



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**HORMONA ANTIMULLERIANA ( AMH ) COMO MARCADOR PREDICTIVO  
DE LA RESPUESTA OVÁRICA EN PACIENTES BAJO PROTOCOLO DE  
ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN FERTILIZACIÓN IN VITRO ( FIV ).**

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

**P R E S E N T A  
EMMA ELIZABETH MARSAL MARTINEZ**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO  
DR.HÉCTOR SALVADOR GODOY MORALES**

**MÉXICO D.F., JULIO 2011.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**Este trabajo fué realizado en el Hospital Angeles Pedregal y en la Sección de Estudios de Postgrado e Investigación de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección del Dr. Héctor Salvador Godoy Morales.**

**Este trabajo de Tesis es presentado por la alumna Marsal Martínez Emma Elizabeth, con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis Dr. Hector Salvador Godoy Morales, y del Jefe de la División de Educación Médica a cargo del Dr. Federico Rodriguez Weber, con fecha 31 de Julio 2011 para su impresión final.**

**Dr. Federico Rodriguez Weber**  
**Jefe de la División de Educación Médica**

**Dr. Héctor Salvador Godoy Morales**  
**Tutor principal**

## **AUTORIZACIONES**

**Dr. Federico Rodriguez Weber**  
**Jefe de la División de Educación Médica**  
**Hospital Angeles Pedregal**

---

**Dr. Héctor Salvador Godoy Morales**  
**Profesor Titular del Curso de Especialización en Biología de la**  
**Reproducción Humana**  
**Jefe de la Unidad de Medicina Reproductiva**  
**Hospital Angeles Pedregal**

---

**Dr. Alfredo Ulloa Aguirre**  
**Profesor Adjunto del Curso de Especialización en Biología de la**  
**Reproducción Humana**  
**Hospital Angeles Pedregal**

---

## **AGRADECIMIENTOS**

Como muestra de agradecimiento por su cariño y apoyo moral, deseo expresarles que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos, con amor, admiración y respeto para mamá y papá.

A mis arañitas Kevin, Jhona y Francis por darme la fortaleza de seguir con paso firme.

A mi hermanas Montse, Cynthia y Jackie.

Al Dr. Godoy y al Dr. Ulloa, por su esmero en mi formación profesional.

## INDICE

Resumen .....	8
Abstract.....	9
1. Introducción.....	10
2. Antecedentes.....	2
2.1. Reserva Ovárica .....	11
2.2. Hormona Antimulleriana .....	11
2.2.1.- Hormona Antimulleriana como marcador de Reserva Ovárica .....	14
2.2.2.- Otras aplicaciones clínicas de la AMH .....	14
2.2.3.- AMH en la fisiología ovárica .....	15
2.2.4.- Factores que modulan las concentraciones de la AMH en las mujeres.	17
2.2.5.- AMH como prueba de reserva ovárica .....	19
2.2.6.- AMH en el pronóstico de la respuesta ovárica en ART .....	19
2.2.7.- Importancia de las concentraciones bajas de AMH antes de la FIV...	22
2.2.8.- Importancia de las concentraciones normales de AMH antes de una FIV	
2.2.9.- Importancia de las altas concentraciones de AMH antes de un FIV ..	24
2.2.10.- AMH en el pronóstico de la respuesta ovárica cualitativa en ART..	25
3. Justificación .....	26
4. Hipótesis .....	27
5. Objetivos.....	27
5.1. Objetivo General.....	27
5.2. Objetivos Particulares.....	27
6. Material y Métodos.....	27
6.1. Tipo de estudio .....	27
6.2. Ubicación temporal y espacial .....	27
6.3. Criterios de selección de la muestra .....	28
6.4. Variables .....	28

6.5. Tamaño de la muestra .....	28
6.6. Protocolo de estimulación ovárica .....	28
6.7.- Métodos de laboratorio .....	29
6.7.1.- Procesamiento de muestras .....	29
6.8.- Análisis estadístico .....	30
7. Resultados y análisis .....	31
8.- Discusión .....	37
9.- Conclusiones .....	38
10.- Perspectivas .....	39
11.- Bibliografía .....	40

## RESUMEN

Históricamente se utilizan como marcador de reserva ovárica las cuantificaciones en suero de las concentraciones en día tres del ciclo menstrual de hormonas tales como la inhibina B, la folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH), Estradiol (E2), y el marcador ultrasonográfico como es el conteo de folículos antrales (AFC), sin dejar de lado la estrecha relación de éstos marcadores con la edad de la mujer.

Sin embargo el uso de estos marcadores en cuanto a su valor predictivo sigue siendo controversial y requiere de día menstrual específico para un análisis preciso de algunos de ellos.

Por otra parte, varios investigadores han utilizado el volumen ovárico y recuento de folículos antrales en la predicción de la respuesta ovárica a la estimulación hormonal. Sin embargo, la ecografía es subjetiva, y la interpretación de las observaciones pueden no ser compatibles.

Recientemente, un marcador endócrino nuevo es la hormona antimullerina (AMH), esta ha sido evaluada por varios grupos como marcador de respuesta ovárica (La Marca, 2006).

La AMH pertenece a la superfamilia de factor de crecimiento tipo B(TGF- $\beta$ ) y considerándose como un factor de crecimiento local y de diferenciación celular.

En las mujeres la AMH se produce exclusivamente en el ovario por las células de la granulosa que rodean los folículos antrales, los folículos preantrales y los pequeños folículos. Por lo tanto, se cree que los niveles séricos de AMH son un reflejo del tamaño de la cohorte de crecimiento de los folículos pequeños, que a su vez refleja el número de folículos primordiales residuales, o la reserva ovárica.

Nuestro estudio retrospectivo fué diseñado para investigar si las concentraciones de AMH está asociada con la respuesta obtenida en los ciclos de estimulación ovárica y si puede ser éste ser utilizado como un marcador pronóstico de respuesta.

## ABSTRACT

Historically used as a marker of ovarian reserve quantifications of serum concentrations in three days of the menstrual cycle hormones such as inhibin B, follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E2), and the ultrasound marker as antral follicle count (AFC), without ignoring the close relationship of these markers with age for women.

However, the use of these markers in their predictive value remains controversial and requires specific menstrual days for an accurate analysis of some of them.

Moreover, several investigators have utilized ovarian volume and antral follicle count in predicting ovarian response to hormonal stimulation. However, ultrasound is subjective, and interpretation of the observations may not be compatible.

Recently, a new endocrine marker is antimullerina hormone (AMH), this has been evaluated by several groups as a marker of ovarian response (La Marca, 2006).

AMH belongs to the superfamily of growth factor B (TGF- $\beta$ ) and regarded as a local growth factor and cell differentiation.

