

Deep In

MEDICINA DELLA RIPRODUZIONE



Vitrified blastocyst transfer cycles with the use of only vaginal progesterone replacement with Endometrin have inferior ongoing pregnancy rates: results from the planned interim analysis of a three-arm randomized controlled noninferiority trial

I cicli di trasferimento di blastocisti vitrificate con l'uso della sola terapia sostitutiva vaginale di progesterone (Endometrin) hanno tassi di gravidanza inferiori: i risultati di un'analisi *ad interim* programmata di uno studio randomizzato controllato di non inferiorità a tre bracci

Gli autori

Kate Devine, Kevin S. Richter, Eric A. Widra, Jeffrey L. McKeeby

Pubblicato in *Fertil Steril* 2018 Feb;109(2):266-275.

Background 1/2



L'impianto degli embrioni e il mantenimento della gravidanza necessitano dell'influenza del progesterone (P) sull'endometrio.

Durante i cicli di riproduzione medicalmente assistita (ART) con trasferimento di embrioni crioconservati, l'ovulazione e la formazione del corpo luteo non avvengono; pertanto, la preparazione endometriale richiede una terapia ormonale sostitutiva con P somministrato esogenamente.

In commercio sono disponibili formulazioni di P con diverse modalità di somministrazione. Le più utilizzate sono quelle vaginali e intramuscolari, mentre quella orale è poco usata a causa della scarsa biodisponibilità e delle minori probabilità di successo associate a questo tipo di utilizzo.

Le iniezioni intramuscolari giornaliere di P generano, fra le pazienti che si sottopongono alla ART, una forte preoccupazione sia a causa del dolore associato alla somministrazione sia per la paura di non eseguire l'iniezione in modo corretto, iniettando il farmaco in un vaso sanguigno o nel sito non appropriato.

Background 2/2



Diverse survey hanno dimostrato, inoltre, che quando viene data l'opportunità di scegliere, la maggior parte delle pazienti preferisce la somministrazione vaginale rispetto a quella intramuscolare per diversi motivi, tra cui la maggiore praticità, la facilità d'uso e il minor dolore.

I dati sulle preparazioni vaginali di P micronizzato per il supporto della fase luteale in cicli di fecondazione autologa a fresco, dove i corpi lutei formano e secernono P endogeno, forniscono una forte evidenza dell'equivalenza (o anche della superiorità) di questa formulazione rispetto a quella intramuscolare in termini di gravidanza e di nascite.

Tuttavia, non è noto se la via vaginale fornisca risultati equivalenti alla via intramuscolare nei cicli di trasferimento degli embrioni crioconservati. Mancano, infatti, dati prospettici sufficienti, in particolare quelli relativi al transfer di blastocisti vitrificate.

Obiettivo dello studio



Valutare la non inferiorità, in termini di gravidanza e nati vivi dopo trasferimento di blastocisti vitrificate, della somministrazione vaginale di progesterone, da sola o in combinazione con la somministrazione intramuscolare ogni terzo giorno, rispetto alla somministrazione quotidiana intramuscolare.

Materiali e metodi 1/6



Disegno dello studio

- ▶ Studio prospettico randomizzato controllato di non inferiorità a tre bracci.

Trattamento

- ▶ **Gruppo 1: 200 mg di P somministrato per via vaginale** (Endometrin, Ferring) due volte al giorno a partire dalla mattina del giorno 1 con trasferimento dell'embrione nel pomeriggio del giorno 5, dopo la nona dose di P vaginale.
- ▶ **Gruppo 2: 200 mg di P somministrato per via vaginale** (stesso schema del gruppo 1) + **50 mg di P intramuscolare** in soluzione oleosa la mattina del giorno 1 e successivamente ogni tre giorni, con trasferimento dell'embrione nel pomeriggio del giorno 5, dopo la nona dose di P vaginale e la seconda dose di P intramuscolare.
- ▶ **Gruppo 3: 50 mg di P intramuscolare** in soluzione oleosa, a partire dalla sera del giorno 1 e poi ogni sera, con trasferimento dell'embrione nel pomeriggio del giorno 6, dopo la quinta dose di P in soluzione oleosa.

