

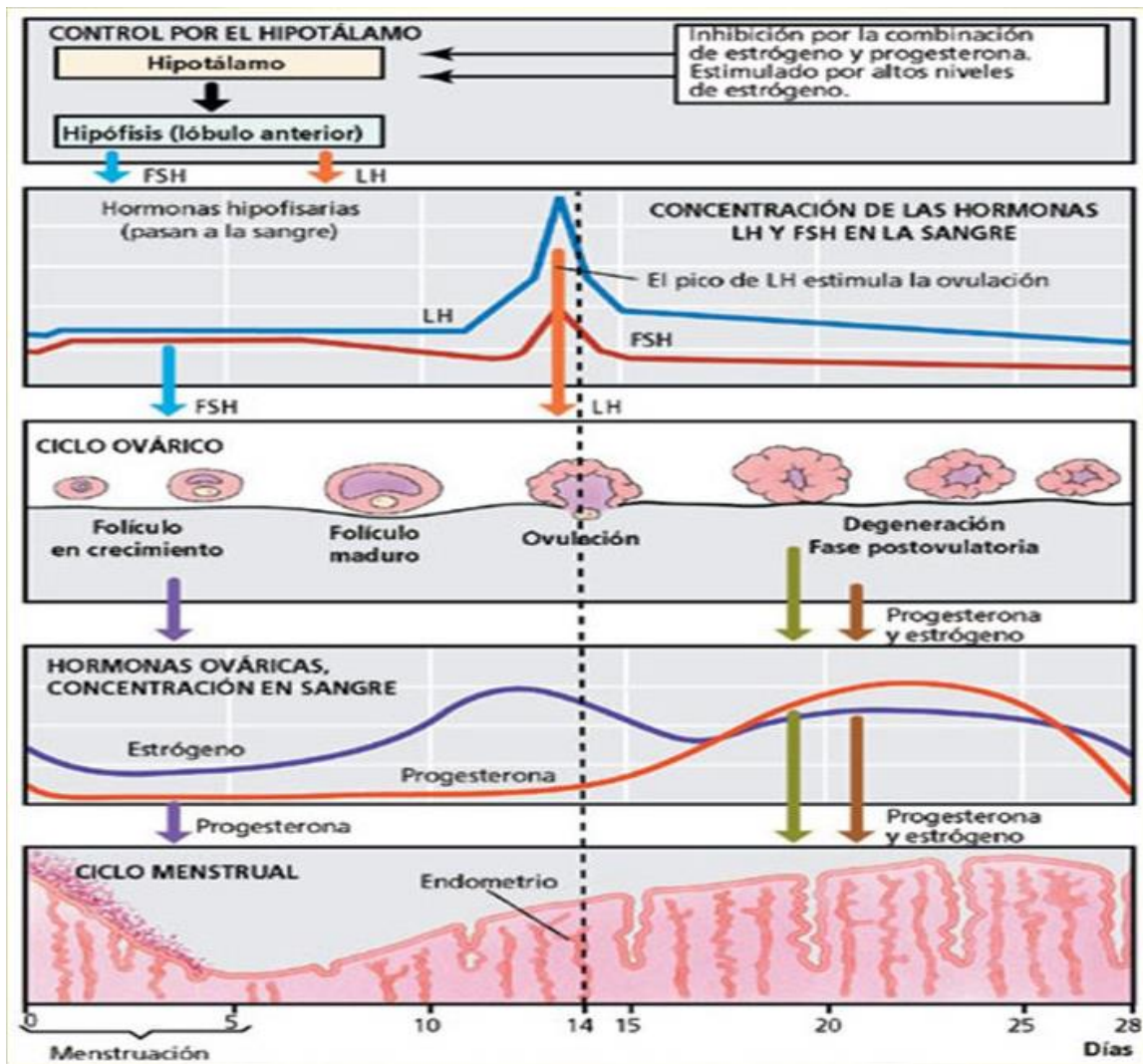


Servicio de Obstetricia y Ginecología
 Hospital Universitario
 Virgen de las Nieves
 Granada

CONTROL ANALÍTICO HORMONAL EN
 TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA
Inmaculada Cardona Benavides

13/02/2020

CICLO OVÁRICO^{1,2}



Antes de iniciar el estudio de los tratamientos de reproducción asistida (TRA) es fundamental entender el funcionamiento del ciclo ovárico y endometrial y cómo y por qué debe realizarse el control analítico hormonal durante las TRA.

