

AVALUACIÓ DEL RENDIMENT DE FECUNDACIÓ *IN VITRO* EN DONES MAJORS DE QUARANTA ANYS

Imma Saumell,* Anna Veiga, Bonaventura Coroleu, Pere N. Barri

Servei de Medicina de la Reproducció. Institut Universitari Dexeus.
Pg. Bonanova, 67. 08017 Barcelona. Adreça electrònica: immsau@dexeus.com.

Resum

Els resultats de les tècniques de reproducció assistida no són iguals per a tot el rang d'edats de la població femenina. Es coneix que aquelles dones de més edat presenten un rendiment i unes taxes de gestació inferiors comparades amb les dones de menys edat alhora que unes taxes d'avortaments més altes. S'analitzen cadascun dels paràmetres valorables del procés de fecundació *in vitro* a través dels resultats obtinguts en dones d'edat superior a quaranta anys del Servei de Medicina Reproductiva de l'Institut Universitari Dexeus.

Paraules clau Edat materna, eficiència en fecundació *in vitro*.

Abstract

The results of Assisted Reproduction Techniques are not equal for all rank of ages in the female population. It is known that elderly women have low efficiency and rates of pregnancy compared to younger women, also, higher abortion rates. All the valuable parameters of an *in vitro* fertilization (IVF) cycle are analyzed from the results in women over 40 years at the Institut Universitari Dexeus.

Key words Maternal age, *in vitro* fertilization efficiency.

INTRODUCCIÓ

La naturalesa finita de la gametogènesi femenina provoca que l'edat de les pacients que se sotmeten a tècniques de reproducció assistida sigui una de les principals preocupacions dels experts en medicina reproductiva. L'aplicació de tècniques de reproducció assistida a tot el ventall de població ens permet valorar la pèrdua subclínica de la capacitat d'embaràs de les dones al llarg dels anys. És per aquest motiu que es planteja estudiar l'eficiència del programa de fecundació *in vitro* per a dones d'edat avançada.

Amb vista a obtenir dades objectives del rendiment de la tècnica i de les possibilitats d'embaràs en aquest grup de pacients, s'estudien els resultats obtinguts en parelles de FIV en què la dona té una edat superior a quaranta anys.

PACIENTS I MÈTODES

Estudi retrospectiu basat en la casuística del programa de fecundació *in vitro* de l'Institut Universitari Dexeus comprès entre els anys 2001 i 2004. La població va ser dividida en dos grups, el *grup d'estudi* (dones ≥ 40 anys) i el *grup control* (dones < 40 anys).

El grup d'estudi constava de 947 cicles en dones amb una mitjana d'edat de 41,8 anys, dels quals el 48,0% eren un primer cicle de FIV. Pel que fa al grup control, constava de 3.547 cicles en dones amb una mitjana d'edat de 34,0 anys, dels quals un 55,5% era un primer cicle de FIV. (Vegeu la taula 1.)

El diagnòstic d'esterilitat que aconsellava la tècnica de FIV en el grup d'estudi era majoritàriament un factor femení (42,1%). En el grup control el tipus d'indicació més freqüent era masculina (41,0%). Tanmateix, en el grup d'estudi s'observava un increment de les indicacions d'origen desconegut i en aquest mateix grup hi havia una major proporció d'esterilitat secundària. (Vegeu la taula 2.)

El mètode estadístic que es va utilitzar per a tractar

Taula 1

	n	Edat	Nombre de cicle (%)			
			1r	2n	3r	+3
≥ 40 anys	947 (21,15)	41,81	48,0	25,6	12,3	14,1
< 40 anys	3.547 (78,9)	34,05	55,5	24,3	10,1	10,1

Taula 2

	Tipus indicació (%)*			Tipus esterilitat (%)*		
	Idiopàtica	femelles	mascles	mixt	primària	secundària
≥ 40 anys	19,0	42,1	31,2	7,7	68,6	31,4
< 40 anys	15,5 %	35,0	41,0	8,4	80,3	19,7

Taula 3

	Cancellació estimulació (%)*	FSH basal (UI)*	Estradiol basal (UI)*	Taxa embaràs per cicle (%)*
≥ 40 anys	15,3	9,29	74,09	12,6
< 40 anys	8,9	7,62	60,70	39,3

Taula 4

	Protocol llarg (%)*	Protocol curt (%)*	Altres (%)*
≥ 40 anys	23,7	64,4	12,0
< 40 anys	71,1	21,8	7,1