Outcome primario

- ▶ Nati vivi
- ▶ Gravidanza in corso (6-7 settimane dopo il trasferimento dell'embrione)

Materiali e metodi 2/6



Calcolo della dimensione campionaria e analisi ad interim

Per raggiungere la significatività per l'outcome “nati vivi” è stato calcolato un campione composto da 1.170 soggetti (390 soggetti per gruppo di trattamento).

È stata condotta sia un' **analisi ITT** (intention-to-treat), ovvero sui dati ottenuti dalle pazienti che hanno ricevuto almeno una dose di P e si sono sottoposte a transfer embrionale, sia un' **analisi PP** (per-protocol), cioè sulle pazienti che hanno completato il protocollo.

L' **analisi ad interim programmata** a priori è stata eseguita quando il 50% della popolazione da arruolare (**590 pazienti**) ha completato il trattamento e la visita finale dello studio (**popolazione PP**).

Protocollo dello studio

Il numero di blastocisti trasferite è stato stabilito dai medici in accordo con le linee guida dell'American Society for Reproductive Medicine e con le pazienti.

Prima di iniziare la preparazione endometriale ogni paziente ha assunto un contraccettivo orale combinato. Al giorno 2 di sanguinamento da sospensione è iniziata la preparazione dell'endometrio con **E₂ valerato** intramuscolare (4 mg ogni 3° giorno). A questo punto, ciascuna paziente è stata assegnata in modo casuale (randomizzazione) a uno dei 3 gruppi.

L' **hCG sierico** è stato dosato 2 settimane dopo il transfer e ripetuto per valutare l'incremento dei valori. L' **ecografia transvaginale** è stata eseguita 4-5 settimane dopo il transfer per confermare la gravidanza biochimica, ed è stata ripetuta 2 settimane più tardi per confermare la gravidanza in corso. Le pazienti hanno continuato la terapia con l' **E₂ valerato** intramuscolare e il P assegnato per 7-8 settimane dopo il transfer.

Materiali e metodi 3/6



Criteri di inclusione

- ▶ Età 18-48 anni
- ▶ Avere a disposizione blastocisti crioconservate (vitrificazione)

Criteri di esclusione

- ▶ Embrioni freschi
- ▶ Vettore gestazionale (madre surrogata)
- ▶ Embrioni da ovociti crioconservati
- ▶ Embrioni da ovociti crioconservati più di una volta
- ▶ Embrioni crioconservati con metodo slow-freeze
- ▶ Embrioni crioconservati prima dello stadio di blastocisti
- ▶ Presenza di malattia sistemica clinicamente rilevante controindicata per la ART o per la gravidanza
- ▶ ≥3 cicli falliti o gravidanze interrotte
- ▶ Condizioni chirurgiche o mediche o utilizzo di farmaci che possono interferire con l'assorbimento, la distribuzione, il metabolismo o l'escrezione dei farmaci da utilizzare per la ART
- ▶ BMI <18 o >38 kg/m²
- ▶ Abuso di sostanze, inclusi alcol e tabacco
- ▶ Attuale allattamento al seno o gravidanza
- ▶ Rifiuto o incapacità di rispettare i requisiti del protocollo per qualsiasi motivo, comprese visite cliniche programmate e test di laboratorio
- ▶ Biopsia della blastocisti per il trasferimento
- ▶ Intolleranza o allergia a uno qualsiasi dei farmaci utilizzati nel protocollo di studio
- ▶ Partecipazione ad altro studio sperimentale sui farmaci entro 60 giorni dalla selezione
- ▶ Due cicli di studio precedenti (alle pazienti era permesso partecipare al massimo due volte)

Materiali e metodi 4/6



Nella fase di screening sono state **selezionate 815 pazienti** e **670** sono state **randomizzate**. Di queste, 25 non hanno potuto fare il transfer per una serie di ragioni: risposta non adeguata alla stimolazione estrogenica, motivi personali, embrioni non trasferibili, presenza di polipi endometriali, necessità di una salpingectomia. Erano quindi disponibili, **per l'analisi ITT, 645 pazienti**.

Di queste, tuttavia, 55 non sono risultate **idonee all'analisi PP** per violazione del protocollo. Di conseguenza, sono risultate valutabili **590 pazienti**.

L'analisi statistica è stata condotta in cieco rispetto ai bracci di trattamento, ai quali sono stati assegnati in modo casuale le lettere **A, B e C**.

