

Influencia de la edad en el tratamiento con antagonistas de la GnRH

Influence of age on treatment with GnRH antagonists

Dolz M, Abad de Velasco L, Moreno X, Castillo J.C, Bonilla Musoles F

Unidad de Reproducción Asistida. Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia

Resumen

Objetivo: Valorar la influencia de la edad en los protocolos de estimulación ovárica con antagonistas frente a agonistas (protocolo largo) de la GnRH.

Método: Estudio retrospectivo de 1429 ciclos de FIV/ICSI-TE realizados entre los años 2000-2004. Se establecieron dos grupos, uno con 716 pacientes tratadas con agonistas de la GnRH mediante protocolo largo (grupo 1) y otro formado por 713 pacientes tratadas con antagonistas de la GnRH mediante protocolo flexible y dosis múltiple (grupo 2). Las pacientes se subdividieron en 3 subgrupos en función de la edad, < 31 años (grupo A), 31-37 años (grupo B) y > 37 años (grupo C).

Resultados: Las pacientes del grupo 2 necesitaron menos días de estimulación. Presentaron menor grosor endometrial (mm) el día de la transferencia y menor tasa de embarazo (42 % versus 47%; $P=0,09$) que las pacientes del grupo 1. En el grupo C (>37 años) las pacientes tratadas con antagonistas de la GnRH presentaron de forma significativa menor número de días de estimulación ($8,7 \pm 1,7$ versus $9,1 \pm 1,6$; $P=0,005$), menor grosor endometrial (mm) ($11,4 \pm 2,7$ versus $12,6 \pm 3,3$; $P=0,013$), menor número de embriones totales ($3,1 \pm 1,8$ versus $4,4 \pm 3,0$; $P=0,001$) y menos embriones de buena calidad ($1,7 \pm 0,9$ versus $2,7 \pm 0,5$; $P=0,000$) que las tratadas con protocolo largo. Sin embargo, la tasa de embarazo sólo mostró una tendencia a ser menor en las tratadas con antagonistas de la GnRH (28% versus 38%; $P= 0,169$).

Conclusiones: No hubo diferencias significativas respecto a la tasa de embarazo en las pacientes tratadas con agonistas y antagonistas de la GnRH. Las pacientes tratadas con antagonistas de la GnRH presentaron un grosor endometrial menor que en las que se usaron agonistas GnRH.

Palabras clave: hiperestimulación ovárica. Antagonistas/agonistas GnRH. FIV. Tasa gestación. Endometrio.

Correspondencia: Dr. Miguel Dolz
Hospital Clínico Universitario de Valencia
Avenida Blasco Ibáñez 17
46010 Valencia. Spain
E-mail: migueldolz@ono.com
dolz_mig@gva.es

Summary

Background: *The evaluation of the influence of age on ovarian stimulation protocols with GnRH antagonists vs agonists (long protocol).*

Method: *Retrospective study of 1429 FIV/ICSI-TE cycles performed within 2000-2004. We establish to groups, one with 716 patients treated with GnRH agonists long protocol (group 1) and the other with 713 patients treated with GnRH antagonists in flexible and multiple dose protocol (group 2). Patients were divided in 3 subgroups according to age: <31 (group A), 31-37 (group B) and >37 (group C).*

Results: *Patients in group 2 needed less of stimulation days, had lower endometrial thickness on the embryo-transfer day and lower pregnancy rate (42% vs 47%; P=0.09) compared with group 1 patients. In group C (>37), patients treated with GnRH antagonists presented significantly lower days of stimulation, lower endometrial thickness, lower total number of embryos and lower good quality embryos compared with patients treated with long protocol. However, pregnancy rate just showed a tendency to be lower in patients treated with GnRH antagonists (28% vs 38%; P=0,169).*

Conclusion: *We found no significant difference in pregnancy rate in patients treated with GnRH agonists or antagonists. Patients treated with GnRH antagonists had lower endometrial thickness than the ones who used GnRH agonists.*

Key words: Ovarian hyperstimulation. IVF. Antagonista/Agonist GnRH. Pregnancy rate. Endometrium.

INTRODUCCIÓN

Desde la introducción de los agonistas de la GnRH para evitar las elevaciones prematuras de LH (1, 2), su protocolo estrella el "protocolo largo" ha sido el más ampliamente utilizado por todos los especialistas en reproducción asistida en las últimas 2 décadas. La introducción de los antagonistas de la GnRH (3, 4) ha aportado algunos beneficios en los protocolos de hiperestimulación ovárica, pero por otro lado, sin hallar diferencias significativas, parece que la tasa de embarazo es sensiblemente inferior respecto al protocolo largo con agonistas de la GnRH.

Si ponemos en una balanza los embarazos obtenidos con una y otra molécula, parece que se inclina ligeramente a favor de los agonistas, como así se pone de manifiesto en la última revisión de la Cochrane (5, 6) que incluye 5 estudios prospectivos y aleatorizados y que muestra de forma significativa una disminución de la tasa de embarazos aproximadamente un 5% para los grupos tratados con antagonistas de la GnRH (OR 0.79, 95% CI 0.63, 0.99).