Cuando hablamos de integración del ciclo nos referimos a cómo se van desarrollando los folículos en el ovario debido a la acción de las hormonas hipofisarias y, en cierto modo, ováricas, que a su vez también se relacionan entre sí. Y todo ello, además, tiene influencias a nivel endometrial, para realizar la preparación de la cavidad uterina ante la posible llegada del embrión.

El desarrollo folicular tiene una duración aproximada de más de 200 días. Debemos tener en cuenta que la mayor de este proceso es independiente de las hormonas, siendo el período de crecimiento desde los folículos primordiales hasta los folículos secundarios.

El folículo primordial está constituido por el ovocito, que es la célula germinal central, detenida en el estadio diploteno de la profase meiótica; y rodeado por una capa de células planas en hilera o células de la granulosa, haciendo que alcance los 50µm de diámetro.

En el feto llegan a existir 1-2 millones de folículos primordiales, pero al nacer tan solo quedan 250.000-500.000 de dichos folículos. Este número va disminuyendo, hasta que en la pubertad el número de folículos aproximado es de 100.000-200.000.

Baerwald y cols³. defienden la hipótesis de que los folículos desde la fase preantral son reclutados en oleadas foliculares, siendo el crecimiento sincrónico de un grupo de estos folículos debido a la acción de la FSH y de forma hormono-independiente. Estas oleadas están formadas por 4-14 folículos de más de 4-5mm, teniendo en cuenta que las mujeres con ciclos cortos presentan 2 oleadas foliculares y aquellas con ciclos más largos, presentan incluso 3 de estas oleadas.

Posteriormente comienzan a desarrollarse los folículos preantrales y entramos en el período hormonodependiente, con una duración aproximada de 85 días, y que es lo que conocemos como ciclo ovárico. Dicho ciclo podemos subdividirlo en cuatro fases:

- Fase folicular.

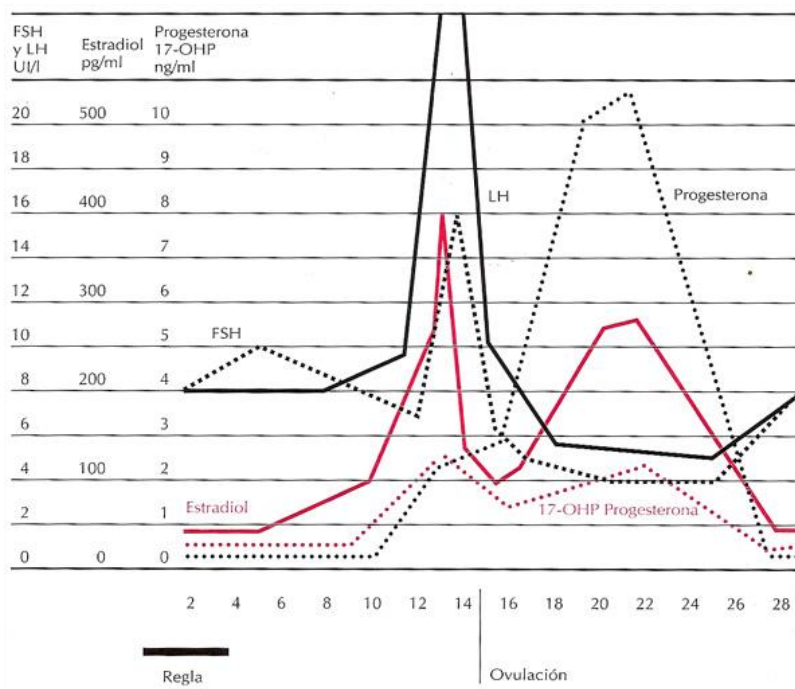
- Ovulación.
- Fase lútea.
- Transición lútea-folicular.

Fase folicular.

La fase folicular busca asegurar la maduración folicular para que un número adecuado de folículos esté preparado para la ovulación. Este proceso tiene una duración aproximada de 10-14 días.