Taula 5

	Total dosis gonadotropines (UI)*	Total dies estimulació*	Estradiol dia HCG (pg/ml)*	Nombre fol·licles dia HCG*
≥ 40 anys	3863,13	10,22	1642,09	7,04
< 40 anys	3006,05	10,57	2095,19	11,57

Taula 6

	Oòcits recuperats*	MII*	Inseminats*	Fecundats*
≥ 40 anys	6,90	5,38	5,83	4,07
< 40 anys	12,24	9,41	9,41	7,24

les dades va ser el paquet estadístic SPSS versió 12.0 amb variables qualitatives comparades amb el test de Fisher i χ^2 de Pearson; per a les variables quantitatives es va treballar amb la prova *T* d'Student i l'anàlisi de variances ANOVA. El nivell de significació era $\alpha < 0,05$. En totes les taules $P < 0,05$.

RESULTATS

Rendiment clínic

En l'estudi de reserva fol·licular que es realitzava previ al cicle de fecundació *in vitro* (FSH, estradiol basal)

s'observava una diferència significativa entre els dos grups de treball. Les dones d'edat avançada tenien tant el valor de FSH més alt (9,2) com el d'estradiol (74,0) contràriament al grup de dones joves (FSH de 7,6 i estradiol de 60,7). En el grup de dones grans hi havia un percentatge més alt de cancel·lació de l'estimulació (15,3), enfront d'una taxa de cancel·lació inferior (8,9) en dones joves. (Vegeu la taula 3.)

El tipus de protocol d'estimulació utilitzat dins de cada grup presentava diferències significatives. Les dones del grup d'estudi es tractaven en un 64,4 % amb protocol d'agonistes curt; en canvi, les dones del grup control es tractaven en un 71,1 % amb protocol d'agonistes llarg. (Vegeu la taula 4.)

Taula 7

	ICSI (%)	Inseminació convencional (%)	Combinada (%)	Taxa de fecundació (%)
≥ 40 anys	66,5	29,2	4,3	69,25
< 40 anys	72,0	17,7	10,2	72,33

Taula 8

	Embrions evolutius*	Embrions congelats*	Embrions disponibles òptims (8, 9, 10)*	Nombre d'embrions transferits	Trànsfer selectiu*
≥ 40 anys	2,82	0,85	1,38	2,26	29,6
< 40 anys	4,41	2,39	2,35	2,12	56,6

Taula 9

	Taxa d'embaràs per punció*	Taxa d'embaràs per punció i per cicle				Taxa d'embaràs per trànsfer
		1r*	2n*	3r*	+3*	
≥ 40 anys	14,8	15,8	12,7	15,2	15,0	17,0
< 40 anys	43,1	46,1	41,5	37,5	36,0	45,2

Taula 10

	Avort. < 10 setm.*	Avort. > 10 setm.	ILE	Ectòpics
≥ 40 anys	32,8	0	0,8	3,4
< 40 anys	12,8	2,2	0,4	1,4

Durant el cicle d'estimulació es van buscar diferents paràmetres que permetessin avaluar l'evolució de l'estimulació ovàrica. Comparats els dels dos grups, es trobaren diferències significatives. Les dones de ≥ 40 anys necessitaven més dies d'estimulació (10,9 vs. 10,5 en el protocol llarg) i més dosi de gonadotropines (3863 uI vs. 3006 uI) tot i que el dia de la descàrrega ovulatòria de HCG tant el nombre de fol·licles (7,0 vs. 11,5) com el valor d'estradiol (1.642 pg/ml vs. 2.095 pg/ml) eren inferiors que en les dones de < 40 anys. (Vegeu la taula 5.)

Rendiment al laboratori de fecundació *in vitro*

Una vegada es realitzava la punció fol·licular l'estudi continuava amb les dades provinents del laboratori de fecundació *in vitro*.

En el grup d'estudi la mitjana d'oòcits recuperats (6,9 vs. 12,2) era realment molt més baixa que en el grup control, i aquest fet reflectia un potencial embrionari més baix. Es mantenia, doncs, la significació d'inferioritat en el nombre d'oòcits madurs, oòcits inseminats i el nombre d'oòcits fecundats. (Vegeu la taula 6.)