Por el contrario, los antagonistas de GnRH ofrecen una serie de ventajas entre las que destacan, menor duración de la estimulación con ahorro de la cantidad total gonadotropinas, mayor comodidad para la paciente al inyectarse menos días, menor incidencia de síndrome de hiperestimulación ovárica (7, 8), tiene un efecto casi inmediato (4 horas) y permite la posibilidad de administrar un bolo de agonista de la

GnRH para desencadenar la ovulación (9, 10). Todos estos motivos tienen un argumento lo suficientemente sólido como para justificar esa pequeña diferencia en cuanto a la tasa de gestación.

Se ha intentado justificar éstos resultados y en este sentido algunos autores (11) han publicado que el uso de los antagonistas de la GnRH necesita un periodo de aprendizaje, y así comunican tasas de gestación similares a los obtenidos con agonistas en aquellos centros con gran experiencia, en contraposición con otros centros que hallan diferencias muy por debajo de lo esperado y que podrían llegar a un nivel con significación estadística.

En segundo lugar se ha atribuido una menor tasa de implantación y embarazo en relación a las variaciones del estradiol en relación a los tratamientos con antagonistas de la GnRH. Se ha comprobado que en el momento de introducir el antagonista se produce una meseta e incluso descenso del estradiol que podría afectar tanto al ovocito como al endometrio. Sin embargo, otros trabajos publicados refieren que estas variaciones del estradiol tienen escasa repercusión sobre la tasa de embarazos (11, 12)

En tercer lugar, se han descrito posibles acciones extraglandulares de los antagonistas ya que se han descrito receptores de GnRH en múltiples tejidos incluidos ovario, ovocito, embrión y endometrio (13). Algunos autores han planteado que podría existir una acción directa por interferencias con las mitosis de las células endometriales a través de una disminución

de la síntesis de factores de crecimiento (EGF y IGF) con el resultado de una acción auto/paracrina del antagonista de la GnRH sobre el endometrio que afectaría a la implantación embrionaria (14,15).

Nosotros nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Es sólo la experiencia el único factor responsable de los buenos o malos resultados con el uso de los antagonistas de la GnRH? ¿Podrían los cambios en la foliulogénesis y el ciclo ovárico relacionados con la edad, afectar a la respuesta y resultados de los antagonistas? ¿Es posible que los antagonistas afecten al desarrollo y calidad del ovocito, embrión y fundamentalmente endometrio?

Para poder contestar a estos planteamientos, hemos realizado un estudio retrospectivo de 1429 ciclos de FIV realizados en el Hospital Clínico Universitario de Valencia entre enero de 2002 y diciembre de 2004.

MATERIAL Y MÉTODO

Pacientes

Estudio retrospectivo de 1429 ciclos de FIV/ICSI-TE realizados entre los años 2000-2004. Se definió el grupo 1 con 716 pacientes cuando se usaron los agonistas de la GnRH mediante protocolo largo y grupo 2 con 713 pacientes cuando se utilizaron los antagonistas de la GnRH con protocolo dosis múltiple y flexible.

Las pacientes también fueron divididas en tres subgrupos atendiendo a la edad: Grupo A (<31 años) Grupo B (31-37 años) y grupo C (>37 años).

Protocolo de estimulación

Se usaron dos protocolos diferentes: (1) protocolo largo seguido de gonadotropinas (FSHr) y (2) protocolo con antagonistas de la GnRH dosis múltiple y flexible y FSHr.

El protocolo largo se inició con la administración del agonista de la GnRH Nafarelina (Synarel®) Seid, Barcelona, España) o acetato de leuprolide (Procrin®; Abbot S.A. Madrid, Spain) el día 21 del ciclo precedente mediante la inyección subcutánea de Procrin® (0,5 mg/día SC) o intranasal de Synarel® (800mcgs/día repartidos en dos aplicaciones). Con la aparición de la menstruación y comprobada la ausencia de actividad folicular mediante ecografía (ausencia de folículos mayores de 10 mm el tercer día del ciclo) se inició la estimulación ovárica

con FSH recombinante (Gonal F®); laboratorios Serono S.A. Madrid, Spain o Puregon®) (Laboratorios Organon Española S.A) a dosis entre 150-450 UI/día los primeros seis días para luego ajustar la dosis en función de la respuesta mediante controles ecográficos y determinación de 17 beta estradiol.

Las pacientes tratadas con antagonistas siguieron un protocolo con dosis múltiple y flexible de forma que la introducción del antagonista con dosis diarias de 0,25 mg (Cetrotide®); Serono internacional S.A. Geneva, Switzerland u Orgalutran®) (Laboratorios Organon Española S.A) se realizó cuando el tamaño folicular era mayor de 14 mm.

La maduración final ovocitaria se realizó con la administración de HCGr (Ovitrelle®) 250 mcg laboratorios Serono .A. Madrid, Spain) cuando hallamos 2 ó más folículos con un diámetro entre 18-20mm.