Para comenzar a entender la maduración folicular debemos trasladarnos al hipotálamo, donde se realiza la síntesis de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), más en concreto en los ribosomas del citoplasma de las neuronas del *núcleo arcuato*. Desde allí, la GnRH es transportada hasta el lóbulo anterior de la hipófisis o adenohipófisis, donde va a realizar sus acciones:

- Síntesis y almacenamiento de las gonadotrofinas.
- Activación o movilización de las gonadotrofinas almacenadas, que de esta forma quedan preparadas para su secreción.
- Liberación pulsátil de gonadotrofinas.



La GnRH se produce de forma pulsátil, teniendo en cuenta que la amplitud y frecuencia de su liberación va cambiando a lo largo del ciclo, relacionándose con la síntesis de una u otra gonadotropina:

- Pulsos rápidos GnRH: síntesis y liberación de LH.
- Pulsos lentos GnRH: síntesis y liberación de FSH.

Si la GnRH no presentara dicha pulsatilidad no sería posible la síntesis de gonadotropinas y el efecto sería el contrario, por lo que nos encontraríamos ante un hipogonadismo hipogonadotropo.

La vida media de la GnRH es de 2-4 minutos, de modo que no es posible medirla en sangre.

La fase folicular comienza el primer día de sangrado menstrual abundante o día 1 del ciclo. Desde el final de la fase lútea previa encontramos una producción mantenida de FSH, pues se ha visto disminuida la esteroidogénesis y la secreción de inhibina A. Por este aumento constante de FSH se rescata una cohorte de folículos de la atresia y se les impulsa a la fase preantral, siendo lo que se conoce como reclutamiento folicular.

El ovocito va aumentando de tamaño y las células de la granulosa se vuelven cuboideas, por lo que nos encontramos ante un proceso de maduración. Además, se crean las gap junction entre las células de la granulosa y el ovocito, que son la vía para el intercambio de nutrientes e información entre ambos.

Las células de la granulosa van multiplicándose, pasando a formar lo que denominamos folículo primario. Una vez que se alcanzan 3-6 capas de las células de la granulosa, las células estromales circundantes se diferencian en capas concéntricas dando lugar a la teca interna y a la teca externa.

Folículo preantral

Cuando aparece la membrana pelúcida ya nos encontramos en estadio de folículo preantral. Las células de la granulosa de dicho folículo son capaces de sintetizar estrógenos, andrógenos y progestágenos, aunque los primeros en mayor cantidad. Además, en ellas se produce la aromatización a estradiol de los andrógenos producidos en la teca, por medio de la acción activadora de la

FSH. La FSH es responsable del crecimiento de las células de la granulosa, así como de la estimulación de su actividad, valorando que ambas funciones se pueden ver limitadas en función del número de receptores de la FSH presentes.

A su vez, los andrógenos producidos en la teca, donde encontramos receptores de LH, suponen la base de la producción estrogénica a través de su aromatización. Por tanto, la esteroidogénesis ovárica en parte depende también de la LH. Dichos andrógenos, en bajas concentraciones, también potencian la actividad de la aromatasa. Sin embargo, ante concentraciones mayores se convierten en andrógenos más potentes que inhiben la actividad de la aromatasa.

Debemos tener en cuenta que no todas las células de la granulosa tienen que presentar dichos receptores para la FSH para poder tener actividad, pues las uniones celulares que antes mencionamos permiten transmitir la información entre ellas.

Como ya se ha explicado, la producción estrógenica del folículo está mediada principalmente por la FSH, aunque también encontramos otras vías de señalización, como el óxido nítrico, los factores de crecimiento, las prostaglandinas, la propia GnRH, la angiotensina...

Folículo antral

El folículo antral se caracteriza por un incremento de la producción de líquido folicular y la polarización de las células de la granulosa, pasando a denominarse cúmulo ovárico. El tamaño de estos folículos es 1-10mm.

Dicho líquido está formado principalmente por estrógenos, que permiten el continuo desarrollo de la granulosa. Por otro lado, cuando disminuye la FSH, predominan los andrógenos, los cuales antagonizan la acción de la granulosa y promueven cambios degenerativos en el ovocito.

Los estrógenos aumentan el número de receptores de la FSH en el folículo seleccionado para madurar permitiendo que continúe evolucionando, a la vez que producen una retroalimentación negativa sobre la hipófisis para que el resto de folículos no tengan aporte gonadotrópico. De este modo, en las células de la granulosa de estos folículos aumenta la producción de factor de

necrosis tumoral (TNF), siendo el encargado de llevar a los folículos no seleccionados a la apoptosis.