La tècnica d'inseminació utilitzada era diferent en els dos grups analitzats. En les pacients d'edat avançada en un 66,5 % dels casos es preferia la ICSI com

a mètode de fecundació i un 29,2 % es realitzava amb inseminació convencional. Aquesta estratègia es mantenia en les pacients joves pel que fa a la ICSI (72,0 %), tot i que el percentatge d'inseminació convencional era significativament més baix (17,7 %). (Vegeu la taula 7.)

La mitjana d'embrions evolutius en dones d'edat avançada ja preveia que el nombre d'embrions congelats i el nombre d'embrions òptims disponibles era significativament inferior que en dones joves. La transferència intrauterina es realitzava amb major nombre d'embrions (2,2 vs. 2,1) en el grup d'estudi. (Vegeu la taula 8.)

Una vegada més, el grup de dones majors de quaranta anys presentava una baixa taxa d'embaràs, ja fos enfront de les puncions (14,8 %) realitzades com de les transferències (17,0 %), comparant-ho amb el grup de dones més joves, que presentava unes taxes més altes tant per punció (43,1 %) com per transferència (45,2 %). Es mantenia constant la taxa d'embaràs per punció en dones ≥ 40 anys, independentment del nombre de cicles que es realitzaven. No era així en dones < 40 anys, en què la taxa d'embaràs per punció disminueix en repetir cicles de FIV. (Vegeu la taula 9.)

Taula 11

	Únic	Bessons	Triple o més
≥ 40 anys	75,6	21,0	3,4
< 40 anys	67,8	29,0	3,2

Evolució de l'embaràs

La taxa d'avortaments ≤ 10 setmanes era de 32,8 % en el grup d'estudi però en el grup control disminueix fins al 12,8 %. No es van trobar diferències significatives en la taxa d'avortaments > 10 setmanes, els ILE ni tampoc en els embarassos ectòpics. (Vegeu la taula 10.)

No hi havia diferències significatives entre els grups de dones ≥ 40 anys i el grups de dones < 40 anys si els embarassos eren únics o múltiples. (Vegeu la taula 11.)

DISCUSSIÓ

El percentatge de dones ≥ 40 anys que se sotmeten a FIV no ha augmentat des de 2001, i es manté al voltant d'un 21 % respecte del total de FIV que es realitzen.

És representatiu de la pèrdua de la fecunditat en el grup de dones d'edat avançada el fet que presentin com a causa d'esterilitat un factor femení en més percentatge, i l'edat esdevé un factor afegit. Part d'aquest grup de pacients ja han estat mares prèviament i han adquirit una esterilitat secundària que augmenta amb l'edat.

Rendiment clínic

Determinar els valors de FSH i estradiol basals ens permetrà predeterminar la reserva ovàrica de la pacient; l'estudi constata que aquests valors incrementen amb l'edat, i per tant són uns bons marcadors. El grup de dones d'edat avançada tenia una taxa de cancel·lació de l'estimulació més alta, ja que en més ocasions es dona una baixa resposta ovulatòria.

D'acord amb el perfil hormonal i ecogràfic de les pacients es decideix un tipus de protocol d'estimulació esperant una millor resposta. En global, els protocols d'agonistes llargs donen millors taxes d'embaràs, però en el nostre centre utilitzem protocols d'agonistes curts en pacients amb una reserva fol·licular baixa perquè s'han obtingut millors resultats.

Durant l'estimulació les dones del grup d'estudi precisen més dosis de gonadotropines, ja que els seus ovaris són més resistents. A més a més, la resposta que s'aconsegueix acostuma a ser més baixa, ja que

el nombre de fol·licles i el valor d'estradiol el dia de l'HCG mostrava una resposta més modesta.

Rendiment al laboratori de fecundació in vitro

Obtenir el màxim nombre d'oòcits garanteix un millor rendiment de tot el procés, i en les pacients que després de la punció aconseguen pocs oòcits es redueixen les possibilitats, com passava en el grup de dones d'edat major. Aquest grup partia de menys oòcits, i s'acabava disposant d'un nombre d'embrions òptims baix i, per tant, no es podien fer *trànfers* selectius. Igualment la taxa de congelació era molt baixa comparat amb les dones < 40 anys. Els percentatges d'oòcits madurs MII i la taxa de fecundació és similar en ambdós grups.