Procedimiento de laboratorio y transferencia embrionaria

La punción folicular y aspiración ovocitaria se realizó a las 35-36 horas tras la administración de la HCGr (Ovitrelle®) con anestesia paracervical (lidocaina 2%) y analgésico intravenoso usando una sonda transvaginal de 5 MHz (ecógrafo Aloka 1400) y agujas Cook de 18G con una presión de aspiración entre 160-180 mmHg. Los ovocitos recolectados fueron clasificados en tipo 1 á 3 valorando el complejo cumulus-ovocito cuando el procedimiento indicado era la fecundación in vitro convencional. Los ovocitos destinados a ICSI fueron decumulados y posteriormente aquellos en estadio metafase II fueron microinyectados. Después fueron incubados a 37°C en una atmósfera con un 5% de CO2.

Tras 48-72h se seleccionaron los 2 ó 3 mejores embriones (según la clasificación de Lucinda L. Veek) y fueron transferidos al útero con un catéter de transferencia blando (Labotect GMBH Labor-Technik-Göttingen) guiando la punta del catéter con ultrasonidos (ecógrafo Aloka 1400 y sonda abdominal de 3,5 MHz) y depositando los embriones a ≥ 1 cm del fondo uterino.

Previo a la transferencia se realiza la medición del grosor endometrial en el fondo del útero en un corte longitudinal, así como la histerometría ecográfica y posición uterina. La fase lútea se suplementó con Progeffik®) (Laboratorios EFFIK, S.A. Madrid, España) a dosis de 200 mg vía vaginal cada 8 horas. La tasa de embarazo la definimos como prueba positiva en orina a los 14 días tras la transferencia embrionaria.

Análisis estadístico

Los datos se expresan como media \pm desviación estándar. Se procesaron con un programa SPSS 11.0. La comparación entre grupos se realizó con test t-Student cuando se hubo comprobado la normalidad de los datos mediante el test de Kolmogorov Smirnov. La comparación entre grupos de variables no paramétricas mediante el test U Mann Whitney. Se consideró que había significación estadística cuando el valor de "p" era inferior a 0,05.

RESULTADOS

Resultados globales antagonistas versus agonistas de la GnRH:

Se realizaron 1429 ciclos de FIV con transferencia embrionaria (TE). Al comparar globalmente las pacientes tratadas con protocolo largo y antagonistas de la GnRH, no hallamos diferencias significativas respecto a la edad, número de ovocitos recuperados, tasas de gestación, número de ovocitos metafases II, tasas de fecundación y número de embriones transferidos (Tabla 1).

Sí encontramos diferencias significativas en cuanto a la duración de la estimulación ovárica que fue menor en las pacientes del grupo 2 ($8,8 \pm 1,7$ versus $9,3 \pm 1,6$ días). El número de embriones de buena calidad (G1) fue mayor en el grupo 1 ($2,6 \pm 1,7$ versus $2,4 \pm 1,6$; $P=0,05$). El grosor endometrial en el

momento de la transferencia embrionaria fue significativamente menor en el grupo 2 ($12,6 \pm 3,3$ versus $11,7 \pm 2,7$; $P=0,0001$).

Respecto a la tasa de embarazos, aunque no se evidenciaron diferencias significativas, si apreciamos una tendencia a encontrar mejores resultados cuando utilizamos agonistas que con antagonistas de la GnRH (47% vs 42% $p=0,09$).

Pacientes menores de 31 años (grupo A)

De los 1429 ciclos realizados, seleccionamos aquellas pacientes que tenían una edad inferior a 31 años (grupo A, $n=270$) y comparamos los resultados entre las que utilizamos protocolo largo con agonistas ($n=147$) y aquellas en las que se usó antagonistas de la GnRH ($n=123$).

Los resultados obtenidos fueron excelentes en ambos grupos como cabría esperar en este grupo de pacientes, sólo encontramos diferencias en el grosor endometrial que fue significativamente más fino en las pacientes en las que se utilizaron antagonistas de la GnRH ($11,9 \pm 2,7$ versus $13,1 \pm 3,3$; $P=0,002$) (tabla 2).

No hallamos diferencias significativas respecto a la edad, dosis de FSHr, días de estimulación, embriones totales y de buena calidad y número de embriones transferidos. No hubo diferencias significativas de la tasa de embarazo (50% versus 51 %; $P=0,834$) entre las pacientes tratadas con protocolo largo con agonistas y antagonistas de la GnRH.