In women, AMH is produced exclusively in the ovary by the granulosa cells surrounding antral follicles, the follicles and small preantral follicles. Therefore, it is believed that serum AMH is a reflection of the size of the cohort of growth of small follicles, which in turn reflects the residual number of primordial follicles, or ovarian reserve.

Our retrospective study was designed to investigate whether AMH concentrations are associated with the response in cycles of ovarian stimulation and whether it can be used as a prognostic marker of response.

## 1. INTRODUCCIÓN

La infertilidad es un aspecto común en cerca de al 15% de las parejas a nivel global. Las parejas jóvenes con menos de 35 años tienen la posibilidad de concebir entre el 20 y 25% por mes, con una tasa acumulada a un año de cerca del 90%. Aquellas parejas con relaciones sexuales a libre demanda y sin protección anticonceptiva y que no han logrado concebir el diagnóstico de infertilidad conyugal debe hacerse y, si ésta misma pareja (especialmente la mujer) tiene sobre 37 años el diagnóstico puede realizarse con antelación.

Actualmente llama la atención que un gran número de personas retrasan su tiempo para buscar fertilidad debido a factores socio culturales actuales que prefieren el desarrollo personal y laboral antes que tener hijos.

Este fenómeno que comenzó en países desarrollados, actualmente está siendo muy frecuente en países en vías de desarrollo también.

Las tasas de fecundaciones asistidas se han incrementado de manera significativa en las últimas décadas debido expuesto; y las posibilidades de encontrar un embarazo también se han hecho más factibles conforme las investigaciones científicas al respecto que se han desarrollado.

La edad de la mujer es uno de los puntos más importantes ya que en países en vías de desarrollo recientemente las mujeres pretenden buscar el embarazo después de los 30 y muchas mujeres después de los 35; razón por la cual la tasa de fertilidad tiende a descender sustancialmente en dichos segmentos etáreos a consecuencia de la evolución natural de la reserva ovárica.

Independientemente de la causa de la infertilidad el tratamiento que mejores tasas de éxito tiene es la Fertilización in Vitro (FIV), que desde el nacimiento de la primera bebé probeta Louise Brown, en 1978, por el equipo del médico pionero de los profesores Patrick Steptoe y Robert Edwards (Premio Nobel de Medicina, 2010) se han incrementado un exponencial número de ciclos de FIV cada año en todos los países del mundo. Aproximadamente 1 de cada 50 nacimientos es producto de una FIV en Suecia y 1 de 60 en Australia, mientras que en Estados Unidos llega a 1 de 80 nacimientos.

El proceso de la FIV consiste en la estimulación exógena de los ovarios mediante gonadotropinas humanas o recombinantes; extracción de los óvulos mediante un procedimiento quirúrgico de mínima invasión (aspiración folicular ecoguiada); fertilización in vitro en el laboratorio de embriología previa selección y clasificación de la calidad ovocitaria y capacitación espermática; cultivo embrionario sistemático; y transferencia de embriones en la cavidad uterina, a la espera de una implantación satisfactoria.

Previamente a la realización de una FIV, las parejas tienen que pasar por una serie de exámenes complementarios, los cuales permitirán evaluar las causas y factores asociados a la infertilidad, algunos de ellos son para la mujer las pruebas empleadas para determinar su

reserva ovárica como son la FSH, AMH, inhibina B, conteo de folículos antrales; éstas últimas han tenido una gran variación entre la edad y la reserva ovárica de una mujer.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1.- RESERVA OVÁRICA (RO)**

La RO puede definirse como el total de folículos en los ovários y la calidad de sus ovocitos. La base fisiológica de la disminución de la RO, es la pérdida progresiva y constante del total de folículos, por medio de la atresia y la apoptosis. A mayor edad cronológica de la mujer, va disminuyendo la reserva ovárica y por lo tanto la función reproductiva.

La edad cronológica en sí misma, es un pobre indicador de la edad reproductiva o de la RO. A partir de los 37-38 años se acelera la pérdida folicular y la mujer comienza con un estado de subfertilidad, aunque se mantengan ciclos menstruales regulares, y ovule y sus concentraciones hormonales sean normales. Un 10 % de las mujeres sufre un envejecimiento ovárico prematuro, donde el declive de la capacidad reproductiva se acelera a partir de los 30, de los 20 años, o incluso antes.

Se puede evaluar mediante test endócrinos y/o test ecográficos la RO. Los test endócrinos incluyen la cuantificación de hormona folículo estimulante (FSH) e Inhibina B en el 3° día del ciclo, y la Hormona Antimülleriana (AMH) sin importar día del ciclo. La ecografía transvaginal se realiza para el conteo de folículos antrales en fase folicular temprana y esto tiene un buen valor predictivo.

La inhibina B, es producida por los folículos antrales pequeños en respuesta a la FSH; con la declinación del pool de folículos, las concentraciones séricas de inhibina B y estradiol disminuyen y, subsecuentemente aumentan las concentraciones de FSH.

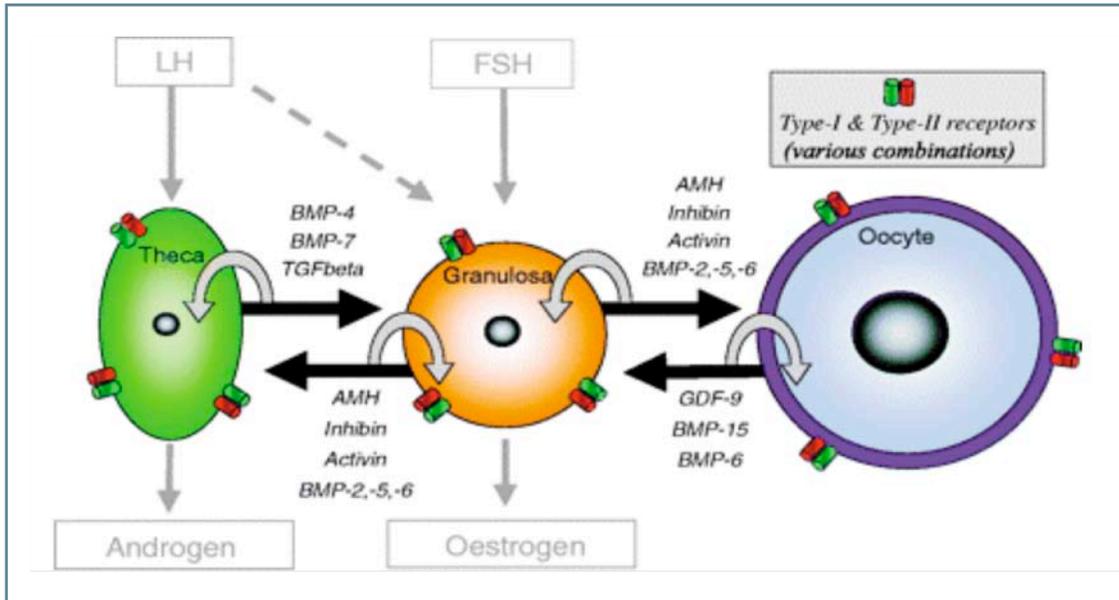
Estas hormonas, son parte de un sistema de feed-back, por lo cual sus concentraciones séricas no son independientes la una de la otra.