Cal destacar que el percentatge d'inseminació convencional era menor en dones < 40 anys i es tendia a fer més ICSI. Aquest fenomen es justifica perquè aquestes pacients presentaven majoritàriament un factor d'esterilitat masculí que és la principal indicació per a realitzar ICSI. Les taxes d'embaràs que aconseguen les dues tècniques d'inseminació, ICSI i inseminació convencional, són similars.

Pel que fa al nombre d'embrions transferits cal esmentar que a partir de l'any 2003 l'Institut Universitari Dexeus va iniciar un programa que reduïa el nombre d'embrions transferits, i es va aconseguir així disminuir els embarassos múltiples. Cal tenir en compte que el mateix nombre d'embrions transferits a una dona ≥ 40 anys i una dona de < 40 anys dona taxes d'embaràs diferents. S'aconsegueix una millor taxa d'embaràs si es transfereix una mitjana de tres embrions en les dones de ≥ 40 anys. No és així en dones de < 40 anys, ja que si es transfereixen tres embrions és perquè no es disposa d'embrions òptims.

És important observar que la taxa d'embaràs per punció en dones d'edat avançada es manté constant i, per tant, es pot oferir el mateix percentatge d'embaràs a aquestes pacients quan repeteixen un cicle de FIV. Ara bé, en el grup de dones joves la taxa d'embaràs disminueix a la vegada que es repeteixen cicles.

Evolució de l'embaràs

Existeix un risc significatiu de pèrdua fetal a causa de l'alt nivell d'aneuploidies que presenten els embrions provinents de gàmetes femenins de dones ≥ 40 anys. El cariotip d'aquests fetus presenta majoritàriament trisomies que afecten els cromosomes 21, 16, 22, 15 i 18. Aquestes aneuploidies fetals semblen ser les responsables de l'alta taxa de pèrdua fetal espontània en dones d'edat avançada durant les primeres setmanes de gestació. Per aquest motiu, proposem que aquestes

pacients podrien beneficiar-se d'un cribratge cromosòmic a través d'un DGPI, i així se'n reduiria la taxa d'avortaments.

Les dades científiques són evidents. Així, doncs, l'edat de les pacients pot ser en si un factor pronòstic d'un cicle de fecundació *in vitro*, ja que la fecunditat disminueix amb l'edat. D'aquesta manera, caldria advertir a les pacients que es troben en aquest rang d'edat les possibilitats que els ofereixen les tècniques de reproducció assistida plantejant la possibilitat d'una donació d'òocits. Ara bé, cal no subestimar la possibilitat d'embaràs de la pròpia pacient.

BIBLIOGRAFIA

- BARRI, P. N.; COROLEU, B.; MARTÍNEZ, F. [*et al.*](2000). «Stimulation protocols for poor and aged women». *Molecular and Cellular Endocrinology*, 166:15-20.
- BARRI, P. N.; COROLEU, B.; TUR, R. [*et al.*](2002). «Reproduccion humana». Dins: REMOHÍ, J.; PELLICER, A.; SIMON, C.; NAVARRO, J. *Edad de la mujer y fertilidad*, 2a ed. McGraw-Hill Interamericana.
- KLEIN, N. A.; BATTAGLIA, D. E.; FUJIMOTO, V. Y. [*et al.*](1996). «Reproductive aggin: Accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic FSH rise in normal older women». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81:1038-1045.
- HULL, M. G. R.; FLEMING, C. F.; HUGHES, A. O. [*et al.*](1996). «The age related decline in female fecundity: a quantitative conrolled study of implanting capacity and survival of individual embryos after IVF». *Fertil. Steril.*, 65(4):783-790.
- RON-EL, R.; RAZIEL, A.; STRASSBURGER, E. D. [*et al.*](2000). «Outcome of assistedreproductive technology in women over the age of 41». *Fertil. Steril.*, 74(3):471-475.
- SOCIETY FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY IN USA (2000). «Results generated from the ASRM and SART Registry». *Fertil. Steril.*, 74(4):641-653.
- SPANDORFER, S. D.; DAVIS, O. K.; BARMAT, L. I.; CHUNG, P. H.; ROSENWAKS, Z. (2004). «Relationship between maternal age and aneuploidy *in vitro* fertilization pregnancy loss». *Obstetrical & Gynecological Survey*. 59(11):773-774.
- TARIN, J. J.; PEREZ-ALBALÁ, S.; CANO, A. (2000). «Consequences on offspring of abnormal funcion in ageing gametes». *Hum. Reprod. Update*, 6(6):532-548.