Tabla 1

Comparación de resultados entre las pacientes tratadas con agonistas versus antagonistas de la GnRH

	Protocolo Largo (Grupo 1)	Antagonistas (Grupo 2)	p
n = 1429	716	713	
Edad (años)	$33,4 \pm 3,6$	$33,5 \pm 3,6$	0,658
Nº días estimulación	$9,3 \pm 1,6^*$	$8,8 \pm 1,7^*$	0,007
Dosis total (FSH)UI	2126 ± 128	2110 ± 106	0,772
Ovocitos recuperados	$9,8 \pm 6,2$	$10,2 \pm 21,4$	0,656
Metafases II	$6,6 \pm 3,7$	$6,7 \pm 4,0$	0,849
Embriones totales	$4,4 \pm 3,0$	$4,2 \pm 2,8$	0,282
Embriones grado 1	$2,6 \pm 1,7^*$	$2,4 \pm 1,6^*$	0,050
Embriones transferidos	$2,3 \pm 0,69$	$2,3 \pm 0,68$	0,358
Grosor endometrial(mm)	$12,6 \pm 3,3^*$	$11,7 \pm 2,7^*$	0,0001
Tasa embarazo (%)	47%	42 %	0.09

Tabla 2

Comparación de resultados entre las pacientes tratadas con agonistas versus antagonistas de la GnRH en las pacientes del grupo A

GRUPO A (< 31 AÑOS)	PROTOCOLO LARGO	ANTAGONISTAS	p
N = 270	147	123	
Edad(años)	28,4± 1,7	28,1 ± 1,9	0,148
Nºdías estimulación(días)	8,9 ±1,4	8,9 ± 1,7	0,820
Dosis total (FSH)UI	1779 ± 736	1807 ± 669	0,748
Ovocitos recuperados	11,7 ± 6,0	10,6 ± 6,7	0,141
Metafases II	7,5 ± 3,6	7,2 ± 4,2	0,673
Embriones totales	4,7 ± 3,0	4,6 ± 2,8	0,799
Embriones grado 1	2,8 ± 1,7	2,5 ± 1,6	0,425
Embriones transferidos	2,3 ± 0,7	2,3 ± 0,6	0,884
Grosor endometrial(mm)	13,1± 3,3*	11,9 ± 2,7*	0,002
Tasa embarazo (%)	50%	51 %	0,834

Pacientes entre 31-37 años (grupo B)

De los 1429 ciclos realizados, seleccionamos aquellas pacientes que tenían una edad entre 31 y 37 años (Grupo B, n=942) y comparamos los resultados entre las que utilizamos protocolo largo con agonistas (n=463) y aquellas en las que se usó antagonistas de la GnRH (n=479).

Los resultados obtenidos cuando se usaron antagonistas mostraron diferencias significativas respecto a la duración de la estimulación (8,7± 1,7 versus 9,1 ±1,6; P=0,005) y el grosor endometrial (11,7 ± 2,7 versus 12,5± 3,3; P=0,001) que fueron significativamente menores que las pacientes tratadas con agonistas (tabla 3).

No hallamos diferencias significativas respecto a la edad, dosis de gonadotropinas (FSHr), ovocitos recuperados, embriones totales, embriones de buena calidad y transferidos, así como en la tasa de embarazos entre ambos grupos.

Pacientes mayores de 37 años

De los 1429 ciclos realizados, seleccionamos aquellas pacientes que tenían una edad mayor de 37 años (n=217) y comparamos los resultados entre las que utilizamos protocolo largo con agonistas (n=107) y aquellas en las que se utilizaron antagonistas de la GnRH(n=110).

Los resultados obtenidos en este grupo de pacien-

Tabla 3

Comparación de resultados entre las pacientes tratadas con agonistas versus antagonistas de la GnRH en las pacientes del grupo B.

GRUPO B (31-37 años)	PROTOCOLO LARGO	ANTAGONISTAS	p
n = 942	463	479	
Edad (años)	33,8± 1,8	33,7 ± 1,8	0,409
Nºdías estimulación(días)	9,1 ±1,6*	8,7± 1,7*	0,005
Dosis total (FSH)UI	2175 ± 1254	2095 ± 964	0,273
Ovocitos recuperados	9,7 ± 6,3	10,8 ± 26,0	0,397
Metafases II	6,6 ± 3,6	6,8 ± 3,9	0,537
Embriones totales	4,3 ± 2,9	4,3 ± 3,0	0,939
Embriones grado 1	2,5 ± 1,6	2,5 ± 1,6	0,777
Embriones transferidos	2,3 ± 0,6	2,3 ± 0,6	0,392
Grosor endometrial(mm)	12,5± 3,3*	11,7 ± 2,7*	0,001
Tasa embarazo (%)	47%	42 %	0,192

DISCUSIÓN

tes mostró diferencias significativas respecto a la duración de la estimulación ($8,7 \pm 1,5$ versus $9,1 \pm 1,7$; $P=0,05$), número de embriones obtenidos ($3,1 \pm 1,8$ versus $4,4 \pm 3,0$; $P= 0,001$), así como embriones de buena calidad ($1,7 \pm 0,9$ versus $2,7 \pm 1,5$; $P= 0,000$) y del grosor endometrial ($11,4 \pm 2,7$ versus $12,6 \pm 3,3$; $P= 0,013$) que fueron significativamente menores en las pacientes tratadas con antagonistas de la GnRH (tabla 4).

No encontramos diferencias respecto a la edad, dosis de FSHr, ovocitos recuperados y número de embriones transferido al comparar antagonistas frente a agonistas de la GnRH (protocolo largo).