Tanto las concentraciones de AMH, como el conteo de folículos antrales (AFC) disminuyen con la edad, existiendo una mayor correlación positiva entre estos dos marcadores, que entre AMH y FSH, estradiol e inhibina B en el 3° día del ciclo.

### **2.2.- HORMONA ANTIMULLERIANA**

Esta hormona es una glucoproteína homodimérica, es decir que se compone de dos subunidades iguales, de un peso molecular de 72 Kd cada una, unidas por un puente disulfuro. Es un miembro de la superfamilia peptídica de los factores  $\beta$  transformadores del crecimiento (TGF- $\beta$ ). El dominio carboxilo terminal de la molécula de AMH es muy similar a las cadenas  $\beta$  de activinas e inhibinas y, es la porción bioactiva. El gen que codifica para AMH mapea en el brazo corto del cromosoma 19 y existen 2 tipos de receptores para AMH: tipo I y II, que se encuentran en las células de la teca, en las mismas

células de la granulosa y en el ovocito, pudiendo así la AMH, ejercer su acción paracrina y autocrina, y desarrollando un rol fundamental en la folículo-genesis temprana. El gen del receptor tipo II se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 y el gen del receptor AMH tipo I se encuentra en el brazo largo del cromosoma 2.



Miembros de la superfamilia de TGF- $\beta$  implicados en la comunicación bidireccional entre las células de la teca y de la granulosa, y entre la granulosa y el ovocito. Modulación autocrina y paracrina de los mismos, que depende de la expresión de los receptores tipo I y II en las distintas células.

Reproducción (2006) 132,191-206

En las mujeres la AMH es producida por las células de la granulosa, en los folículos pre antrales y antrales (Weenen et al., 2004). El papel fisiológico principal de la AMH en el ovario parece estar limitada a la inhibición de las primeras etapas del desarrollo folicular. (Themmen, 2005; Visser y Themmen, 2005). Inhibe el reclutamiento de los folículos primarios y, el crecimiento folicular FSH-dependiente. En cultivos de células de la granulosa se ha visto que AMH inhibe la actividad aromatasa y la expresión del receptor para LH.

La AMH es secretada por el ovario hacia la circulación por lo tanto, la AMH se puede medir en el suero. Como las concentraciones séricas de AMH reflejan esencialmente la reserva folicular ovárica, cuando hay una reducción en el número de folículos en crecimiento puede existir como consecuencia una disminución en la circulación de la AMH.

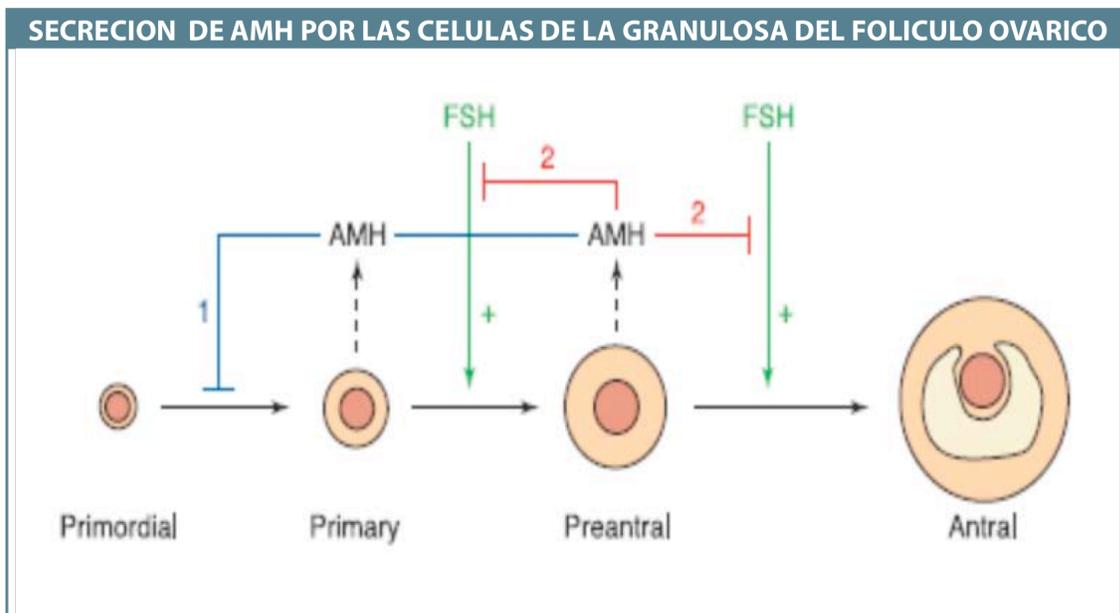
Numerosos estudios avalan con certeza, que las concentraciones séricas de AMH no presentan variaciones durante el ciclo menstrual, lo cual es coherente con el crecimiento continuo y no cíclico de los folículos pequeños.

Las concentraciones séricas de AMH son escasamente detectables después del nacimiento,

tienen un pico después de la pubertad, coincidente con la activación del eje gonadal y van declinando con la edad hasta la menopausia. Por tal motivo su cuantificación es predictiva para determinar la reserva ovárica.

Recientemente, la AMH ha sido evaluada por varios grupos de estudios como un nuevo marcador clínico potencial de la reserva ovárica así como en la respuesta a la administración de gonadotropinas (Seifer et al, 2002;. Van Rooij et al, 2002;. Fanchin et al, 2003a, b;. Muttukrishna et al, 2004;. Eldar-Geva et al, 2005;. Hazout et al, 2004;. Peñarrubia et al, 2005;. Tremellen et al, 2005;. Fiçicioglu et al, 2006;. La Marca et al, 2007).

En los últimos años se han publicado varios estudios prospectivos en la que se postula la posible aplicación clínica de la medición de AMH en la predicción de la respuesta ovárica cuantitativos y cualitativos en tecnologías de reproducción asistida (ART).



La AMH fue originalmente identificada por su papel en la diferenciación sexual masculina, expresándose en las células de Sertoli del testículo fetal, donde la AMH induce la atresia de los conductos de Muller y, en ausencia de AMH los conductos de Muller se convierten en el útero, trompas de Falopio y la parte superior de la vagina. (Münsterberg y Lovell-Badge, 1991; Lee y Donahoe, 1993;. Josso et al, 2001).

