



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

**ELEVACIÓN DEL NIVEL SÉRICO DE PROGESTERONA EL DÍA
DE LA APLICACIÓN DE hCG Y LA TASA DE EMBARAZO EN
CICLOS DE FIV/ICSI Y ANÁLISIS DE LAS VARIABLES
ASOCIADAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA
EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA

DR. ALEJANDRO KAVA BRAVERMAN

DR. JULIO FRANCISCO DE LA JARA DIAZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

DR. JUAN CARLOS BARROS DELGADILLO

DIRECTOR DE TESIS

M. C. CINTHYA MUÑOZ MANRIQUE

ASESOR METODOLOGICO



MEXICO D.F 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

**ELEVACIÓN DEL NIVEL SÉRICO DE PROGESTERONA EL DÍA
DE LA APLICACIÓN DE hCG Y LA TASA DE EMBARAZO EN
CICLOS DE FIV/ICSI Y ANALISIS DE LAS VARIABLES
ASOCIADAS**



DR. ENRIQUE ALFONSO GÓMEZ SÁNCHEZ

DIRECTOR DE ENSEÑANZA



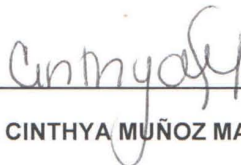
DR. JULIO FRANCISCO DE LA JARA DÍAZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA



DR. JUAN CARLOS BARROS DELGADILLO

DIRECTOR DE TESIS



M. C. CINTHYA MUÑOZ MANRIQUE

ASESOR METODOLOGICO

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	3
RESULTADOS	5
DISCUSIÓN	10
CONCLUSIONES	12
BIBLIOGRAFÍA	13

Resumen

Antecedentes: Los niveles de progesterona (P4) ≥ 1.5 ng/ml el día de la aplicación de hCG se han asociado con un impacto negativo en resultados de ciclos de FIV/ICSI. El riesgo del aumento prematuro de P4 parece asociarse con el número y tamaño de folículos en desarrollo, intensidad de estimulación con FSHr y aumento en niveles de estradiol.

Objetivo: Establecer un punto de corte del nivel de P4 el día de la aplicación de hCG predictivo para tasa de embarazo. Secundariamente buscar la relación de las dosis totales de gonadotropinas, cantidad y tamaño de folículos y niveles de estradiol con el aumento de P4.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, observacional, de una cohorte simple de 700 ciclos de hiperestimulación ovárica controlada de los cuales 528 llegaron a la transferencia embrionaria.

Resultados: Se observó una tendencia de mayor tasa de embarazo con niveles de P4 < 2 ng/ml siendo el mayor porcentaje de embarazo con niveles entre 1.01–2.00 ng/ml. El promedio de folículos totales y maduros de 20.6 y 9.6 respectivamente y nivel de estradiol de 2251.7 pg/ml se asocian con niveles de P4 > 2.00 ng/ml ($p < 0.05$) y así la probabilidad de menor tasa de embarazo.

Conclusión: El aumento de los niveles de P4 > 2 ng/ml el día de la aplicación de hCG parece relacionarse con una disminución de la probabilidad de embarazo en ciclos de FIV/ICSI. El número de folículos totales, maduros y el nivel de estradiol al final de la estimulación se relacionan con la elevación del nivel de P4.

Palabras clave: Elevación de Progesterona, FIV/ICSI, tasa de embarazo, día de la aplicación de hCG

Abstract

Background: The progesterone levels ≥ 1.5 ng/ml on the day of hCG application have been associated with a negative impact on the result of IVF/ICSI cycles. The risk of elevated progesterone levels appears to be associated with the number and size of the developing follicles, the intensity of stimulation with FSHr and the increased levels of estradiol.

Objective: To establish a cutoff level of progesterone on the day of hCG application predictive of pregnancy rate. Secondly, to search for the association of the total dose of gonadotropin, the number and size of follicles and the estradiol levels with increasing P4.

Material and methods: A retrospective, single cohort study of 700 controlled ovarian hyperstimulation cycles, which 528 reached the embryo transfer.

Results: A trend for higher pregnancy rate with P4 levels < 2 ng/ml was observed with the highest percentage of pregnancy with levels between 1.01-2.00 ng/ml. The average total and mature follicles of 20.6 and 9.6 respectively and estradiol level of 2251.7 pg/ml are associated with P4 levels > 2.00 ng/ml ($p < 0.05$) and thus the probability of lower pregnancy rate.

Conclusion: The increase in P4 levels > 2 ng/ml on the day of hCG application seems to be associated with a decreased probability of pregnancy in cycles of IVF/ICSI. The number of total and mature follicles and the estradiol levels at the end of the stimulation are related to the elevation on the level of P4.

Key words: Progesterone elevation, IVF/ICSI, pregnancy rate, day of hCG application.

Introducción

Previo al uso de los análogos de GnRH en ciclos de Fertilización *In Vitro* (FIV), ocurría el pico prematuro de LH en más del 15 al 20 % de los ciclos (1); usualmente éste se presentaba antes de que los folículos estuvieran maduros lo que llevaba a una tasa elevada de cancelación de ciclos, falla en la fertilización de los ovocitos e implantación de los embriones.