Respecto a la tasa de gestación aunque no hallamos diferencias significativas se evidencia una tendencia a obtener peores resultados con el uso de antagonistas en este grupo de pacientes (28% versus 38%; $P= 0,169$).

Grosor endometrial según la duración de la estimulación ovárica

Para valorar la influencia que tiene la duración de la estimulación sobre el grosor endometrial, subdividimos las pacientes del grupo 1 y 2 en dos subgrupos en función del número de días de estimulación situando el punto de corte en 9 días y tratamos ambos grupos de forma separada.

Los resultados mostraron que no había diferencias significativas y que el grosor endometrial no se veía influenciado por la duración de la estimulación en las pacientes tratadas con antagonistas y agonistas de la GnRH por separado (Tabla 5).

El uso de antagonistas de la GnRH se ha generalizado en los últimos años, sin embargo, se han generado ciertas dudas por parte de los médicos. Unos los utilizan con total confianza, por el contrario, otros los han abandonado totalmente. ¿Por qué existe esa divergencia de opinión frente a estos tratamientos?

La lectura inicial es que los resultados globales hablan a favor del protocolo largo frente a los antagonistas aunque no se evidencian diferencias significativas. Por grupos de edad, las pacientes jóvenes presentan unos resultados muy buenos, por el contrario, los resultados con antagonistas de la GnRH son peores en las pacientes de mayor edad.

No hay datos en la literatura que comparen los agonistas y antagonistas de la GnRH en pacientes mayores de 37 años. Los resultados publicados hacen referencia a pacientes "bajas respondedoras" y en general, no son concluyentes respecto al uso de antagonistas en este grupo de pacientes (16-20). La mayoría no encuentran diferencias respecto a la tasa de embarazos al comparar los antagonistas de la GnRH frente a distintos protocolos con agonistas (protocolo corto, largo, micro-flare up...). Sin embargo, no parece creíble que los antagonistas sean adecuados para un grupo de pacientes (jóvenes) mientras que a otras les afecta de forma negativa. Esto nos hace pensar que serían más ciertas diferencias de las pacientes relacionadas con el envejecimiento (escasa reserva ovárica, fases lúteas deficientes, ciclos menstruales acortados) las que afectarían negativamente a unas (añosas)

Tabla 4

Comparación de resultados entre las pacientes tratadas con agonistas versus antagonistas de la GnRH en las pacientes del grupo C

PACIENTES >37 AÑOS	PROTOCOLO LARGO	ANTAGONISTAS	p
N = 217	107	110	
Edad(años)	$39,1 \pm 1,69$	$39,1 \pm 1,4$	0,846
Nºdías estimulación(días)	$9,1 \pm 1,7^*$	$8,7 \pm 1,5^*$	0,05
Dosis total (FSH)UI	2460 ± 1126	2575 ± 1070	0,450
Ovocitos recuperados	$7,8 \pm 5,4$	$7,0 \pm 4,4$	0,218
Metafasas II	$5,8 \pm 3,8$	$5,4 \pm 3,7$	0,639
Embriones totales	$4,4 \pm 3,0^*$	$3,1 \pm 1,8^*$	0,001
Embriones grado I	$2,7 \pm 1,5^*$	$1,7 \pm 0,9^*$	0,000
Embriones transferidos	$2,3 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,7$	0,312
Grosor endometrial(mm)	$12,6 \pm 3,3^*$	$11,4 \pm 2,7^*$	0,013
Tasa embarazo (%)	38%	28 %	0,169

Tabla 5

Comparación del grosor endometrial en función de la duración de la estimulación (punto de corte 9 días) en ambos grupos

	<9 días	>9 días	p
Antagonistas(grupo 2)	11,7±2,8 n = 713	11,7±2,7 n = 319	0,884 n = 394
Agonistas(grupo 1)	12,4±3,8 n = 716	12,8±3,1 n = 263	0,381 n = 453

mientras que a otras (jóvenes) los resultados serían excelentes.

Nuestros resultados globales medidos en tasa de embarazo, muestran una diferencia de un 5% (42% vs 47%) a favor de los agonistas pero sin evidenciar diferencias significativas ($p=0,09$) al igual que lo publicado hasta este momento (4,6,8,21-25). Se han atribuido diversas causas para justificar estos resultados, efecto negativo del antagonista sobre el endometrio y ovocito, curva de aprendizaje, peores resultados con protocolos fijos con antagonistas.

Analizando los datos, el primer aspecto a destacar es que la duración de la estimulación ovárica es menor en los tratamientos con antagonistas de la GnRH que en el protocolo largo con agonistas en todos los grupos comparados a excepción de las pacientes más jóvenes (> 31 años) y al igual que en otros estudios publicados (7, 8, 20, 22-24). A priori, esto parece una ventaja, ya que a menos días de estimulación menos unidades de gonadotropinas y por lo tanto menor coste del ciclo de estimulación.