Los cambios en las concentraciones séricas de AMH, ocurren relativamente temprano en la secuencia de eventos fisiológicos que acompañan a la declinación de la función reproductiva. Comparada con la FSH, que comienza a elevarse recién cuando los ciclos se tornan irregulares, la AMH tiene un mejor perfil, pues podría mostrar cambios cuando la ciclicidad es aún normal.

Todos estos datos sugieren que la AMH puede ser utilizada como un marcador del envejecimiento ovárico y por lo tanto un excelente indicador de la reserva ovárica. AMH permite predecir la declinación de la RO con la edad y de detectar el inicio de la menopausia.

La posibilidad de evaluar la reserva folicular de la gónada, constituye un punto crítico, en el estudio del estado endócrino y reproductivo de la mujer, en condiciones fisiológicas y más aun en determinadas patologías.

En las pacientes con disminución ovocitaria congénita o adquirida, la disponibilidad de dosar AMH, para precisar el nivel de suficiencia ovárica, es muy importante, ya que es un parámetro accesible y de mínima invasión, que facilita la caracterización de la edad del ovario.

### *2.2.1.- AMH como marcador de Reserva Ovárica.*

En estudios recientes se valora la correlación de AMH mejor que la edad, la FSH y de inhibina B con el número de ovocitos recuperados en ciclos de reproducción asistida.

La AMH basal puede ofrecer un mejor valor pronóstico de embarazo clínico que otros marcadores disponibles en la actualidad.

La evaluación de la "reserva ovárica" es importante antes de llevar a cabo algún tratamiento de fertilización in Vitro (FIV), donde la identificación de las altas o bajas respondedoras antes de un ciclo de inducción de ovulación permite optimizar los protocolos de estimulación ovárica, así como disminuir la tasa de cancelación de ciclos y reducir efectos secundarios tales como el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

### *2.2.2.- Otras aplicaciones clínicas de la AMH*

- Marcador de la respuesta ovárica en tratamientos de reproducción asistida: Las concentraciones séricas de AMH son más bajas en pacientes con pobre respuesta ovárica, que en aquellas con respuesta normal. Clínicamente es muy útil dosar AMH en un ciclo espontáneo, previo a la estimulación. Niveles elevados de AMH podrían predecir una hiperrespuesta a la estimulación ovárica, lo cual correlaciona con el riesgo del síndrome de hiperestimulación ovárica.

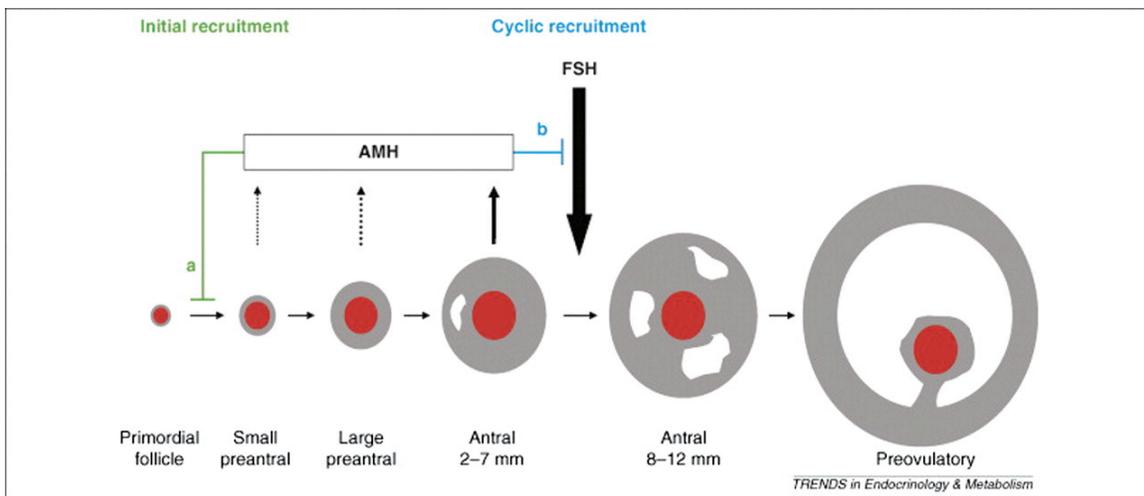
- Síndrome de ovario poliquístico (SOP): Numerosos estudios demuestran que las concentraciones aumentadas de AMH en suero y en líquido folicular, estarían indicando la existencia de este síndrome. En estas pacientes, el pool de folículos antrales se encuentra aumentado, hay alteración de la folículogénesis, desordenes en el proceso de selección del folículo dominante y por lo tanto anovulación. En el SOP, los folículos no producen grandes cantidades de estradiol, probablemente debido a una disminución de la actividad aromatasas de los mismos; como AMH también inhibe actividad aromatasas, podría contribuir a potenciar la severidad de este trastorno.

- Marcador tumoral ovárico: Además de causar la regresión de los conductos de Müller en el embrión masculino, AMH inhibe el crecimiento de las células del cáncer epitelial de ovario. Los carcinomas serosos se derivan del epitelio superficial del ovario, que se invagina para formar el conducto mülleriano, durante la vida embrionaria. Varios estudios confirman la naturaleza mülleriana de este tipo de tumores. La AMH podría ser usada en la detección de estos tumores y en los de células de la granulosa, utilizándola en su tratamiento y pudiendo controlar la terapia con la cuantificación de la misma.

- Además, la AMH se utiliza para monitorear la reserva ovárica en pacientes cancerosas pre y post quimioterapia.

### 2.2.3.- AMH en la fisiología ovárica

La AMH es producida por células de la granulosa de los folículos pre antrales y antrales, e interviene en el desarrollo de los folículos en crecimiento, hasta que hayan alcanzado el tamaño y el estado de diferenciación en el que son seleccionados por la acción de la FSH hipofisaria (Weenen et al., 2004).



La Marca A et al. Hum. Reprod. Update 2010;16:113-130

La hormona antimülleriana (AMH) es secretada por los folículos pre-antrales y antrales, ésta inhibe el reclutamiento folicular inicial y la acción de la FSH que estimula el crecimiento folicular (Themmen de 2005, Visser y Themmen, 2005).