La determinación de progesterona (P4) se consideraba una herramienta complementaria para detectar la luteinización parcial de las células de la granulosa atribuida al pico de LH. Los agonistas y antagonistas de GnRH utilizados actualmente, son altamente efectivos para prevenir el pico de LH y han limitado el uso de la determinación de la P4 con este fin. Sin embargo el uso de la medición de la P4 aún se recomienda en diferentes situaciones (2).

A pesar de la supresión efectiva de las gonadotropinas por los análogos de GnRH, el incremento en la P4 se reporta en un rango desde 5 a 35 % de los ciclos estimulados sin elevación previa de LH (3). Debido a que esta elevación ocurre en la ausencia del pico de la LH, no puede considerarse como luteinización prematura. Muchas preguntas han surgido acerca de la causa de la elevación de la P4 previo a la aplicación de la hormona gonadotropina coriónica (hCG).

Los niveles de P4 a partir de 1.5 ng/ml, en el día de la aplicación de la hCG se han asociado con un impacto negativo en los resultados de los ciclos de FIV, principalmente en lo referente a las tasas de implantación y embarazo, independientemente del uso de análogos de GnRH (4). Este punto de corte se acompaña entre otros cambios, de una presencia marcada de la expresión de diferentes genes a nivel de endometrio, lo que puede llevar a una disminución en la receptividad endometrial (5). Se ha propuesto que esta influencia de la P4 en la maduración endometrial puede llevar a la asincronía entre el endometrio y el embrión (6).

Como ya se mencionó, la elevación de la P4 sérica durante la fase folicular en la hiperestimulación ovárica controlada (HOC), no solo se asocia con la elevación previa de LH; el riesgo del aumento prematuro de la P4 parece también estar asociado con el número y tamaño de los folículos en desarrollo, con la intensidad de la estimulación con FSHr y con el consecuente aumento en los niveles de estradiol sérico lo cual se ha reportado como predictivo de la elevación de los niveles de P4 previo a la aplicación de hCG (7).

El objetivo principal de este estudio consiste en establecer un punto de corte del nivel de P4 el día de la aplicación de hCG que pudiera ser predictivo para la tasa de embarazo. Secundariamente se buscará la relación de las dosis totales de gonadotropinas utilizadas, la cantidad y tamaño de los folículos y los niveles de estradiol con el aumento de los niveles de P4.

Material y Método

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, de una cohorte simple de 485 pacientes que se sometieron a 528 ciclos de HOC que llegaron a la transferencia embrionaria; de los cuales en 327 se realizó FIV, en 157 ICSI y en 44 PICS, en la unidad de reproducción asistida del Instituto Nacional de Perinatología durante el periodo de Enero del 2011 a Febrero del 2014.

De manera inicial, se incluyeron un total de 700 ciclos de HOC realizados por 619 pacientes; cancelándose 96 previo a la captura ovular, la mayoría por falta de respuesta a la HOC y 76 que no llegaron a la transferencia embrionaria cancelándose la mayor parte por falla en la fertilización de los ovocitos. Finalmente 528 llegaron a la transferencia embrionaria.

Se utilizaron diferentes protocolos de estimulación ovárica en estos ciclos de acuerdo a características y respuesta de cada paciente y según las preferencias del médico a su cargo.

Se incluyeron todas las pacientes que iniciaron con la HOC dentro del periodo descrito, no aplicándose criterios de exclusión por edad o Índice de masa corporal (IMC). Fueron excluidas las pacientes que por algún motivo no terminaron la HOC, no llegaron a la captura ovular, hubo falla en la fertilización o no se realizó la transferencia de embriones.

Protocolo de estimulación

Se utilizaron varios protocolos de estimulación ovárica: con agonistas de GnRH a base de Acetato de Leuprolide (Lucrin, de Abbott) en protocolo largo y protocolo corto (flare). Estos protocolos se indicaron generalmente en pacientes ≥ 38 años, en pacientes con antecedente de ciclo con antagonista y pobre respuesta o pacientes con baja reserva ovárica. El protocolo largo se inició en la mitad de la fase lútea del ciclo previo a dosis de 1 mg/día subcutáneo (SC), comprobándose desensibilización hipofisiaria el primero o segundo día de menstruación (FSH y LH < 5 UI/ml); una vez comprobada se bajó la dosis a 0.5 mg/día SC y se inició el protocolo de estimulación ovárica respectivo. El protocolo corto (flare) se inició el primer día del ciclo a dosis de 1 mg/día SC bajando la dosis a 0.5 mg/día a partir del cuarto día. En ambos protocolos, se aplicó el agonista hasta el día de la aplicación de hormona gonadotropina coriónica humana recombinante (hCGr)

En la mayoría de los ciclos se usó un antagonista de GnRH a base de Cetrorelix (Cetrotide, de Merck Serono) en esquema de dosis fija y flexible. El esquema de dosis fija inició con 0.25 mg /día SC a partir del día 7 del ciclo y el protocolo flexible inició con la misma dosis a partir del día en que se encontró un folículo ≥ 14 mm, prolongándose la aplicación en ambos esquemas hasta el día de la aplicación de hCGr.