Según los resultados que encontramos en nuestro estudio las pacientes más jóvenes no presentan diferencias en cuanto a la duración de la estimulación cuando se usan agonistas o antagonistas de la GnRH, sin embargo, se observa un acortamiento de la fase folicular y por lo tanto de la duración de la estimulación ovárica en los otros subgrupos de mayor edad.

Un aspecto de la foliculogénesis de la mujer, es que con el paso de los años los ciclos menstruales tienden a acortarse, así, por encima de 40 años se produce un acortamiento del ciclo menstrual con un promedio de 3 días respecto a las mujeres más jóvenes (26-28).

También es conocido que la duración de la fase folicular está en relación al normal funcionamiento del cuerpo lúteo del ciclo precedente (28). En aquellas mujeres de edad avanzada, que presentan peor calidad ovocitaria y un funcionamiento deficiente del cuerpo lúteo (menor producción de progesterona, inhibina A y fundamentalmente estradiol) provocaría un "adelanto" en la elevación de la FSH en la transi-

ción luteofolicular (27) y por lo tanto un reclutamiento y selección folicular más temprano, dando como resultado un acortamiento de la fase folicular del ciclo siguiente.

Una consecuencia lógica de lo expuesto anteriormente sería un acortamiento del ciclo estimulado, un menor número de folículos dispuestos a responder a las gonadotropinas, una asincronía en su desarrollo que daría como resultado un menor número de folículos de desigual tamaño y menor cantidad de ovocitos recolectados que justificarían los peores resultados obtenidos en los subgrupos de mayor edad (menos embriones totales y de buena calidad). Resultados similares han sido comunicados por diversos autores (7-8, 22-24).

Por el contrario, las pacientes que utilizaron el protocolo largo con agonistas de la GnRH, presentaron una duración mayor de la estimulación ovárica e independiente de la edad que se podría explicar, por un lado, por el efecto "Flare up" ocasionado por la administración del agonista de la GnRH en los primeros días de la fase lútea media que estimularía la función del cuerpo lúteo y por otro lado, a los 7-10 días de su administración se produce un efecto de supresión hipofisaria con caída de la FSH y la LH y por lo tanto se evitaría el reclutamiento precoz que acontece con el uso de antagonistas en las mujeres de más edad.

Con la intención de subsanar estos problemas, diversos autores promulgan la supresión de la secreción de FSH en los últimos días de la fase lútea para prevenir el desarrollo asincrónico de folículos durante la transición lúteo-folicular y fomentar la sincronización folicular durante la estimulación ovárica controlada. Para tal fin, recomiendan el uso de anticonceptivos orales (29, 11), estrógenos orales o transdérmicos en los últimos días del ciclo precedente (30), antagonistas de la GnRH en la fase lútea media (31-33). Con estas modificaciones evitan el reclutamiento precoz y consiguen más y mejores ovocitos, obtienen más embriones de mejor calidad y mejoran la tasa de embarazo en los tratamientos con antagonistas de la GnRH.

Por último haremos referencia al tercer aspecto. El grosor endometrial medido en el momento de la transferencia embrionaria es menor y significativamente más fino en las pacientes en las que se usaron antagonistas que con los agonistas de la GnRH. Además este efecto es constante e independiente de la edad, ya que aparece en todos los subgrupos estudiados. Tur-Kaspa (34) estudian 55 pacientes sometidas a FIV comparando dos protocolos, Cetrotrelax versus triptorelina y hallan que las pacientes tratadas con an-

tagonistas de la GnRH presentan el día de la transferencia embrionaria un volumen endometrial (ml) medido con ecografía 3D significativamente menor que las tratadas con agonistas de la GnRH. Otros estudios (20) no hallan diferencias significativas respecto al grosor endometrial. En este sentido, algunos autores (35) estudiaron 31 donantes de ovocitos repartidos en 3 grupos unas tratadas con ganirelix a dosis estándar 0,25mg/día, otro con dosis altas de 2 mg/día y tercer grupo con dosis de 0,6 mg de buserelina en protocolo largo no hallando diferencias significativas al comparar las características del endometrio 2 y 7 días después de la administración de la HCG. Estos dos últimos estudios aunque prospectivos y aleatorizados tienen una "n" muy reducida y son grupos de pacientes seleccionados, el primero de bajas respondedora y el segundo donantes de ovocitos. Nuestros resultados aunque basados en un estudio retrospectivo tienen una "n" mayor y por otro lado, hallamos de forma constante un menor grosor endometrial en las pacientes tratadas con antagonistas al comparar los grupos 1 y 2 de forma global, pero también en los distintos subgrupos de edad.

Para explicar este menor grosor endometrial cuando se utilizan los antagonistas de la GnRH, caben dos hipótesis, la primera es que a menor número de días de estimulación y menos niveles de estradiol en los protocolos con antagonistas darían como resultado un grosor endometrial menor. Sin duda esta hipótesis parece razonable pues el grosor endometrial crece progresivamente durante la fase folicular, y sería proporcional a las cifras de estradiol y a la duración de la misma.