El papel de la AMH en los dos compartimentos principales del desarrollo normal del folículo ovárico, la AMH se expresa en los folículos pequeños y grandes, así como en los pre antrales (flechas discontinuas) así como en los pequeños folículos antrales (flecha entera); el segundo sobre todo contribuye en las concentraciones séricas de ésta hormona. Su acción inicial se lleva a cabo como un proceso continuo, mientras que la acción cíclica es detonado por un aumento en las concentraciones de FSH en suero al final de un ciclo menstrual anterior. Los efectos inhibitorios de AMH se muestran (a) sobre el desarrollo inicial de los folículos primarios hasta los folículos primordiales en reposo y (b) señala la

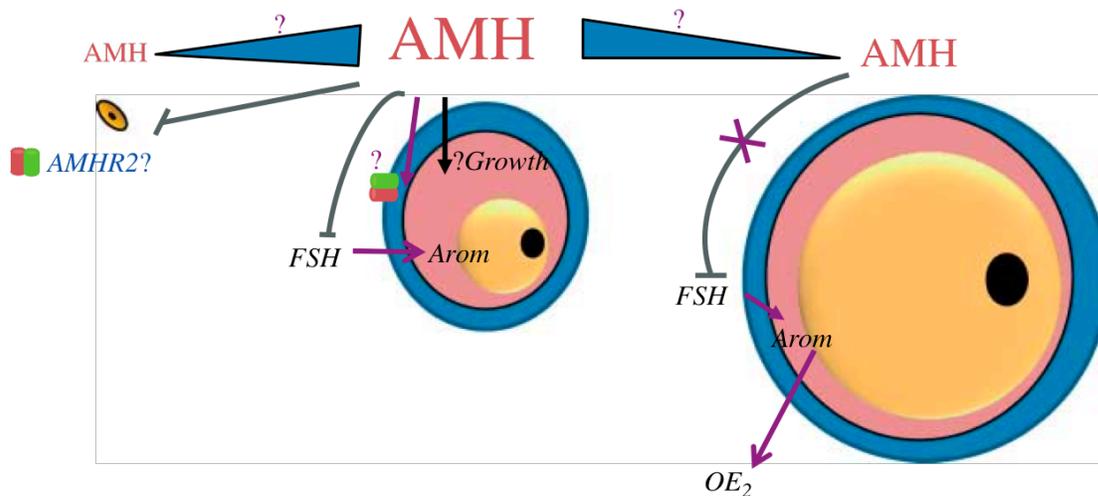
etapa en que los folículos antrales son sensibles a FSH (Broekmans et al., 2008). Ver esquema.

La AMH no se expresa en los folículos atrésicos ni en las células de la teca. La expresión AMH en el ovario se ha observado en fetos desde las 36 semanas de gestación (Raypert-De Meyts et al., 1999). Estudios recientes demuestran que en ratas adultas la FSH y estradiol ováricos pueden regular a la baja la expresión de la AMH (Baarends et al., 1995).

La AMH ejerce efectos biológicos a través de una serina transmembrana / treonina kinasa del receptor del tipo II (AMHR2), que se expresa específicamente en las gónadas y las células mesenquimales adyacentes a los conductos de Müller (Di Clemente et al., 2003).

Los efectos globales de la exposición AMH es disminuir la expresión de factores de estimulación y, un aumento de la expresión de factores inhibitorios que regulan las vías celulares que dan lugar a la inhibición del desarrollo del folículo primordial (Nilsson et al., 2007).

AMH como reguladora del crecimiento folicular normal y el desarrollo folicular.



La producción de AMH en los folículos preantrales es variable, detectándose a partir de las primeras etapas de la foliculogénesis. No está claro aún si los folículos pre antrales expresan AMHR2.

La producción de AMH por los folículos más grandes se cree que tiene efecto inhibitorio para convertirse en folículos primordiales por una acción paracrina. La producción de AMH por las células de la granulosa se incrementa para los folículos antrales; y el desarrollo del folículo puede estar determinado por la AMH al inhibir la maduración temprana de estos folículos.

Se puede disminuir la sensibilidad a la FSH por el folículo y, la expresión de mRNA inhibiendo la aromatasa y su actividad. Los efectos sobre la proliferación celular no están claros aún, pero no parece tener un efecto de apoptosis. Los receptores AMHR2 se han detectado en las células de la teca, aunque sus acciones son desconocidas.

Como los folículos se desarrollan y crecen, las concentraciones de AMH disminuyen, aunque el factor causante queda aún por descubrirse. La disminución de la AMH permite la acción de la FSH en los folículos más grandes, y estimular a su vez a la aromatasa y la producción de estradiol.

Actuales teorías sugieren un papel de AMH como un co-regulador de la esteroidogénesis en las células de la granulosa, porque las concentraciones de AMH parecen estar relacionados con las concentraciones de estradiol en el líquido folicular de pequeños folículos antrales (Andersen y Byskov, 2006). Esto es confirmado por un reciente estudio que mostró que los polimorfismos en el gen de la AMH o del receptor de tipo II parecen estar relacionados con las concentraciones de estradiol durante la fase folicular, lo cual sugiere un papel de AMH en la esteroidogénesis inducida por FSH en el ovario humano (Kevenaar et al., 2007).

#### *2.2.4.- Factores que modulan las concentraciones de la AMH en las mujeres.*

La AMH es producida y secretada por las gónadas hacia la circulación, y AMH se puede medir en el suero de hombres y mujeres. Las concentraciones séricas de AMH de las mujeres son inferiores a las de los hombres durante toda la vida.

En las mujeres las concentraciones de AMH son casi indetectables en el nacimiento con un sutil aumento en los primeros 2 ó 4 años de edad, después de que la AMH parece ser estable hasta la edad adulta, una disminución en sus concentraciones es un signo de agotamiento en la reserva folicular hasta convertirse en indetectable en la menopausia (Lee et al, 1996;. Guibourdenche et al, 2003;. La Marca et al, 2005a;. Van Rooij et al, 2005;. Bergada et al, 2006;. Shin et al, 2008;. Robertson et al ., 2008; La Marca 2009a).

Como las concentraciones de AMH reflejan esencialmente el pool de folículos, la reducción en el número de pequeños folículos en crecimiento puede ser seguido por una disminución en las concentraciones séricas de AMH.

La reducción de la reserva ovárica es un proceso fisiológico que ocurre en el período reproductivo tardío, consistentemente asociado con una disminución en las concentraciones de AMH (Van Rooij et al, 2005; Robertson et al, 2008).

La fuerte correlación existente entre las concentraciones de AMH y el pool de folículos ha sido recientemente utilizado para predecir la ocurrencia de la menopausia (Sowers et al, 2008;. Van Disseldorp et al, 2008).

No hay variaciones significativas de AMH durante todo el ciclo menstrual (La Marca et al, 2006a). Por lo tanto en el ámbito clínico de la variabilidad inter e intra ciclo en las concentraciones séricas de AMH puede ser considerada lo suficientemente bajo como para permitir la sincronización al azar de la medición de AMH durante el ciclo menstrual.