Para la estimulación ovárica propiamente, se utilizó hormona folículo estimulante recombinante (FSHr) en forma de Folitropina Alfa (Gonal F, de Merck Serono) con dosis de inicio entre 150 - 300 UI/día SC y/o hormona gonadotropina menopáusica humana (hMG) (Merapur, de Ferring) con dosis de inicio entre 75 -

150 UI/día SC. La inducción de la ovulación se realizó con hCGr 250 mcg SC (Ovidrel, de Merck Serono).

Las pacientes iniciaron la estimulación ovárica controlada el día 2 ó 3 del ciclo, previo ultrasonido basal en el que se realizó conteo folicular antral y medición de volumen ovárico y previa determinación de FSH, LH y estradiol. Las dosis de gonadotropinas ya descritas se asignaron de acuerdo a edad, resultado de estudios hormonales y ciclos previos entre otras características. Las dosis fueron ajustadas según la respuesta ovárica al seguimiento por ultrasonido y niveles séricos de LH, estradiol y P4; realizándose de haber sido necesario, el ajuste de la dosis en 75 UI a partir del día 7 del ciclo de acuerdo al tamaño y número de folículos y al nivel de estradiol. El seguimiento ultrasonográfico se realizó cada 2 días hasta que se cumplieron los criterios de aplicación de hCGr.

La aplicación de la hCGr se realizó cuando dentro de lo posible se contó con 3 folículos \geq 18 mm de diámetro. La captura ovular se realizó 36 horas posterior a la aplicación de hCGr bajo guía ultrasonográfica y sedación. Los ovocitos capturados fueron fertilizados In Vitro por FIV, PCSI o ICSI y la transferencia embrionaria se realizó 72 horas posterior a la captura ovocitaria.

A todas las pacientes se les administró soporte de la fase lútea con progesterona micronizada (Geslutin, de Asofarma) 600 mg/día vía vaginal. El día 14 posterior a la transferencia embrionaria se realizó determinación de los niveles séricos de hCG, a las pacientes con resultados positivos se les realizó seguimiento con ultrasonido para determinar la tasa de implantación y de embarazo clínico.

Análisis de hormonas

Las concentraciones séricas de FSH, LH, estradiol, progesterona y unidad beta de hCG se determinaron por inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida (IMMULITE® 2000 Systems, SIEMENS). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 3.1% y 7.9% para FSH, de 3.5% y 7.1% para LH, de 4.9% y 7.1% para estradiol, de 7% y 9.5% para progesterona y de 2.5% y 4.8% para la unidad beta de hGC.

Análisis estadístico

La descripción de las variables se realizó utilizando media, desviación estándar, mínimo, máximo, frecuencias y porcentajes. Para las variables cuantitativas se evaluó la normalidad con la prueba de Kolmogorov - Smirnov. La diferencia de tasa de embarazo por grupo de concentración de P4 se evaluó con χ^2 . Se utilizó U Mann-Whitney para evaluar la relación entre las concentraciones de FSH, niveles de estradiol, número de folículos totales, y folículos maduros por grupo de concentración de P4. Para establecer el mejor punto de corte de sensibilidad y especificidad para elevación de la P4 el día de la aplicación de hCG, se evaluó el área bajo la curva de las concentraciones de estradiol, el número de folículos totales y el número de folículos maduros. Se consideró una significancia estadística con una $p < 0.05$. Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 20.

Resultados

Características clínicas basales de la población

La edad promedio de las pacientes fue de 33.8 años (20 a 43 años), con un IMC de 25.4 Kg/m² (17.4 a 37.5 Kg/m²), teniendo el 48 % sobrepeso y el 6.9 % obesidad. El 61 % cursó con infertilidad primaria, siendo la causa principal de ésta, el factor mixto en el 51.1 % seguido del factor tubo-peritoneal en 19.7 %. El nivel basal de FSH de las pacientes fue de 7.28 mIU/ml. Tabla 1.

Tabla 1. Características clínicas basales de la población		
	Media	DE
Edad (años)	33.8	3.7
Edad de la pareja	35.9	5.4
IMC (Kg/m ²)	25.4	3.2
Años de infertilidad	6.4	3.4
Niveles basales de FSH (mIU/ml)	7.2	4.6
Tipo de infertilidad	N	%
Primaria	427	61
Secundaria	273	39
Causa de la infertilidad		
Factor endocrino-ovárico	98	14
Factor tubo-peritoneal	138	19.7
Endometriosis grado III - IV	23	3.3
Factor Uterino	20	2.9
Factor masculino	30	4.3
Factor Mixto	358	51.1
Otro	33	4.7

Características de los ciclos de HOC

El 59.7 % de las pacientes se estimuló con FSHr, el 37.3 % con FSHr + hMG y el resto con hMG únicamente. En el 80 % de los ciclos se usó como análogo un antagonista de GnRH.