Por otro parte, la hormona antimulleriana (AMH) inhibe el reclutamiento de los folículos primordiales, así como el crecimiento folicular estimulado por la FSH para permitir el desarrollo de un único folículo dominante. Por ello, la concentración circulante de la AMH refleja el número de folículos en crecimiento y su concentración plasmática permite medir el “envejecimiento ovárico” y es considerada pronóstico de respuesta ovárica a los TRA.

En torno al 9º día del ciclo, la vascularización del folículo dominante es mucho más importante para permitir una llegada mayor de gonadotrofinas. Esto se debe a la producción folicular de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), inductor de la angiogénesis.

En los grandes folículos, la FSH y los estrógenos van a inducir el desarrollo de receptores de LH en las células de la granulosa.

Respecto a la acción estrógenica a nivel hipofisario encontramos que a dosis bajas se inhibe la producción de FSH y de LH. Pero, a concentraciones mayores, los estrógenos se combinan con la inhibina y producen una inhibición profunda y sostenida de la FSH. Además, si los niveles de estrógenos se mantienen >200 pg/mL durante 50 horas se produce una retroalimentación positiva sobre la liberación de LH, lo cual ocurre cuando el folículo mide 15mm.

Inhibina, activina y folistina.

La inhibina, la activina y la folistina, son péptidos producidos por las células de la granulosa en respuesta a la FSH:

- Inhibina: encargada de inhibir la secreción de FSH.
 1. La secreción de inhibina B por las células de la granulosa potencia aún más la reducción de FSH de los otros folículos, siendo este un mecanismo fundamental para la selección del folículo dominante. Su concentración máxima se alcanza en las fases foliculares precoz y media, encontrando su pico justo después de la ovulación, como resultado de la rotura del folículo.

2. La inhibina A depende de la LH, a diferencia de la anterior, encontrando su máximo en la mitad de la fase lútea.

- Activina: aumenta la liberación de FSH y la producción hipofisaria de receptores de la GnRH. Además, suprime la producción de progesterona por la granulosa antes de la ovulación para impedir la luteinización prematura del folículo.
- Folistina: se une a la activina para anular su acción y aumentar la actividad de la inhibina.

Factores de crecimiento.

Los factores de crecimiento son polipéptidos que actúan de forma paracrina y autocrina para regular la proliferación y diferenciación celular.

Los factores de crecimiento insulinoideos (IGF) son los más importantes, pudiendo encontrar:

- IGF-I: es un producto importante de las células tecales. Su labor se basa en estimular los siguientes acontecimientos en las células de la teca y la granulosa: síntesis de ADN, esteroidogénesis, actividad de la aromatasa, síntesis de receptores de LH y secreción de inhibina. Además, tras la aparición de los receptores de LH, estimula la producción de progesterona y la proliferación de células de la granulosa y lúteas.
- IGF-II: se expresa en las células de la teca, pero principalmente en la granulosa, teniendo en cuenta que también se sintetiza en las células de la granulosa luteinizadas. Su principal actividad es estimular la mitosis de granulosa.

Por otro lado, las gonadotropinas estimulan la producción de IGF y, además, la FSH inhibe la síntesis de proteínas de unión aumentando aún más la disponibilidad de factores de crecimiento.

Los factores de crecimiento angiogénicos (VEGF) también son muy importantes en el desarrollo folicular, pues permiten el crecimiento del folículo dominante, debido a la llegada en mayor cantidad de gonadotropinas, como se ha explicado previamente. Las células lúteas responden a la hCG con una

producción superior VEGF, que incrementa la permeabilidad vascular asociada a la hiperestimulación ovárica que puede surgir ante los ciclos de reproducción. Por otro lado, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es fundamental en la apoptosis ante la atresia folicular o la luteólisis.

Folículo preovulatorio

El folículo preovulatorio se caracteriza por un aumento de tamaño y la adquisición de inclusiones lipídicas en las células de la granulosa, mientras la teca se vacuoliza, dando un aspecto hiperémico al folículo. A su vez, el ovocito continúa con la meiosis, aproximándose al final de su división reductora.

En esta fase la producción de estrógenos es cada vez mayor, hasta alcanzar un pico en las 24-36h previas a la ovulación. El pico de LH se inicia cuando se alcanzan las concentraciones máximas de estradiol, aproximadamente unos 400 pg/mL.