Materiali e metodi 5/6



Riepilogo dello screening e dell'arruolamento, cancellazione del transfer dell'embrione, esclusione per violazione del protocollo e completamento del protocollo per gruppi di trattamento al momento dell'analisi *ad interim*

Variabile	N.
Soggetti alla consultazione iniziale e allo screening	815
Soggetti che decidono di non partecipare alle consultazioni successive	84
Soggetti che hanno posposto o cancellato il ciclo di transfer embrionale	17
Soggetti che non vengono arruolati per esclusione in fase di screening	44
>3 fallimenti precedenti del ciclo di ART	7
BMI >39 kg/m ²	16
BMI <18 kg/m ²	3
Allergia/reazione avversa ai farmaci utilizzati nello studio	2
Transfer di embrioni sottoposti a biopsia	7
Embrioni crioconservati in altri centri	2
Soggetti monitorati in altri centri	2
Somministrazione vaginale di E2	3
Non disponibilità dei risultati di Pap-test	1
Due cicli di studio precedenti	1

	Gruppo		
	A	B	C
Soggetti randomizzati (totale 670)	224	224	222
Cancellazione del transfer embrionale	6	7	12
Inadeguato sviluppo dell'endometrio	5	2	5
Cancellazione per motivi personali	0	2	4
Nessun embrione sopravvissuto	1	1	0
Necessità di salpingectomia	0	0	2
Ovulazione	0	1	0
Transfer embrionale (analisi ITT)	218	217	210
Esclusione post-arruolamento	19	20	16
Errori di somministrazione, intolleranza o non compliance con i farmaci dello studio (P e/o estrogeni)	12	13	10
Più di 3 cicli di ART falliti	3	2	2
Necessità di somministrazione di estradiolo >20 giorni per la preparazione endometriale	3	1	1
Errore nella randomizzazione del trattamento	0	2	0
Biopsia dell'embrione per lo screening genetico pre-impianto	0	0	1
Test di gravidanza iniziale eseguito in altri centri	1	1	1
Ecografia iniziale eseguita in altri centri	0	1	1
Cicli a disposizione per l'analisi PP	199	197	194

Materiali e metodi 6/6



Confronto tra le caratteristiche clinicamente significative delle pazienti e dei cicli dei 3 gruppi di trattamento

Caratteristiche	Gruppo		
	A	B	C
Soggetti randomizzati, n	224	224	222
Età della fonte degli ovociti al momento della vitrificazione, anni	33,5 ± 3,9	33,2 ± 4,1	33,4 ± 4,2
Età del soggetto al momento del ciclo di transfer, anni	34,8 ± 4,0	34,6 ± 4,2	34,9 ± 4,3
BMI, kg/m ²	26,2 ± 5,2	26,2 ± 5,1	26,0 ± 4,8
Spessore massimo dell'endometrio, mm	11,3 ± 2,6	11,3 ± 2,5	11,0 ± 2,3
Embrioni trasferiti, n	1,17 ± 0,38	1,25 ± 0,44	1,17 ± 0,40
Giorno della vitrificazione	5,3 ± 0,5	5,4 ± 0,5	5,4 ± 0,5
Soggetti che hanno usato ovociti di donatori	9 (4,0)	8 (3,6)	10 (4,5)

Le caratteristiche dei 3 gruppi di trattamento risultano non essere significativamente diverse tra loro, confermando che la **randomizzazione** è stata **efficace** nel generare gruppi di pazienti con caratteristiche tali da consentire una valutazione valida sugli effetti del trattamento.