La duración media de la estimulación fue de 9.0 días, utilizando una dosis media total de FSH de 2262 UI, el número de folículos maduros fue de 7.2 y el grosor endometrial el día de aplicación de hCG fue de 10.6 mm. El promedio de ovocitos maduros capturados fue de 6.3, el de ovocitos fertilizados de 4.9 y se transfirieron en promedio 1.8 embriones. Tabla 2. En el 61 % de los ciclos se realizó FIV.

Tabla 2. Características de los ciclos de HOC

	Mínimo	Máximo	Medía	DE
Días de estimulación	5	13	9.0	1.3
Dosis total de FSH (UI)	650	5400	2262	840
Número de folículos totales	1	59	13.6	9.7
Número de folículos maduros \geq 16 mm	0	37	7.2	5.8
Día del disparo	9	15	11.4	1.2
Número de ovocitos capturados	0	48	7.7	6.5
Número de ovocitos en metafase II	0	40	6.3	5.8
Número de ovocitos fertilizados	0	24	4.9	4.7
Número de embriones transferidos	0	3	1.8	1.2
Grosor endometrial al disparo (mm)	4	19	10.6	2.3

Niveles hormonales

En día 7 de estimulación el nivel promedio de LH, P4 y estradiol fue de 2.21 ± 2.18 mIU/ml, 0.53 ± 0.49 ng/ml y 552 ± 442 pg/ml respectivamente y en el día de la aplicación de hCG los niveles de P4 y estradiol fueron de 1.07 ± 0.68 ng/ml y 668 ± 1024 pg/ml respectivamente. Tabla 3.

Tabla 3. Niveles hormonales séricos

	Mínimo	Máximo	Medía	DE
Nivel basal de LH (mUI/ml)	0.1	61.2	4.4	6.2
Nivel basal de Estradiol (pg/ml)	7	354	40.7	43.1
Nivel de LH día 7 (mUI/ml)	0.2	16.7	2.2	2.1
Nivel de estradiol día 7 (pg/ml)	20	2066	552	442
Nivel de progesterona día 7 (ng/ml)	0.03	6.34	0.53	0.4
Nivel de LH el día de aplicación de hCG (mUI/ml)	0.04	21.7	1.3	1.7
Nivel de progesterona el día de aplicación de hCG (ng/ml)	0.1	6.34	1.0	0.6
Nivel de estradiol el día de aplicación de hCG (pg/ml)	169	5435	1668	1024

Resultados de los ciclos de FIV/ICSI

La tasa de implantación fue de 19.3% y la tasa de embarazo clínico de 31%. Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de los ciclos de FIV/ICSI

	%
Tasa de fertilización	66
Tasa de implantación	19.3
Tasa de embarazo clínico	31
Tasa de embarazo en curso	22.1

Relación del embarazo clínico con los niveles hormonales de P4

Para efecto de encontrar un punto de corte en el nivel de P4 asociado con el embarazo, se analizó el comportamiento de las tasas de embarazo de acuerdo a intervalos: < 1, 1.01 a 1.50, 1.51 a 2.00 y > 2 ng/ml.

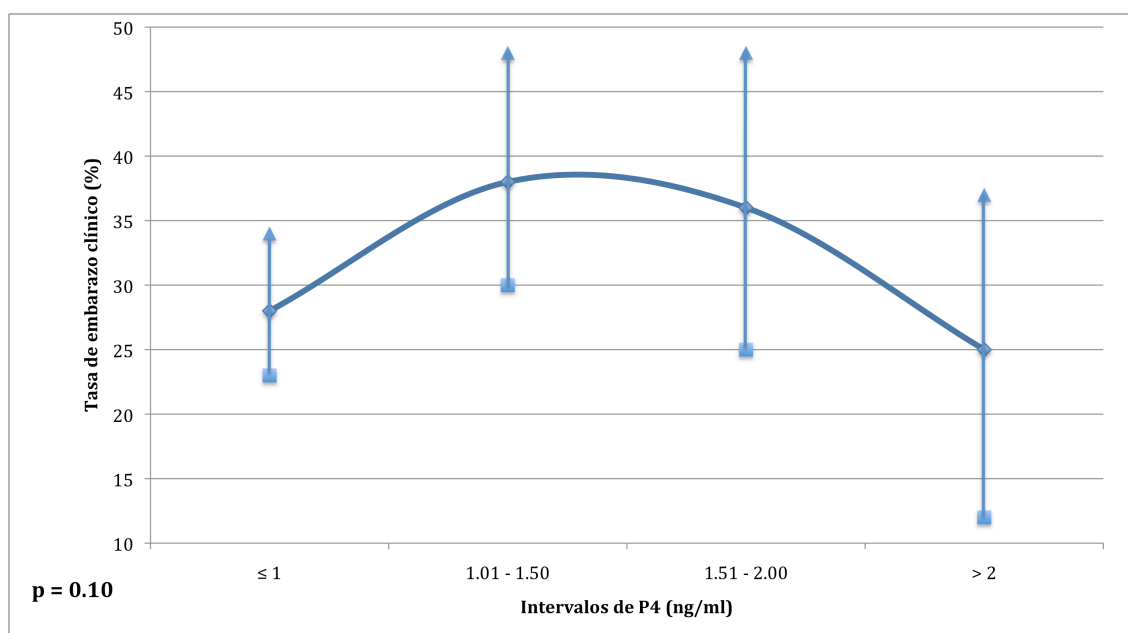
Del total de embarazos clínicos, el 47 % se lograron con niveles séricos de P4 \leq 1 ng/ml, el 29.6 % con niveles entre 1.01 a 1.50, el 16.1 % con niveles entre 1.51 a 2.00 y 7 % con niveles > 2.