La LH preovulatoria aumenta la actividad androgénica en los folículos no seleccionados, a la vez que promueve la luteinización de la granulosa en el folículo dominante para que aumente la producción de progesterona. En el día 10 del ciclo se puede detectar un aumento de la progesterona en el retorno venoso del ovario portador del folículo preovulatorio. La progesterona es facilitadora de la LH en dosis bajas, mientras que ante dosis altas, con una concentración plasmática $>2\text{ng/mL}$, se bloquea el pico de LH de la mitad del ciclo. Además, la progesterona también es responsable del pico de FSH.

Por otro lado, a mitad del ciclo podemos identificar un aumento de los andrógenos, por la atresia de los folículos no dominantes.

Ovulación.

La ovulación siempre se ha entendido como un proceso organizado y cerrado, pero existe una considerable variación secuencial entre ciclos en una misma mujer. Aunque, podemos llegar a hacer cálculos aproximados: la ovulación se produce aproximadamente a las 24-36 horas del pico de LH.

La ovulación no puede ser entendida como una explosión del ovario, sino que se producen importantes transformaciones que permiten la finalización de la maduración del ovocito y la eliminación del colágeno de la pared folicular.

El pico de LH inicia la continuación de la meiosis en el ovocito, que se completará tras la unión con el espermatozoide. Por la LH se estimulan también una serie de factores que van a impedir la luteinización prematura del folículo, como son el inhibidor de la maduración del ovocito y el inhibidor de la luteinización.

Las células de la granulosa y de la teca, en respuesta a las gonadotropinas preovulatorias, producen activador del plasminógeno. Por este factor, el plasminógeno del líquido folicular se convierte en plasmina, que genera colagenasa activa para la rotura de la pared folicular.

En el líquido folicular preovulatorio también aumentan las prostaglandinas, estimuladas por la IL-1 β . Las prostaglandinas liberan enzimas proteolíticas y contraen las células del músculo liso identificadas en el ovario, dando lugar a la extrusión del cúmulo ovárico. Por ello, se debe aconsejar a las pacientes en tratamientos de reproducción que no tomen fármacos que inhiban la síntesis de prostaglandinas, como son los AINES clásicos y los actuales coxib (inhibidores de la COX-2).

Las células de la granulosa unidas a la membrana basal que rodean al folículo se convierten en células lúteas, mientras que las del cúmulo se unen al ovocito.

El pico de FSH, que depende de la elevación preovulatoria de progesterona, sirve para liberar el ovocito de las uniones foliculares, convertir el plasminógeno en plasmina y garantizar que haya suficientes receptores de la LH para que la fase lútea se desarrolle de forma normal.

Fase lútea.

La fase lútea normal requiere un desarrollo folicular preovulatorio óptimo con una adecuada estimulación de la FSH y un soporte tónico continuo de la LH, que debe mantener unos niveles altos durante 14-27 horas tras la ovulación.

Antes de la ruptura del folículo, las células de la granulosa aumentan de tamaño y acumulan luteína. Durante los 3 primeros días tras la ovulación, dichas células continúan aumentando de tamaño y parte de las células tecales se diferencian y pasan a formar parte del cuerpo lúteo, al producirse la eliminación de la capa basal y aumentar de forma importante la

vascularización. Esta vascularización se produce por el VEGF, dando lugar a nuevos vasos bajo el control de la angiopoyetina 1.

El día 8-9 tras la ovulación, es decir en torno al día 22-23 del ciclo, se alcanza el pico de vascularización. El cuerpo lúteo posee uno de los máximos flujos sanguíneos por unidad de masa, aumentando el riesgo de una hemorragia incontrolada que ocasione una urgencia quirúrgica. Este riesgo es mayor en las mujeres anticoaguladas, por lo que se debería valorar que recibieran tratamiento para evitar la ovulación.

Las LDL alcanzan las células de la granulosa luteinizadas, siendo el sustrato fundamental para la producción de progesterona. A nivel central, la progesterona, el estradiol y la inhibina A, suprimen la liberación de gonadotropinas para inhibir el nuevo crecimiento folicular.