En las mujeres, las concentraciones de AMH parecen ser modificadas en las condiciones en que la liberación de gonadotropina endógena disminuye sustancialmente, por ejemplo durante el embarazo (La Marca et al., 2005b), durante tratamientos con agonistas de la GnRH (Mohamed et al., 2006) y tras la administración a corto plazo de anticonceptivos por vía oral (Arbo et al, 2007; Somunkiran et al, 2007; Streuli et al, 2008).

Las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) muestran un mayor desarrollo de folículos antrales en comparación con las mujeres normales (Pigny et al., 2006). En el examen histológico, los ovarios poliquísticos (PCO) presentan un número normal de los folículos primordiales, mientras que el número de folículos en desarrollo es el doble en comparación con ovarios normales (Webber et al., 2003). En consecuencia las concentraciones circulantes de AMH en las mujeres con SOP tienden a ser de dos a tres veces mayor que los controles sanos (Fallat et al, 1997;. Cook et al, 2002;. Pigny et al, 2003;. La Marca et al, 2004a, b;. Laven et al, 2004;. Mulders et al, 2004;. Eldar-Geva et al, 2005;. Piltonen et al, 2005;. Wachs et al, 2007).

En las mujeres con SOP, el aumento en las concentraciones de AMH no sólo puede ser debido a la excesiva acumulación de folículos antrales (Wang et al., 2007), sino también a las células de la granulosa con un aumento de la secreción de AMH (Mulders et al., 2004). De hecho, las concentraciones de AMH son, en promedio 75 veces mayor en las células de la granulosa de PCO, en comparación con las concentraciones de las células de la granulosa de los ovarios normales (Pellatt et al., 2007).

La medición de AMH se ha utilizado para ofrecer una especificidad relativamente alta y la sensibilidad (92 y 67%, respectivamente) como marcador de diagnóstico para el PCO (Pigny et al., 2006). Sobre esta base se ha propuesto que, en situaciones donde los datos exactos de ultrasonido no están disponibles, AMH podría ser utilizada en lugar del recuento de folículos como criterio para el diagnóstico de SOP (Pigny et al., 2006).

La obesidad se ha asociado con una disminución en la fertilidad en éstas pacientes, incluso en presencia de ovulación y ciclos menstruales regulares, así como el aumento de aborto involuntario en comparación con mujeres de peso normal (Rich-Edwards et al, 2002;. Fedorcsak et al, 2004).

En mujeres obesas sin SOP presentan disminución en las concentraciones de inhibina B y la AMH (Gracia et al, 2005; Freeman et al, 2007), lo que sugiere que la obesidad puede estar asociada con reserva ovárica disminuida. Un estudio reciente (Su et al., 2008) examinaron la correlación de la obesidad con marcadores hormonales y por ultrasonido de la reserva ovárica, donde se encontró que las concentraciones séricas de AMH son más bajas en las mujeres obesas en comparación con la misma edad las mujeres de peso normal, a pesar de contar con similar cuenta de folículos antrales.

Esto sugiere que las concentraciones de AMH en las mujeres obesas pueden ser más bajas, por razones fisiológicas relacionadas con la obesidad en sí misma y no puede ser necesariamente un indicativo de la reserva ovárica disminuida (Su et al., 2008).

Otros factores relacionados con la disminución en las concentraciones séricas de AMH son el tabaquismo (Freour et al., 2008), el consumo de alcohol (Nardo et al., 2007) y, la raza o etnia (Seifer et al., 2008).

#### *2.2.5.- AMH como prueba de reserva ovárica*

La prueba de reserva ovárica ideal debe permitir la identificación de las mujeres que no son candidatas a FIV como consecuencia de una reserva ovárica extremadamente reducida.

La exclusión de estas parejas de ART podría efectivamente reducir los costos para el sistema de salud. Por otra parte los tratamientos médicos inútiles, los riesgos quirúrgicos, el estrés y la decepción puede ser evitado. Por otro lado, como hemos visto anteriormente, el valor predictivo de la AMH de mala respuesta no es absoluta, con los consiguientes resultados falsos positivos y negativos. Resultados positivos falsos en especial pueden tener consecuencias negativas en la vida de la pareja, ya que este resultado podría excluir a estas mujeres de ser tratadas por FIV. Además, ha sido ampliamente demostrado que muchas pobres respondedoras logran embarazo con recién nacidos vivos (Klinkert et al, 2004; Van der Gaast et al, 2006). En particular, las mujeres pobres respondedoras tienen un pronóstico diferente en comparación con las mayores pobres respondedoras (Lashen et al, 1999; Ulug et al, 2003).

Por lo tanto, antes de proponer la medición de AMH en la prueba de reserva ovárica, se debe definir cuál es el objetivo de la prueba en sí. El objetivo posible de las pruebas de reserva ovárica en la FIV es para la integración de:

- (i) consejo a las pacientes sobre el riesgo / beneficio del tratamiento,
- (ii) reducir el costo de negar el tratamiento a las parejas de mal pronóstico, y
- (iii) individualizar el tratamiento.

#### *2.2.6.- AMH en el pronóstico de la respuesta ovárica en ART*

Las concentraciones de la AMH parecen disminuir gradualmente durante la administración de gonadotropinas como parte de la estimulación ovárica controlada (COS) (Fanchin et al, 2003; La Marca et al, 2004).

La disminución de la concentración sérica de AMH podría deberse a un efecto negativo directo o indirecto de FSH en la secreción ovárica de AMH. Durante la administración exógena de FSH se produce un aumento en las concentraciones de estradiol, lo que podría ser una razón para la disminución de la AMH. De hecho el estradiol ha sido implicado en la regulación a la baja del ARNm de AMH y AMHII en el ovario (Baarends et al., 1995).

La estimulación ovárica con FSH, induce el crecimiento de los folículos, estos crecen y pierden la sensibilidad para AMH, esta es probablemente la razón principal para la

disminución de la AMH. Por lo tanto, debido a las bajas concentraciones de AMH durante la administración de FSH, la medición de AMH para predecir la respuesta ovárica a la FSH no se debe realizar durante el tratamiento con gonadotropinas, pero si puede ser utilizada con unos meses o a unos días antes de comenzar el tratamiento con FSH.

Existen datos que muestran una fuerte correlación positiva entre las concentraciones basales de AMH en suero y el número de ovocitos obtenidos en las mujeres sometidas a ciclos de estimulación ovárica. Tabla I.

### Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART)

**Table I**

Studies on AMH as marker of ovarian response to controlled ovarian stimulation (COS)

Author	n	R with oocytes*	AMH better than					
			AFC	Ov. Vol	d3 FSH	d3 E2	inhB	Age
Seifer <i>et al.</i> (2002)	107	0.48			✓	✓		
Van Rooij <i>et al.</i> (2002)	130	0.57	=		✓	✓	✓	✓
Fanchin <i>et al.</i> (2003a, b)	93	0.43						
Muttukrishna <i>et al.</i> (2004)	69	0.69			✓		✓	
Hazout <i>et al.</i> (2004)	109	0.38			✓	✓	✓	✓
Muttukrishna <i>et al.</i> (2005)	108	0.5	=		✓			
Eldar-Geva (2005)	56	0.64	X		✓		✓	
Silberstein <i>et al.</i> (2006)	257	0.33			✓			
Fişcioglu <i>et al.</i> (2006)	50	0.56	✓		✓	✓		✓
Lekamge <i>et al.</i> (2007)	126	0.34	=					
La Marca <i>et al.</i> (2007)	48	0.7						
Kwee <i>et al.</i> (2007)	110	0.63	X	✓	✓			✓
Nakhuda <i>et al.</i> (2007)	77	0.63			✓			
McIlveen <i>et al.</i> (2007)	84	0.78	✓	✓	✓		=	✓
Nelson <i>et al.</i> (2007)	340	0.71			✓			✓
Elgindy <i>et al.</i> (2008)	33	0.88	=	✓	✓			
Lie Fong <i>et al.</i> (2008)	125	0.47						
Jee <i>et al.</i> (2008)	59	0.53					X	
Jayaprakasan <i>et al.</i> (2008)	135	0.47	=	✓	✓	✓		✓
Wunder <i>et al.</i> (2008)	276	0.35			✓		X	

Comparison with other predictors.

\*R with oocytes: correlation between serum AMH levels and the number of retrieved oocytes; ✓, better than; X, worse than; =, equal to.

En la evaluación de la AMH como marcador de respuesta ovárica a la FSH, el primer artículo reporta una asociación entre la AMH circulante y la respuesta ovárica a la gonadotropina (Seifer *et al.*, 2002). Los autores observaron que el aumento de AMH en el día 3 del protocolo de estimulación se asocia con un mayor número de ovocitos obtenidos.

Todos los estudios retrospectivos y prospectivos donde han encontrado una correlación entre el número de ovocitos obtenidos y las concentraciones de AMH se resumen en la tabla II.

**Table II**  
Sensitivity and specificity of AMH for the prediction of poor response to gonadotrophin stimulation

Author	n	Study design	Cut-off value	Sens (%)	Spec (%)	Definition of poor response	AMH assay
Van Rooij et al. (2002)	119	Prosp	0.3 µg/l	60	89	<4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Muttukrishna et al. (2004)	69	Prosp	0.1 ng/ml	87.5*	72.2*	<4 oocytes or cancellation	Immunotech-Beckman-Coulter
Muttukrishna et al. (2005)	108	Retro	0.2 ng/ml	87	64	≤4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Tremellen et al. (2005)	75	Prosp	8.1 pmol/l	80	85	≤4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Peñarrubia et al. (2005)	80	Prosp	4.9 pmol/l	53*	96*	cancellation	Immunotech-Beckman-Coulter
Ebner et al. (2006)	141	Prosp	1.66 ng/ml	69	86	<4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Fiçicioglu et al. (2006)	50	Prosp	0.25 pg/ml	90.9	90.9	<5 oocytes	Diagnostic System Laboratories
La Marca et al. (2007)	48	Prosp	0.75 ng/ml	80	93	<4 oocytes or cancellation	Immunotech-Beckman-Coulter
Fréour et al. (2007)	69	Prosp	1.3 µg/l	44	100	<6 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Smeenk et al. (2007)	80	Prosp	1.4 µg/l	62	73	≤4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
McIlveen et al. (2007)	84	Prosp	1.25 ng/ml	58	75	≤4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Kwee et al. (2007)	110	Prosp	1.4 µg/l	76	86	<6 oocytes	Diagnostic System Laboratories
Nakhuda et al. (2007)	77	Prosp	0.35 ng/ml	90.1*	81.8*	cancellation	Diagnostic System Laboratories
Lekamge et al. (2007)	126	Retro	14 pmol/l	73	73	≤4 oocytes	Immunotech-Beckman-Coulter
Nelson et al. (2007)	340	Prosp	5 pmol/l	75 <sup>†</sup>		≤2 oocytes	Diagnostic System Laboratories
Gnoth et al. (2008)	132	Prosp	1.26 ng/ml	97	41	≤4 oocytes	Diagnostic System Laboratories
Nardo et al. (2008)	165	Prosp	1.0 ng/ml	87	67	≤4 follicles on day 8 of COH	Diagnostic System Laboratories
Jayaprakasan et al. (2008)	135	Prosp	0.99 ng/ml	100	73	<4 oocytes or cancellation	Diagnostic System Laboratories

\*For cycle cancellation identification; <sup>†</sup>percentage of correctly classified poor responder patients; Retro, retrospective study; Prosp, Prospective study.

La sensibilidad y especificidad tuvo una variabilidad de entre el 44 al 97% y del 41 al 100%, respectivamente (Tabla II).

En el estudio publicado sobre la base de una sola medición aleatoria de AMH, se ha calculado una sensibilidad del 80% y una especificidad del 93% para la predicción de la pobre respondedora (La Marca et al., 2007).

La mayoría de los autores compararon AMH con la edad y otros marcadores hormonales (FSH, estradiol y de inhibina B), pero sólo algunos de estos estudios también compararon las concentraciones de AMH con los marcadores ecográficos para la reserva ovárica.

El balance de los estudios publicados parece indicar que la AMH es un mejor marcador para pronosticar la respuesta ovárica a la COS que, la edad de la paciente, la FSH en 3er día, estradiol y la inhibina B.

Casi todos estos estudios encontraron una correlación significativa entre la AMH y el recuento de folículos antrales, pero muy pocos estudios han comparado el rendimiento de los dos marcadores en la predicción del número de ovocitos obtenidos. Sólo Fiçicioglu et al. (2006) y McIlveen et al. (2007) concluyeron que la AMH es mejor que el AFC, mientras que dos estudios encontraron AFC es superior a la AMH (Eldar-Geva et al, 2005;.. Kwee et al, 2007) y cinco estudios informaron un comportamiento similar de los dos marcadores (Van Rooij et al, 2002;. Muttukrishna et al, 2005;. Elgindy et al, 2007;. Lekamge et al, 2007; Jayaprakasan et al, 2008).

Por lo tanto, se puede concluir que la AMH se puede realizar con una potencia similar a la predicción por AFC para el número de ovocitos obtenidos. Esto fue confirmado por un reciente meta-análisis (Broer et al., 2008), donde parece ofrecer al menos el mismo nivel de precisión y valor clínico para el pronóstico de la respuesta ovárica (Broer et al., 2008).