La segunda hipótesis hace referencia al posible efecto directo del antagonista sobre el endometrio. Se han descrito receptores de GnRH en muchos órganos y tejidos, incluidos ovocito, embrión y endometrio (36-38), la utilización de antagonistas de la GnRH puede producir una disminución del número de mitosis celulares por efecto directo y a través de un bloqueo de los IGF-I y EGF que ocasionaría un inadecuado desarrollo endometrial (14) en los últimos días de la estimulación.

Según los resultados de nuestro estudio, la duración de la estimulación ovárica tomando como punto de corte 9 días, no tiene repercusión sobre el grosor endometrial obtenido el día de la transferencia embrionaria. Además, esto sucede en los grupos de antagonistas y de agonistas de la GnRH por separado.

De todo lo anterior se podría especular que el grosor endometrial más fino en las pacientes tratadas con antagonistas sería consecuencia de un efecto directo del antagonista inhibiendo las mitosis celulares o a

través de una interferencia con los factores de crecimiento (IGF-I y EGF) durante los días de estimulación en los que se administra el antagonista como ya han apuntado en otras publicaciones (14).

Un endometrio más delgado, más la tendencia a recuperar menos ovocitos y obtener menos embriones, justificarían los resultados sensiblemente peores con el uso de antagonistas de GnRH sobretodo en las pacientes de mayor edad.

No obstante, excepto el posible efecto deletéreo del antagonista sobre el endometrio, el uso de tratamientos en la fase lútea del ciclo anterior con anticonceptivos orales, estrógenos orales o transdérmicos y antagonistas de la GnRH en los últimos días de la fase lútea anterior, podrían retrasar el reclutamiento folicular precoz, mejorar la sincronización, alargar la fase folicular siguiente, y así obtendríamos un mayor número de folículos y de ovocitos, más y mejores embriones para transferir y así poder mejorar los resultados en los protocolos con antagonistas de la GnRH.

A pesar de los resultados obtenidos, hacen falta estudios prospectivos y bien diseñados para poder demostrar los resultados que hemos señalado.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Porter RN, Smith W, Craft IL, Abdulwahid NA, Jacobs HS.:** Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. *Lancet*. 1984 Dec 1; 2 (8414):1284-5.
2. **Loumaye E.:** The control of endogenous secretion of LH by gonadotrophin-releasing hormone agonists during ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum. Reprod.* 1990, 5: 357-376.
3. **Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hasani S, Reissmann T, Krebs D, Klingmuller D.:** Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 1994 May;9 (5):788-91.
4. **Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, de Ziegler D, Taieb J, Selva J, Frydman R.:** The single or dual administration of the gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril.* 1994 Sep;62 (3):468-76.
5. **Al-Inany H, Aboulghar M.:** Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001; (4).
6. **Al Inany H and Aboulghar M.:** GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod.* 2002; 17,874-885

7. **Olivennes F, Belaisch-Allart J, Empeiraire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau. L, Nicollet B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R.:** Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo-transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril.* 2000 Feb;73 (2):314-20.
8. **Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmuller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P.:** Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetorelix and the LHRH-agonist buserelin. *European Cetorelix Study Group.* *Hum Reprod.* 2000 Mar;15 (3):526-31.
9. **Itskovitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B.:** Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report: short communication. *Hum Reprod.* 2000 Sep;15 (9):1965-8.
10. **Fausser, B.C., de Jong, D., Olivennes, F., Wramsby, H., Tay, C., Itskovitz-Eldor, J. and van Hooren, H.G.:** Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist ganirelix during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87, 709 ± 715.
11. **Shapiro DB, Mitchell-Leef D.:** GnRH antagonist in in vitro fertilization: where we are now. *Minerva Ginecol.* 2003 Oct; 55 (5):373-88.
12. **Minaretzis D, Alper MM, Oskowitz SP, Lobel SM, Mortola JF, Pavlou SN.:** Gonadotropin-releasing hormone antagonist versus agonist administration in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation: cycle performance and in vitro steroidogenesis of granulosa-lutein cells. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 May;172 (5):1518-25
13. **Murdoch WJ.:** Immunolocalization of a gonadotropin-releasing hormone receptor site in murine endometrium that mediates apoptosis. *Cell Tissue Res*, 1995; 282:527-529
14. **Hernandez, E.R.:** Embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists. *Hum. Reprod.*, 2000; 15, 1211-1216
15. **Kol, S., Lightman, A., Hilljensjo, T. et al.:** High doses of GnRH antagonists in IVF cycles do not adversely affect the outcome of subsequent freeze-thaw cycles. *Hum. Reprod.*, 1999; 14, 2242-2244.
16. **Akman M.A, Erden H.F, Tosun S.B, Bayazit N, Aksoy E. and Bahceci M.:** Addition of GnRH antagonist in cycles of poor responders undergoing IVF. *Hum. Reprod.*, 2000; 15, 2145±2147.
17. **Akman M.A, Erden H.F, Tosun S.B, Bayazit N, Aksoy E. and Bahceci M.:** Comparison of agonistic Flare-up-protocol and antagonistic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Hum. Reprod.*, 2001; 16, 868±870.
18. **Copperman AB.:** Antagonists in poor-responder patients. *Fertil Steril.* 2003 Jul;80 Suppl 1:S16-24; discussion S32-4.
19. **Craft I, Gorgy A, Hill J, Menon D. and Podsiadly B.:** Will GnRH antagonists provide new hope for patients considered difficult responders' to GnRH agonist protocols? *Hum. Reprod.*, 1999; 14, 2959±2962.
20. **Marci R, Caserta D, Dolo V, Tatone C, Pavan A, Moscarini M.:** GnRH antagonist in IVF poor-responder patients: results of a randomized trial. *Reprod Biomed Online.* 2005 Aug;11(2):189-93.
21. **Vlaisavljevic V, Lovrec VG and Kovacic B.:** Comparable effectiveness using flexible single-dose GnRH antagonist (cetorelix) and single-dose long GnRH agonist (goserelin) protocol for IVF cycles - a prospective, randomized study. *Reprod Biomed Online* 2003; 7,301-308.
22. **European and Middle East Orgalutran Study Group.:** Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 2001 Apr;16(4):644-51.
23. **European Cetorelix Study Group.:** Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone-antagonist cetorelix and the LHRH agonist buserelin. *Hum .Reprod* 2000,15 (3):526-531.
24. **The North American Ganirelix Study Group.:** Efficacy and safety of ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 2001;75 (1):38-45.
25. **Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K.:** Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2001 Nov;265 (4):175-82.
26. **Klein NA, Battaglia DE, Miller PB, Branigan EF, Giudice LC, Soules MR.:** Ovarian follicular development and the follicular fluid hormones and growth factors in normal women of advanced reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 May; 81 (5):1946-51.
27. **Klein NA, Harper AJ, Houmard BS, Sluss PM and Soules MR.:** Is the short follicular phase in the older women secondary to advanced or accelerated domi-