Risultati 1/2



- ▶ I **risultati** per l'analisi **ITT** e la **PP** sono **sovrapponibili**.
- ▶ Il tasso gravidanza (dosaggio positivo di hCG >5 IU/L 2 settimane dopo il transfer) non ha mostrato differenze significative tra i 3 gruppi di trattamento in entrambe le analisi.
- ▶ L'**interruzione precoce della gravidanza biochimica** (cicli con hCG positivo ma senza sacco gestazionale visibile) è risultata significativamente diversa tra i 3 gruppi: il **gruppo C ha mostrato il tasso più alto (33%) rispetto al gruppo A (13%) e al gruppo B (20%)**.
- ▶ Per la **gravidanza in corso** (gravidanza a 6-7 settimane dopo il transfer; outcome primario) il tasso per il **gruppo C (31%) è significativamente inferiore al gruppo A (50%) e al gruppo B (47%)**. Questo equivale a una riduzione relativa del 37% per il gruppo C rispetto al gruppo A e del 30% rispetto al gruppo B.
- ▶ I **gruppi A e B non differiscono significativamente tra loro**, sia nell'analisi ITT che nella PP.
- ▶ L'**analisi ITT è stata limitata alle pazienti randomizzate al protocollo di trattamento** e sottoposte a transfer embrionale, perché rappresentano la tipologia di pazienti che potrebbe potenzialmente ottenere la gravidanza grazie al trattamento con P.
- ▶ Sono stati riportati solo **5 eventi avversi gravi (SAE)** che sono stati considerati **non correlati** o con improbabile connessione alla procedura sperimentale: iperemesi, torsione ovarica, dolore idiopatico al fianco destro, gravidanza eterotopica e gravidanza gemella siamese.

Risultati 2/2



Confronto tra gli outcome “gravidanza” dei 3 gruppi (analisi ITT)

Outcome	Gruppo			χ^2	Confronto tra i gruppi		
	A	B	C		A vs. B	A vs. C	B vs. C
N. transfer	218	217	210				
hCG positivo	141 (65)	143 (66)	126 (60)	$p=.41$			
Interruzione della gravidanza biochimica	18 (13)	28 (20)	42 (33)	$p=.0002$	$p=.12$	$p<.0001$	$p<.010$
Gravidanza clinica	123 (56)	115 (53)	84 (40)	$p=.002$	$p=.47$	$p=.001$	$p=.007$
Interruzione della gravidanza clinica	13 (11)	13 (11)	19 (23)	$p=.038$	$p=.86$	$p=.019$	$p=.032$
Totale interruzioni di gravidanza	31 (22)	41 (29)	61 (48)	$p<.0001$	$p=.20$	$p<.0001$	$p=.001$
Gravidanza in corso	110 (50)	102 (47)	65 (31)	$p<.0001$	$p=.47$	$p<.0001$	$p=.001$

Confronto tra gli outcome “gravidanza” dei 3 gruppi (analisi PP)

Outcome	Gruppo			χ^2	Confronto tra i gruppi		
	A	B	C		A vs. B	A vs. C	B vs. C
N. transfer	199	197	194				
hCG positivo	130 (65)	125 (63)	116 (60)	$p=.51$			
Interruzione della gravidanza biochimica	17 (13)	25 (20)	38 (33)	$p=.0008$	$p=.14$	$p=.0002$	$p=.024$
Gravidanza clinica	113 (57)	100 (51)	78 (40)	$p=.004$	$p=.23$	$p=.001$	$p=.036$
Interruzione della gravidanza clinica	13 (12)	12 (12)	17 (22)	$p=.10$			
Totale interruzioni di gravidanza	30 (23)	37 (30)	55 (47)	$p<.0001$	$p=.24$	$p<.0001$	$p=.004$
Gravidanza in corso	100 (50)	88 (45)	61 (31)	$p=.0005$	$p=.27$	$p=.0001$	$p=.007$

Conclusioni



L'analisi *ad interim* ha dimostrato che uno dei tre gruppi di trattamento, ovvero il gruppo C (braccio con il P vaginale), è inferiore in termini di tasso di gravidanze in corso.

Di conseguenza, la randomizzazione dei soggetti nel braccio P vaginale è stata interrotta, mentre l'arruolamento e la randomizzazione nei due bracci che contemplavano il P intramuscolare, statisticamente indistinguibili tra di loro, è in corso.

I risultati indicano che l'uso di P vaginale da solo (Endometrin, 200 mg 2 vv/die) utilizzato nel transfer con blastocisti vitrificate determina un tasso di gravidanza significativamente più basso (circa un terzo) rispetto al trattamento con 50 mg di P per via intramuscolare oppure di Endometrin vaginale somministrata insieme al P intramuscolare ogni terzo giorno. Per tale motivo viene raccomandato di non utilizzare il P vaginale da solo.

Nel loro insieme, i risultati suggeriscono che, sebbene elevati livelli di P a livello vaginale possano essere importanti per l'impianto, nelle fasi successive della gravidanza sono necessarie concentrazioni sieriche di P più elevate e stabili per garantire un supporto ottimale della fase precoce.