Respecto a las tasas de embarazo de acuerdo al intervalo analizado, no se observaron diferencias significativas entre ellas ($p = 0.10$) Tabla 5. Se observó una tendencia a encontrar mayores tasas de embarazo con niveles de P4 < 2 ng/ml siendo el porcentaje de embarazo mayor con niveles entre 1.01 - 2.00 ng/ml, Gráfica 1.

Tabla 5. Tasas de embarazo de acuerdo al intervalo analizado					
Intervalos de P4 (ng/ml)	Número de EC	Total	EC (%)	Tasa de EC (%)	IC 95 %
≤ 1.00	73	255	47	28.6	23 - 34
1.01 - 1.50	46	116	29.6	39.6	30 - 48
1.51 - 2.00	25	68	16.1	36.7	25 - 48
> 2.00	11	44	7	25.0	12 - 37

EC, Embarazo clínico. IC 95 %, Intervalos de confianza del 95 %, $p = 0.10$

Gráfica 1.



Relación de la dosis total de FSH, folículos totales, maduros y los niveles de estradiol con los niveles de P4 el día de la aplicación de hCG.

Basados en la fisiopatología de la elevación de la P4 el día de la aplicación de hCG y su efecto deletéreo en las tasas de embarazo, se analizó la relación de la dosis total de FSH utilizada por las pacientes, el número de folículos totales, maduros y el nivel de estradiol con el nivel de P4 y la tasa de embarazo.

Inicialmente se analizó la relación de las variables arriba enumeradas con el punto de corte del nivel de P4 el día de la aplicación de hCG de > 1.5 ng/ml, basado en publicaciones anteriores que han encontrado este punto de corte como predictivo de embarazo (4).

La dosis total de FSH utilizada no se relacionó con un nivel de P4 > 1.5 ng/ml el día de la aplicación de hCG ($p = 0.159$); a diferencia de el número de folículos totales, maduros y nivel de estradiol que fueron significativamente mayores con niveles de P4 > 1.5 ng/ml ($p < 0.05$). Tabla 6.

Vale la pena resaltar que el promedio de folículos totales y maduros que se asocian con un nivel de P4 ≤ 1.5 ng/ml son 14.6 y 8.1 respectivamente, pudiendo servir como valores promedios asociados con una mejor tasa de embarazo. Así mismo niveles de estradiol promedio de 2171.1 pg/ml se asocian con P4 > 1.5 ng/ml y consiguientemente la probabilidad de menor tasa de embarazo.

Tabla 6. Relación de la dosis total de FSH, folículos totales, maduros y los niveles de estradiol con un punto de corte del nivel de P4 el día de la aplicación de hCG (1.5 ng/ml).			
P4 el día de aplicación de hCG	≤ 1.5 ng/ml	> 1.5 ng/ml	P*
Dosis total de FSH	2284.7 \pm 864.1	2156.0 \pm 703.4	0.159
Número de folículo totales	14.6 \pm 8.87	19.44 \pm 8.7	< 0.001
Número de folículos maduros ≥ 16 mm	8.19 \pm 5.7	9.2 \pm 5.1	0.042
Nivel de estradiol el día de aplicación de hCG (pg/ml)	1513.9 \pm 913.0	2171.2 \pm 1223.5	< 0.001
* Prueba de U Mann-Whitney			

Al observar en el presente estudio una tendencia en la disminución de la probabilidad de embarazo con niveles de P4 el día de la aplicación de hCG > 2.00 ng/ml, se decidió utilizar este punto de corte para realizar el análisis comparativo en cuanto a la dosis total de FSH, folículos totales, maduros y niveles de estradiol el día de la aplicación de hCG.

Nuevamente, la dosis total de FSH utilizada no se relacionó con un nivel de P4 > 2 ng/ml el día de la aplicación de hCG ($p = 0.549$); e igualmente el número de folículos totales, maduros y nivel de estradiol se encontraron significativamente elevados con este nivel de P4 ($p < 0.05$).

