: a pilot cohort study. *Hum Reprod*. 2016;31:1087-96.
6. Liu KE, Hartman M, Hartman A. Management of thin endometrium in assisted reproduction: a clinical practice guideline from the Canadian Fertility and Andrology Society. *Reprod Biomed Online*. 2019;39:49-62.
7. Liu KE, Hartman M, Hartman A, Luo ZC, Mahutte N. The impact of a thin endometrial lining on fresh and frozen-thaw IVF outcomes: an analysis of over 40000 embryo transfers. *Hum Reprod*. 2018;33:1883-8.
8. Chen MJ, Yang JH, Peng FH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Extended estrogen administration for women with thin endometrium in frozen-thawed in-vitro fertilization programs. *J Assist Reprod Genet*. 2006;23:337-42.
9. Liao X, Li Z, Dong X, Zhang H. Comparison between oral and vaginal estrogen usage in inadequate endometrial patients for frozen-thawed blastocysts transfer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7:6992-7.
10. Dmowski WP, Michalowska J, Rana N, Friberg J, McGill-Johnson E, DeOrio L. Subcutaneous estradiol pellets for endometrial preparation in donor oocyte recipients with a poor endometrial response. *J Assist Reprod Genet*. 1997;14:139-44.
11. Check JH, Graziano V, Lee G, Nazari A, Choe JK, Dietterich C. Neither sildenafil nor vaginal estradiol improves endometrial thickness in women with thin endometria after taking oral estradiol in graduating dosages. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2004;31:99-102.
12. Zolghadri J, Haghbin H, Dadras N, Behdin S. Vagifem is superior to vaginal Premarin in induction of endometrial thickness in the frozen-thawed cycle patients with refractory endometria: a randomized clinical trial. *Iran J Reprod Med*. 2014;12:415-20.
13. Perrier d'Hauterive S, Berndt S, Tsampalas M, Charlet-Renard C, Dubois M, Bourgain C, et al. Dialogue between blastocyst hCG and endometrial LH/hCG receptor: which role in implantation? *Gynecol Obstet Invest*. 2007;64:156-60.
14. Licht P, von Wolff M, Berkholz A, Wildt L. Evidence for cycle-dependent expression of full-length human chorionic gonadotropin/uteinizing hormone receptor mRNA in human endometrium and decidua. *Fertil Steril*. 2003;79(Suppl 1):718-23.
15. Papanikolaou EG, Kyrou D, Zervakakou G, Paggou E, Humaidan P. Follicular HCG endometrium priming for IVF patients experiencing resisting thin endometrium. A proof of concept study. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30:1341-5.
16. Davar R, Miraj S, Farid Mojtahedi M. Effect of adding human chorionic gonadotropin to frozen thawed embryo transfer cycles with history of thin endometrium. *Int J Reprod Biomed*. 2016;14:53-6.
17. Prapas N, Tavaniotou A, Panagiotidis Y, Prapa S, Kasapi E, Goudakou M, et al. Low-dose human chorionic gonadotropin during the proliferative phase may adversely affect endometrial receptivity in oocyte recipients. *Gynecol Endocrinol*. 2009;25:53-9.

18. Glujovsky D, Pesce R, Fiszbajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;CD006359.
19. Tesarik J, Hazout A, Mendoza C. Enhancement of embryo developmental potential by a single administration of GnRH agonist at the time of implantation. *Hum Reprod.* 2004;19:1176-80.
20. Qublan H, Amarin Z, Al-Qudah M, Diab F, Nawasreh M, Malkawi S, et al. Luteal phase support with GnRH-a improves implantation and pregnancy rates in IVF cycles with endometrium of < or = 7 mm on day of egg retrieval. *Hum Fertil.* 2008;11:43-7.