La fase lútea normal tiene una duración de 11-17 días desde el pico de LH hasta la menstruación, teniendo en cuenta que siempre es próximo a los 14 días. El cuerpo lúteo degenera entre 9-11 días tras la ovulación, mediado por la producción de prostaglandinas, y que implica al óxido nítrico, a la endotelina y a otros factores.

Si se produce una gestación, la hCG rescata al cuerpo lúteo, manteniendo su función hasta que la esteroidogénesis placentaria sea suficiente e independiente.

Transición lútea-folicular.

La degeneración del cuerpo lúteo provoca las concentraciones circulantes más bajas de estradiol, progesterona e inhibina. De este modo, se elimina la influencia supresora de la inhibina A sobre la FSH hipofisaria. A su vez, por el descenso de estradiol y progesterona, encontramos un aumento en la secreción pulsátil de GnRH.

Todo lo anterior combinado produce una mayor secreción de FSH que de LH, de modo que se inicia el rescate folicular para un nuevo ciclo.

DETERMINACIONES HORMONALES DURANTE LOS TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

En un ciclo de estimulación ovárica para la realización de una FIV-ICSI buscamos el desarrollo de múltiples folículos, por lo que se producen una serie de cambios hormonales con respecto al ciclo ovárico convencional. De este modo, los niveles de estrógenos aumentan de forma suprafisiológica y bloqueamos el pico de LH con agonistas o antagonistas de la GnRH.

Las determinaciones hormonales son varias durante los TRA, siendo las más habituales el estradiol, la progesterona y la LH.

Progesterona.

La determinación de progesterona sérica es muy útil durante los TRA, destacando:

- En ciclos de desarrollo monofolicular, por ejemplo, para inseminación artificial o transferencia embrionaria en ciclo natural: niveles bajos de progesterona $>2\text{ng/mL}$ nos sirven para sospechar una ovulación espontánea prematura.
- En ciclos de desarrollo multifolicular, por ejemplo, para FIV-ICSI: los niveles elevados de progesterona del día del trigger se asocian a peores tasas de gestación.

De este modo, tanto Drakopoulos y cols⁴. como Bosch y cols⁵. concluyeron que niveles de progesterona elevados, $>1.5\text{ ng/mL}$, el día de la administración de hCG se relaciona con peores tasas de gestación ($p\ 0'00006$) en las pacientes que han seguido un tratamiento de FIV/ICSI, independientemente del tipo de freno de la GnRH que se haya utilizado. Esto se debe a que parece existir una asincronía entre el endometrio y el desarrollo embrionario, con lo que no se produce correctamente la implantación. Además, también parece relacionarse con un descenso de la calidad embrionaria.

En cambio, Martínez y cols⁶. no han encontrado datos estadísticamente significativos en este aspecto y defienden que la progesterona en este instante es un marcador pobre del éxito de la técnica. Sin embargo, los

niveles de progesterona se relacionan con los niveles de estradiol el día de la administración de hCG y con el número de ovocitos extraídos, lo cual es un factor de buen pronóstico de alcanzar una gestación.

- En los ciclos de preparación endometrial para transferencia de embriones criopreservados: estudios del grupo de Labarta y cols⁷. defienden la importancia de la determinación de los niveles de progesterona el día de la criotransferencia embrionaria en mujeres con preparación endometrial con progesterona vaginal micronizada, pues la progesterona aumenta la receptividad endometrial haciendo que se transforme en un endometrio secretor. Con una sensibilidad del 70% y una especificidad del 50'5%, este estudio defiende que pacientes con niveles séricos de progesterona bajos (<11 ng/mL) tienen tasas significativamente menores de gestación, con un RR 0.64 (IC 95% 0.46-0.88; p 0'005) para determinaciones de progesterona >11ng/mL.

Así también, Gaggiotti-Marre y cols⁸. defienden que niveles de progesterona <10.64 ng/mL el día previo a la transferencia de embriones criopreservados se traduce en peores tasas de gestación y un aumento de la tasa de abortos,

Por su parte, Basnayake y cols⁹. también formularon esta hipótesis. Sus resultados muestran que las pacientes a las que se administró progesterona vaginal durante 16 días y que alcanzaron niveles séricos de progesterona <50 nmol/L (<15.723 ng/mL) obtuvieron peores tasas de gestación y nacimientos, así como un aumento de las pérdidas gestacionales.

Estradiol.

El estradiol es utilizado en el control de los ciclos de estimulación ovárica para desarrollo multifolicular.