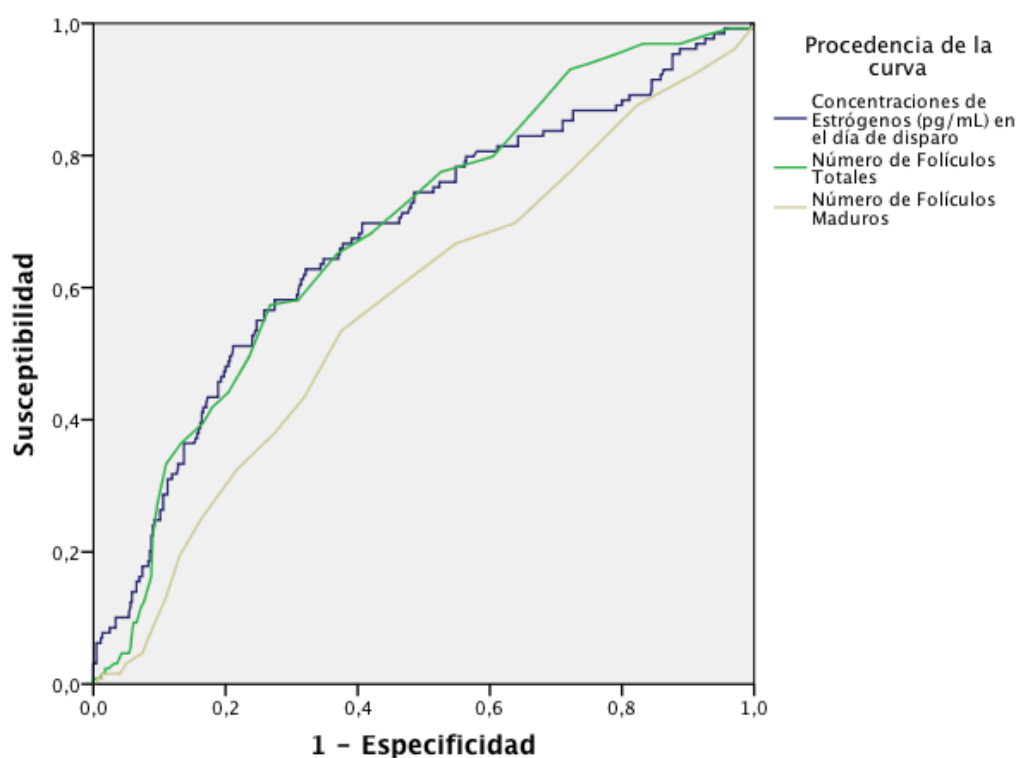
El promedio de folículos totales y maduros asociados con un nivel de P4 ≤ 2.00 ng/ml son de 15.2 y 8.3 respectivamente, pudiendo así mismo, servir como valores promedios de referencia asociados a una mejor tasa de embarazo. De igual manera un nivel de estradiol promedio de 2251.7 pg/ml se asocia con P4 > 2.00 ng/ml y consiguientemente la probabilidad de menor tasa de embarazo. Tabla 7.

Tabla 7. Relación de la dosis total de FSH, folículos totales, maduros y los niveles de estradiol con un punto de corte del nivel de P4 el día de la aplicación de hCG (2.0 ng/ml).			
P4 el día de aplicación de hCG	≤ 2.00 ng/ml	> 2.00 ng/ml	P*
Dosis total de FSH	2260.5 ± 837.3	2207.8 ± 780.9	0.549
Número de folículos totales	15.2 ± 8.9	20.6 ± 8.6	< 0.001
Número de folículos maduros ≥ 16 mm	8.3 ± 5.5	9.6 ± 5.2	0.012
Nivel de estradiol el día de aplicación de hCG (pg/ml)	1610.4 ± 991.2	2251.7 ± 1230.3	< 0.001

* Prueba de U Mann-Whitney

Con el fin de establecer un punto de corte del número de folículos totales, maduros y el nivel de estradiol para predecir la elevación del nivel de P4 > 1.5 ng/ml el día de aplicación de hCG, se analizó el área bajo la curva ROC, no encontrando un punto de corte con buena sensibilidad y especificidad para ninguna de las variables analizadas. Gráfica 2.

Gráfica 2. Curva ROC



Discusión

El objetivo principal del estudio fue el de establecer un punto de corte en el nivel de P4 el día de la aplicación de hCG y su efecto deletéreo en cuanto a la predicción de tasas menores de implantación y embarazo. En nuestro estudio se observó una tendencia a mayores tasas de embarazo clínico con niveles de $P4 \leq 2$ ng/ml. Lo anterior se sustenta por publicaciones que han establecido diferentes puntos de corte en los niveles de P4 (8).

La relación de los niveles de P4 el día de la aplicación de hCG con la tasa de embarazo ha sido un tema controversial por muchos años. C.A. Ventis, et al (9) en 2007 realizaron una revisión sistémica con metanálisis en donde no se encontró una diferencia significativa entre la elevación de los niveles de P4 y la probabilidad de embarazo en ciclos de FIV (OR 0.75, IC 95 % 0.53 – 1.06; $p=0.10$). Por otro lado un artículo publicado por E. Bosch, et al. (4), quienes analizaron 4000 ciclos de FIV/ICSI y encontraron un nivel de P4 el día de la aplicación de hCG mayor a 1.5 ng/ml como punto de corte para un efecto deletéreo en la tasa de embarazo, reportando con niveles de $P4 \leq 1.5$ ng/ml, una tasa de embarazo en curso de 31 % vs. 19.1 % con niveles de $P4 > 1.5$ ng/ml (OR 0.53, IC 95 % 0.38 – 0.72).

Posteriormente en 2012 D. Kyrou, et al. (7) publicaron un estudio en el que confirmaron un nivel de $P4 > 1.5$ ng/ml el día de la aplicación de la hCG, como punto de corte, obteniendo tasas de embarazo con niveles de $P4 \leq 1.5$ ng/ml de 32.7 % y con niveles de $P4 > 1.5$ ng/ml de 17.8 % ($p < 0.05$).