21. Sher G, Fisch JD. Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2000;15:806-9.
22. Sher G, Fisch JD. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil Steril.* 2002;78:1073-6.
23. Zinger M, Liu JH, Thomas MA. Successful use of vaginal sildenafil citrate in two infertility patients with Asherman's syndrome. *J Womens Health.* 2006;15:442-4.
24. Takasaki A, Tamura H, Miwa I, Taketani T, Shimamura K, Sugino N. Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. *Fertil Steril.* 2010;93:1851-8.
25. Dehghani Firouzabadi R, Davar R, Hojjat F, Mahdavi M. Effect of sildenafil citrate on endometrial preparation and outcome of frozen-thawed embryo transfer cycles: a randomized clinical trial. *Iran J Reprod Med.* 2013;11:151-8.
26. Ledee-Bataille N, Olivennes F, Lefaix JL, Chaouat G, Frydman R, Delanian S. Combined treatment by pentoxifylline and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation programme. *Hum Reprod.* 2002;17:1249-53.
27. Letur-Konirsch H, Delanian S. Successful pregnancies after combined pentoxifylline-tocopherol treatment in women with premature ovarian failure who are resistant to hormone replacement therapy. *Fertil Steril.* 2003;79:439-41.
28. Letur-Konirsch H, Guis F, Delanian S. Uterine restoration by radiation sequelae regression with combined pentoxifylline-tocopherol: a phase II study. *Fertil Steril.* 2002;77:1219-26.
29. Acharya S, Yasmin E, Balen AH. The use of a combination of pentoxifylline and tocopherol in women with a thin endometrium undergoing assisted conception therapies: a report of 20 cases. *Hum Fertil.* 2009;12:198-203.
30. Weckstein LN, Jacobson A, Galen D, Hampton K, Hammel J. Low-dose aspirin for oocyte donation recipients with a thin endometrium: prospective, randomized study. *Fertil Steril.* 1997;68:927-30.
31. Bodombossou-Djobo MM, Zheng C, Chen S, Yang D. Neuromuscular electrical stimulation and biofeedback therapy may improve endometrial growth for patients with thin endometrium during frozen-thawed embryo transfer: a preliminary report. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011;9:122.
32. Chang Y, Li J, Chen Y, Wei L, Yang X, Shi Y, et al. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:1286-90.
33. Jang HY, Myoung SM, Choe JM, Kim T, Cheon YP, Kim YM, et al. Effects of autologous platelet-rich plasma on regeneration of damaged endometrium in female rats. *Yonsei Med J.* 2017;58:1195-203.
34. Tandulwadkar SR, Naralkar MV, Surana AD, Selvakarthick M, Kharat AH. Autologous intrauterine platelet-rich plasma instillation for suboptimal endometrium in frozen embryo transfer cycles: a pilot study. *J Hum Reprod Sci.* 2017;10:208-12.
35. Zadehmodarres S, Salehpour S, Saharkhiz N, Nazari L. Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study. *JBRA Assist Reprod.* 2017;21:54-6.

36. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*. 2004;34:665-71.
37. Kim H, Shin JE, Koo HS, Kwon H, Choi DH, Kim JH. Effect of autologous platelet-rich plasma treatment on refractory thin endometrium during the frozen embryo transfer cycle: a pilot study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:61.
38. Chang Y, Li J, Wei LN, Pang J, Chen J, Liang X. Autologous platelet-rich plasma infusion improves clinical pregnancy rate in frozen embryo transfer cycles for women with thin endometrium. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98:e14062.
39. Eftekhar M, Neghab N, Naghshineh E, Khani P. Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018;57:810-3.
40. Wang X, Liu L, Mou S, Zhao H, Fang J, Xiang Y, et al. Investigation of platelet-rich plasma in increasing proliferation and migration of endometrial mesenchymal stem cells and improving pregnancy outcome of patients with thin endometrium. *J Cell Biochem*. 2018. doi: 10.1002/jcb.28014.