- nant follicle development? *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; 87:5746-5750.
28. **Van Zonneveld, G.J. Scheffer, F.J.M. Broekmans, M.A. Blankenstein, F.H.d. Jong, C.W.N. Looman, J.D.F. Habbema, and E.R.t. Velde.:** Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged over 40 years compared with a reference population of young women. *Hum Reprod* 2003 18: 495-501
 29. **Meldrum D, Scott R, Levy MJ, Alper M, Noyes N.:** Pilot study to assess oral contraceptive (OC) pretreatment in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation (COH) in ganirelix acetate cycles *Fertility and Sterility* . 2002 Sep Vol. 78, Issue (Supplement 1), Page S176.
 30. **Fanchin R, Salomon L, Castelo-Branco A, Olivennes F, Frydman N, Frydman R.:** Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. *Hum Reprod*. 2003 Dec;18 (12):2698-703.
 31. **Fanchin R, Castelo Branco A, Kadoch IJ, Hosny G, Bagirova M, Frydman R.:** Premenstrual administration of gonadotropin-releasing hormone antagonist coordinates early antral follicle sizes and sets up the basis for an innovative concept of controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril*. 2004 Jun;81 (6):1554-9.
 32. **Humaidan P, Bungum L, Bungum M, Hald F, Agerholm I, Blaabjerg J, Yding Andersen C, Lindenberg S.:** Reproductive outcome using a GnRH antagonist (cetrotrelax) for luteolysis and follicular synchronization in poor responder IVF/ICSI patients treated with a flexible GnRH antagonist protocol. *Reprod Biomed Online*. 2005 Dec;11 (6):679-84.
 33. **Fanchin R, Schonauer LM, Cunha-Filho JS, Mendez Lozano DH, Frydman R.:** Coordination of antral follicle growth: basis for innovative concepts of controlled ovarian hyperstimulation. *Semin Reprod Med*. 2005 nov; 23 (4):354-62. Review.
 34. **Tur-Kaspa I, Zohav E, Segal O, Meltzer S, Segal S.:** Three dimensional endometrial and uterine volumes changes during induction of ovulation for IVF-GnRH antagonist vs GnRH agonist. *Fertil Steril* vol 76 n° 3 Suppl,1 Septiembre 2001 O-61.
 35. **Simon J, Oberyé J, Bellver C, Vidal E, Bosch J.A, Horcajadas C, Murphy S, Adams A, Riesewijk B, Mannaerts and A Pellicer.:** 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 Dec; 20 (12):3318-27.
 36. **Casañ E.M, Raga F, Kruessel J.S. et al.:** Immunoreactive gonadotropin-releasing hormone (GnRH) expression in cycling human endometrium of fertile patients. *Fertil. Steril*, 1998; 70, 102-106.
 37. **Dong KW, Marcelin K, Hsu MI, Chiang CM, Hoffman G, Roberts JL.:** Expression of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene in human uterine endometrial tissue. *Mol Hum Reprod*. 1998 Sep; 4(9):893-8.
 38. **Raga F, Casan, EM, Kruessel JS, et al.:** Quantitative gonadotropin-releasing hormone gene expression and immunohistochemical localization in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Biol Reprod*. 1998; 59:661- 669.