Recientemente los mismos autores del metanálisis antes mencionado (9), publicaron en 2013 una revisión sistemática con metanálisis (8), que incluyó 60,000 ciclos, observando una disminución significativa de la probabilidad de embarazo con la elevación de el nivel de P4 el día de la aplicación de hCG a partir de 0.8 ng/ml, con la siguiente distribución entre intervalos de P4: 0.8 – 1.1 ng/ml (OR 0.79); 1.2 – 1.4 ng/ml (OR 0.67); 1.5 – 1.75 ng/ml (OR 0.64); 1.9 – 3 ng/ml OR 0.68). Los autores concluyen que la elevación en los niveles de P4 el día de la aplicación de hCG se asocia a una disminución de la probabilidad de embarazo en los ciclos de FIV.

En nuestro estudio no se observó una diferencia significativa para la tasa de embarazo clínico cuando fue propuesto un punto de corte de P4 el día de la aplicación de hCG de 1.5 ng/ml, pero sí una tendencia a observar menor tasa de embarazo a partir de una $P4 > 2$ ng/ml.

La fisiopatología de la elevación en los niveles de P4 que se observa durante la HOC en los ciclos de FIV/ICSI no es posible explicarla debido sólo a la luteinización de las células de la granulosa, ya que esto ocurre aún con el uso de análogos de GnRH y por lo tanto con niveles bajos de LH (4). La FSH actúa en las células de la granulosa promoviendo la conversión de colesterol en pregnenolona, que pasa a la célula de la teca para convertirse a andrógenos bajo la influencia de LH. Los andrógenos pasan posteriormente a la célula de la granulosa para convertirse en estradiol: la hipótesis clásica “2 células, dos gonadotropinas” (10). Previo a la luteinización, la LH actúa para reducir la P4 circulante promoviendo la formación de andrógenos que posteriormente se aromatizan a estrógenos por las células de

la granulosa. Por lo tanto, en un ovario con múltiples folículos estimulados por altas concentraciones de FSH se puede anticipar mayor producción de P4 a comparación de una fase folicular media normal con un solo folículo, particularmente si la acción de la FSH no esta balanceada con la actividad de la LH (2).

Basado en la fisiopatología anteriormente descrita, durante los ciclos de HOC se produce el crecimiento de múltiples folículos lo cual resulta en un nivel suprafisiológico de estradiol durante la fase folicular y a su vez, los niveles de P4 se relacionan directamente con el número de folículos y la estimulación exógena con FSH. Los mayores componentes que pueden contribuir al grado de secreción de P4 por los ovarios son el número de folículos, la acción de la FSH en las células de la granulosa y la acción de la LH en las células de la teca que pueden favorecer la conversión a andrógenos y posteriormente a estradiol (11).

Con base a lo anterior, se decidió establecer puntos de corte de la dosis total de FSH, número de folículos totales y maduros y niveles de estradiol al final de la estimulación ovárica, como factores predisponentes de la elevación de P4 el día de la aplicación de hCG.

Basados en lo reportado en la literatura (4), y tomando un punto de corte del nivel de P4 de 1.5 ng/ml por encima y por debajo del cual disminuyen y aumentan las tasas de embarazo, se buscó encontrar el promedio en los niveles de la dosis total de FSH utilizada durante el ciclo, el número de folículos totales y maduros y el nivel de estradiol a partir del cual se dió la elevación de la P4 por encima de 1.5 ng/ml; encontrando que a partir de 19.4 folículos totales, 9.2 folículos maduros y 2171.2 pg/ml de estradiol se eleva la P4 por encima de este nivel. Sin embargo en nuestro estudio no encontramos diferencia significativa en la tasa de embarazo con este punto de corte de P4 mayor de 1.5 ng/ml, pero si se observó una tendencia a la disminución de la tasa de embarazo con niveles > 2 ng/ml por lo cual entonces se decidió investigar los promedios de las mismas variables pero esta vez que dieran lugar a este nivel de P4; encontrando que a partir de 20.6 folículos totales, 9.6 folículos maduros y 2251.7 pg/ml de estradiol se eleva la P4 significativamente por encima de este nivel.

La curva ROC se utilizó para intentar proponer un punto de corte en el número de folículos totales y maduros y el nivel de estradiol el día de la aplicación de hCG para la predicción de la elevación de los niveles de P4, sin embargo no se logró obtener valores con una sensibilidad y especificidad adecuada para poder utilizar estos parámetros como pruebas diagnósticas, esto probablemente debido a que la relación de la elevación de los niveles de P4 y embarazo no es lineal.

El mecanismo fisiopatológico por el cual la elevación en los niveles de P4 el día de la aplicación de hCG afectan la tasa de embarazo, no esta claro. Se ha propuesto que el mecanismo involucrado es la influencia sobre la maduración endometrial que puede llevar a una asincronía entre el endometrio y el embrión en desarrollo (12). Labarta et al. (5) demostraron que se observan diferencias significativas en el nivel de expresión génica entre muestras de endometrio expuestas a concentraciones bajas y altas de P4 en el día de la aplicación de hCG. Esto podría explicar la incapacidad de la receptividad endometrial en la presencia de la

elevación de P4. Por otro lado no se ha encontrado un impacto negativo del aumento de la P4 en la calidad ovocitaria y embrionaria (13 – 17).