41. Nazari L, Salehpour S, Hoseini S, Zadehmodarres S, Ajori L. Effects of autologous platelet-rich plasma on implantation and pregnancy in repeated implantation failure: a pilot study. *Int J Reprod Biomed*. 2016;14:625-8.
42. Nazari L, Salehpour S, Hosseini MS, Hashemi Moghanjoughi P. The effects of autologous platelet-rich plasma in repeated implantation failure: a randomized controlled trial. *Hum Fertil (Camb)*. 2019:1-5.
43. Aghajanova L, Cedars MI, Huddleston HG. Platelet-rich plasma in the management of Asherman syndrome: case report. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35:771-5.
44. Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Lazaros L, Rapani A, Pantou A, et al. Successful implantation and live birth following autologous platelet-rich plasma treatment for a patient with recurrent implantation failure and chronic endometritis. *In Vivo*. 2019;33:515-21.
45. Simoni M, Taylor HS. Therapeutic strategies involving uterine stem cells in reproductive medicine. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2018;30:209-16.
46. Santamaría X, Mas A, Cervelló I, Taylor H, Simón C. Uterine stem cells: from basic research to advanced cell therapies. *Hum Reprod Update*. 2018;24:673-93.
47. Lee YJ, Yi KW. Bone marrow-derived stem cells contribute to regeneration of the endometrium. *Clin Exp Reprod Med*. 2018;45:149-53.
48. Cervelló I, Gil-Sanchis C, Santamaría X, Cabanillas S, Díaz A, Faus A, et al. Human CD133(+) bone marrow-derived stem cells promote endometrial proliferation in a murine model of Asherman syndrome. *Fertil Steril*. 2015;104:1552-60 e1-3.
49. Nagori CB, Panchal SY, Patel H. Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by conception by in vitro fertilization in a patient of severe Asherman's syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 2011;4:43-8.
50. Singh N, Mohanty S, Seth T, Shankar M, Bhaskaran S, Dharmendra S. Autologous stem cell transplantation in refractory Asherman's syndrome: a novel cell based therapy. *J Hum Reprod Sci*. 2014;7:93-8.
51. Gleicher N, Vidali A, Barad DH. Successful treatment of unresponsive thin endometrium. *Fertil Steril*. 2011;95:2123 e13-7.
52. Gleicher N, Kim A, Michaeli T, Lee HJ, Shohat-Tal A, Lazzaroni E, et al. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to standard therapies. *Hum Reprod*. 2013;28:172-7.
53. Kunicki M, Łukaszuk K, Woclawek-Potocka I, Liss J, Kulwikowska P, Szczyptanska J. Evaluation of granulocyte colony-stimulating factor effects on treatment-resistant thin endometrium in women undergoing in vitro fertilization. *Biomed Res Int*. 2014;2014:913235.

54. Sarvi F, Arabahmadi M, Alleyassin A, Aghahosseini M, Ghasemi M. Effect of increased endometrial thickness and implantation rate by granulocyte colony-stimulating factor on unresponsive thin endometrium in fresh in vitro fertilization cycles: a randomized clinical trial. *Obstet Gynecol Int.* 2017;2017:3596079.
55. Barad DH, Yu Y, Kushnir VA, Shohat-Tal A, Lazzaroni E, Lee HJ, et al. A randomized clinical trial of endometrial perfusion with granulocyte colony-stimulating factor in in vitro fertilization cycles: impact on endometrial thickness and clinical pregnancy rates. *Fertil Steril.* 2014;101:710-5.
56. Lian R, Wang X, Lin R, Zeng H, Zeng Y, Liu S. Evaluation of granulocyte colony-stimulating factor on the treatment of thin endometrium during frozen-thawed embryo transfer cycles: a retrospective cohort study. *Gynecol Endocrinol.* 2019:1-5.
57. Li J, Mo S, Chen Y. The effect of G-CSF on infertile women undergoing IVF treatment: a meta-analysis. *Syst Biol Reprod Med.* 2017;63:239-47.