Prasad y cols¹⁰. demuestran que niveles de estradiol <500 pg/mL o >4000 pg/mL el día de la administración del Trigger no son beneficiosos, pues tanto los niveles bajos como altos dañan la maduración ovocitaria y disminuyen la probabilidad de conseguir una gestación.

Por otro lado, Florêncio y cols¹¹. defienden que el estradiol se puede emplear como factor pronóstico positivo de gestación ante niveles >500 pg/mL a mitad de la fase lútea. Además, en este grupo también se observó una disminución en la tasa de abortos de forma estadísticamente significativa.

El síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) es una entidad a tener muy en cuenta ante la estimulación ovárica en los TRA. La clave para su mejor control es la prevención, como ante la monitorización del estradiol durante los ciclos de estimulación. Por el estudio de D'Angelo y cols¹². para tratar de predecir el aumento de riesgo de SHO, podemos situar los puntos de corte de los niveles de estradiol en >6000 pmol/mL (1634 pg/mL) en el día 8 y >11000 pmol/mL (2996 pg/mL) en el día 11 del ciclo. Este estudio demuestra que niveles de estradiol >12315 pmol/mL (3354 pg/mL) en el 11º día del ciclo pueden detectar hasta el 85% de las mujeres en riesgo de hiperestimulación ovárica.

LH.

La determinación de LH el día de la realización del trigger con agonistas de la GnRH podría ayudar para predecir el éxito de la punción. De este modo, Meyer y cols¹³. indican que niveles de LH <15 mUI/mL se relacionan con respuestas subóptimas a dicho trigger, con peores resultados y una menor recuperación ovocitaria. Esto puede orientarnos ante la presencia de un hipogonadismo hipogonadotrofo en estas pacientes, incluyendo el uso prolongado de anticonceptivos hormonales combinados orales, como puede ocurrir ante las donantes de ovocitos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Regulación del ciclo menstrual. En Speroff L y Fritz MA. Endocrinología Ginecológica Clínica y Esterilidad. 7ª ed Inglés, 2ª ed español. Madrid: Wolters Kluwer Health; 2006. pp 187-231.
2. Ciclo ovárico (ovulación). Ciclo endometrial (menstruación). En González-Merlo J, González-Bosquet J, González-Bosquet E. Ginecología. 8ª ed. Barcelona: Masson; 2003. pp 39-55.
3. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. Hum Reprod Update. 2012;18(1): 73–91.
4. Drakopoulos P, Racca A, Errázuriz J, De Vos M, Tournaye H, Blockeel C et al. The role of progesterone elevation in IVF. Reprod Biol. 2019;19(1):1–5.
5. 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 (8): 2092-2100.
6. Martínez F, Rodríguez I, Devesa M, Buxaderas R, Gómez MJ, Coroleu B. Should progesterone on the human chorionic gonadotropin day still be measured? Fertil Steril. 2016;105(1):86–92.
7. 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 (12): 2437-2442.
8. Gaggiotti-Marre S, Martinez 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(5):439–442
9. Basnayake SK, Volovsky M, Rombauts L, Osianlis T, Vollenhoven B, Healey M. Progesterone concentrations and dosage with frozen embryo transfers - What's best? Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2018;58(5):533–538.

10. Prasad S, Yogesh K, Megha S, Shashi S. Estradiol level on Day 2 and day of trigger: a potential predictor of the IVF-ET success. *J Obstet Gynaecol India*. 2014; 64(3):202-207.
11. Florêncio RS, Meira MSB, Cunha MVD, Camarço MNCR, Castro EC, Finotti MCCF et al. Plasmatic estradiol concentration in the mid-luteal phase is a good prognostic factor for clinical and ongoing pregnancies, during stimulated cycles of in vitro fertilization. *JBRA Assist Reprod*. 2018;22(1):8–14.
12. D'Angelo A, Davies R, Salah E, Nix BA, Amso NN. Value of the serum estradiol level for preventing ovarian hyperstimulation syndrome: a retrospective case control study. *Fertil Steril*. 2004;81(2):332–336.
13. Meyer L, Murphy LA, Gumer A, Reichman DE, Rosenwaks Z, Cholst IN. Risk factors for a suboptimal response to gonadotropin-releasing hormone agonist trigger during in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2015;104(3):637–642.