Las tasas de embarazo en relación con los niveles de P4 el día de la aplicación de hCG en nuestro estudio, fueron tan altas como 39.6 % (IC 95 %, 30 – 48) en el grupo de P4 1.01 – 1.50 ng/ml, y tan bajas como 25 % (IC 95 %, 12 – 37) en el grupo de P4 > 2, sin embargo no se observó una diferencia significativa, al comparar los diferentes grupos ($p = 0.10$), encontrando una tendencia a la disminución de la probabilidad de embarazo con niveles de P4 > 2 ng/ml.

El presente estudio tuvo ciertas limitaciones, como el diseño retrospectivo y probablemente el tamaño de la muestra para poder demostrar una diferencia significativa en la disminución de la probabilidad de embarazo en ciclos con el aumento de P4 el día de la aplicación de hCG. Se deben realizar estudios prospectivos en esta población, con mayor número de pacientes.

Conclusión

El aumento de los niveles de P4 > 2 ng/ml el día de la aplicación de hCG parece relacionarse con una disminución de la probabilidad de embarazo en ciclos de FIV/ICSI; observándose una tendencia a mejores tasas de embarazo con niveles de P4 1.01 – 1.50 ng/ml.

En el estudio se encontraron valores promedios en el número de folículos totales y maduros y el nivel de estradiol al final de la estimulación que se relacionan de manera significativa con la elevación del nivel de P4. Estos niveles podrían servir de referencia al momento de la HOC en poblaciones similares para evitar dicha elevación y por lo tanto el compromiso en la tasa de embarazo o valorar la vitrificación y posterior transferencia de los embriones.

Los hallazgos del presente estudio sientan la base para la futura realización de estudios prospectivos que pudiesen confirmar o rechazar lo encontrado en la presente investigación.

Referencias

- 1.- Felberbaum RE, Albano C, Ludwig M, Riethmüller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, Diedrich K. Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study. *Hum Reprod.* 2000;15:1015-20.
- 2.- Al-Azemi M, Kyrou D, Kolibianakis EM, Humaidan P, Van Vaerenbergh I, Devroey P, Fatemi HM. Elevated progesterone during ovarian stimulation for IVF. *Reprod Biomed Online.* 2012;24:381-8.
- 3.- Edelstein MC, Seltman HJ, Cox BJ, Robinson SM, Shaw RA, Muasher SJ. Progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in cycles with gonadotropin-releasing hormone agonist suppression are not predictive of pregnancy outcome. *Fertil Steril.* 1990;54:853-7.
- 4.- Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, Pellicer A. 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.
- 5.- Labarta E, Martínez-Conejero JA, Alamá P, Horcajadas JA, Pellicer A, Simón C, Bosch E. 2011. 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.
- 6.- Achache, H, Revel, A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update.* 2006;12:731-46.
- 7.- Kyrou D, Al-Azemi M, Papanikolaou EG, Donoso P, Tziomalos K, Devroey P, Fatemi HM. The relationship of premature progesterone rise with serum estradiol levels and number of follicles in GnRH antagonist/recombinant FSH-stimulated cycles *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;162:165-8
- 8.- Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update.* 2013;19:433-57
- 9.- Venetis CA, Kolibianakis EM, Papanikolaou E, Bontis J, Devroey P, Tarlatzis BC. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotropin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2007;13:343-55.
- 10.- Moon YS, Tsang BK, Simpson C, Armstrong DT. 17 beta-Estradiol biosynthesis in cultured granulosa and thecal cells of human ovarian follicles: stimulation by follicle-stimulating hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;47:263-7.

- 11.- Fleming R, Jenkins J. The source and implications of progesterone rise during the follicular phase of assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online*. 2010;21:446-9.
- 12.- H Achache, A Revel. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*. 2006;12:731-46.
- 13.- Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Taieb J, Hazout A, Frydman R. Premature progesterone elevation does not alter oocyte quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1996;65:1178-83.
- 14.- Hofmann GE, Bentzien F, Bergh PA, Garrisi GJ, Williams MC, Guzman I, Navot D. Premature luteinization in controlled ovarian hyperstimulation has no adverse effect on oocyte and embryo quality. *Fertil Steril*. 1993;60:675-9.
- 15.- Legro RS, Ary BA, Paulson RJ, Stanczyk FZ, Sauer MV. Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1993;8:1506-11.
- 16.- Melo MA, Meseguer M, Garrido N, Bosch E, Pellicer A, Remohí J. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod*. 2006;21:1503-7.
- 17.- Polotsky AJ, Daif JL, Jindal S, Lieman H.J, Santoro N, Pal L. Serum progesterone on the day of human chorionic gonadotropin administration predicts clinical pregnancy of sibling frozen embryos. *Fertil Steril*. 2009;92:1880-5.