58. Xie Y, Zhang T, Tian Z, Zhang J, Wang W, Zhang H, et al. Efficacy of intrauterine perfusion of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for infertile women with thin endometrium: a systematic review and metaanalysis. *Am J Reprod Immunol.* 2017;78(2).
59. Eftekhari M, Naghshineh E, Khani P. Role of granulocyte colony-stimulating factor in human reproduction. *J Res Med Sci.* 2018;23:7.
60. Aleyasin A, Abediasl Z, Nazari A, Sheikh M. Granulocyte colony-stimulating factor in repeated IVF failure: a randomized trial. *Reproduction.* 2016;151:637-42.
61. Le Bihan-Benjamin C, Hoog-Labouret N, Lefeuvre D, Carre-Pigeon F, Bousquet PJ. Fertility preservation and cancer: how many persons are concerned? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018;225:232-5.
62. Anderson RA, Brewster DH, Wood R, Nowell S, Fischbacher C, Kelsey TW, et al. The impact of cancer on subsequent chance of pregnancy: a population-based analysis. *Hum Reprod.* 2018;33:1281-90.
63. Wallace WH, Shalet SM, Crowne EC, Morris-Jones PH, Gattamaneni HR. Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood: natural history and prognosis. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 1989;1:75-9.
64. Marci R, Mallozzi M, Di Benedetto L, Schimberni M, Mossa S, Soave I, et al. Radiations and female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16:112.
65. Teh WT, Stern C, Chander S, Hickey M. The impact of uterine radiation on subsequent fertility and pregnancy outcomes. *Biomed Res Int.* 2014;2014:482968.
66. Critchley HO, Wallace WH, Shalet SM, Mamtora H, Higginson J, Anderson DC. Abdominal irradiation in childhood; the potential for pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99:392-4.
67. Beneventi F, Locatelli E, Giorgiani G, Zecca M, Mina T, Simonetta M, et al. Adolescent and adult uterine volume and uterine artery Doppler blood flow among subjects treated with bone marrow transplantation or chemotherapy in pediatric age: a case-control study. *Fertil Steril.* 2015; 103:455-61.
68. Arrive L, Chang YC, Hricak H, Brescia RJ, Auffermann W, Quivey JM. Radiation-induced uterine changes: MR imaging. *Radiology.* 1989;170:55-8.
69. Griffiths MJ, Winship AL, Hutt KJ. Do cancer therapies damage the uterus and compromise fertility? *Hum Reprod Update.* 2019.
70. Vernaev V, Bodri D, Colodron M, Vidal R, Durban M, Coll O. Endometrial receptivity after oocyte donation in recipients with a history of chemotherapy and/or radiotherapy. *Hum Reprod.* 2007;22:2863-7.
71. Ghadjar P, Budach V, Kohler C, Jantke A, Marnitz S. Modern radiation therapy and potential fertility preservation strategies in patients with cervical cancer undergoing chemoradiation. *Radiat Oncol.* 2015;10:50.
72. Ribeiro R, Baiocchi G, Tsunoda AT, Linhares JC, Pareja R. Uterine transposition technique: update and review. *Minerva Ginecol.* 2019;71:62-71.

73. Azais H, Canova CH, Vesale E, Simon JM, Canlorbe G, Uzan C. Laparoscopic uterine fixation to spare fertility before pelvic radiation therapy. *Fertil Steril*. 2018;110:974-5.
74. Brannstrom M, Dahm Kahler P, Greite R, Molne J, Díaz-García C, Tullius SG. Uterus transplantation: a rapidly expanding field. *Transplantation*. 2018;102:569-77.
75. Jones BP, Saso S, Bracewell-Milnes T, Thum MY, Nicopoulos J, Díaz-García C, et al. Human uterine transplantation: a review of outcomes from the first 45 cases. *BJOG*. 2019;126:1310-9.



editorial glosa

ESIA