En conclusión, el equilibrio de todos los estudios clínicos sobre la AMH parece sugerir que la medición de AMH, antes de la secreción de gonadotropinas, pueden ser útiles en la predicción de las mujeres en riesgo de una mala respuesta o incluso de una no respuesta a las gonadotropinas.

#### *2.2.7.- Importancia de las concentraciones bajas de AMH antes de la FIV.*

Se puede anticipar una cancelación de ciclo o pronosticar una mala respuesta a un ciclo de inducción ovárica en aquellas pacientes con bajas concentraciones de AMH; donde las parejas tienen que aceptar los programas de tratamiento prolongado y deben ser informadas de que no todos los ciclos puede resultar en la transferencia de embriones, y que es muy probable que las posibilidades de éxito pueden ser reducidas.

Alrededor del 2 al 30% de las mujeres sometidas a ciclos de estimulación ovárica controlada (COS) presentan una mala respuesta (Hendriks et al., 2005) para las que no existe una definición universalmente aceptada.

Numerosos criterios se han utilizado para caracterizar a la pobre respondedora. El número de folículos desarrollados y el número de oocitos recuperados son dos de los criterios más importantes para la definición de una pobre respuesta.

El número propuesto varía entre los diferentes autores, y oscila entre menos de tres a menos de cinco folículos dominantes en el día de disparo de hCG, y de tres a cinco ovocitos recuperados (revisado en Tarlatzis et al., 2003).

Se consideraron igualmente como pacientes pobres respondedoras a quienes se canceló el ciclo debido a una inadecuada respuesta ovárica ante el ciclo de estimulación.

Sea cual sea la definición utilizada, una pobre respondedora es aquella que respondió de forma deficiente y que sin duda tiene menores tasas de embarazos en comparación con aquellas que presentan respuesta normal de la misma edad (El-Toukhy et al, 2002;. Ulug et al, 2003;. Kailasam et al, 2004; Galey-Fontaine et al, 2005; Klinkert et al, 2005; Saldeen et al, 2007).

En el ámbito clínico puede ser útil el pronosticar correctamente la aparición de una mala respuesta ya que esto puede llevar a evitar el tratamiento de la mujer destinada a no responder a COS, contribuyendo así a reducir la tasa de cancelación de ciclos, los costos de tratamiento y el estrés psicológico de la pareja. La previsión de la pobre respondedora puede mejorar la decepción y la angustia.

Un gran número de parámetros clínicos han demostrado su utilidad al predecir la pobre respuesta ovárica ante la estimulación con el empleo de gonadotropinas exógenas. Estos incluyen la edad, la FSH basal así como las concentraciones de inhibina B, recuento de folículos antrales (AFC), volumen ovárico y, más recientemente la AMH (Navot et al, 1987;. Fanchin et al, 1994;. Caprichoso y Gosden, 1996; Lass et al, 1997;. Tomás et al, 1997;. Hall et al, 1999;. Ravhin et al, 2000;. Bancsi et al, 2002;. Broekmans et al, 2006).

El asesoramiento y gestión de este grupo de pacientes es difícil por varias razones. En primer lugar, la precisión de las pruebas de mala respuesta parece ser mejor que para la predicción de embarazo, pero no es totalmente fiable, ya que se puede esperar una tasa de falsos positivos del 10-20%. Esto indica que la medición de AMH, no debe utilizarse para excluir a las parejas de FIV (Broer et al., 2008).

Se han propuesto los valores de cohorte para la AMH de 0,7 - 0,75 ng/ml para la identificación de pobres respondedoras por varios grupos (La Marca et al, 2007; Nelson et al, 2007). Aunque lo más importante es la tasa de nacidos vivos de mujeres con AMH basal <0,7 ng / ml donde se calculó en 15% (Nelson et al., 2007), que puede considerarse muy aceptable para las pacientes en que se previó pobre respuesta.

Por lo tanto, se propuso que sólo las mujeres con un pronóstico muy malo deben ser excluidas de tratamiento. Estas pacientes son las que estarían en riesgo muy alto para la cancelación de ciclo y que, se identificaron por concentraciones séricas de AMH inferiores a 0,1-0,35 ng/ml (Muttukrishna et al, 2004;. Lekamge et al, 2007).

Respecto al tratamiento, aún no está claro si la individualización de la terapia puede mejorar el resultado, donde a pesar de las altas dosis de gonadotropinas administradas a las pobres respondedoras y en aquellas donde se anticipó la pobre respuesta, los resultados reportados en la literatura han sido controversiales.

Estudios publicados han mostrado poco o ningún beneficio (Popovic-Todorovic et al, 2003; Klinkert et al, 2005). Del mismo modo, no está claro qué tipo de análogo de la GnRH, ya sea agonista o antagonista, puede ser el más adecuado para la supresión de la hipófisis en estas pacientes.

En conclusión, concentraciones bajas de AMH puede tener un valor añadido a la edad cronológica sólo en la orientación de las pacientes; persisten las dudas tanto sobre la posible reducción de los costos (excluir a la paciente de una FIV) y la posible mejora de los resultados (como consecuencia de la individualización del tratamiento).

#### *2.2.8.- Importancia de las concentraciones normales de AMH antes de una FIV.*

En las mujeres con concentraciones normales de AMH puede pronosticarse una buena respuesta. En la actualidad, no existen pruebas para modificar la estrategia normal con base en el protocolo estándar largo (Daya, 2000). En los últimos años, los protocolos de estimulación ovárica MINIFIV se han propuesto para éste tipo de pacientes como una alternativa así como para la optimización entre los resultados y riesgos del tratamiento

(Hohmann et al., 2001, 2003; Heijnen et al, 2007; Verberg et al, 2009). Sin embargo, aún faltan más estudios prospectivos para impulsar la aplicación de nuevos regímenes de tratamiento.

### *2.2.9.- Importancia de las altas concentraciones de AMH antes de un FIV.*

El ovario con una hiperrespuesta es, el extremo opuesto de la baja respondedora y en quién podría llevar a una condición donde potencialmente se amenaza la vida, como es el síndrome de hiperestimulación ovárica.

El síndrome de hiperestimulación ovárica se refiere a una respuesta ovárica exagerada al tratamiento con gonadotropinas. El síndrome tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas, desde una enfermedad leve que sólo necesitan una cuidadosa observación hasta aquella en donde se requiere de hospitalización donde en casos graves es una condición potencialmente mortal. Las formas leves y moderadas del síndrome de hiperestimulación ovárica puede ocurrir en el 15 al 20% de todos los ciclos de estimulación ovárica sin embargo, la forma severa de éste síndrome se ha reportado con menor frecuencia del 1 al 3% (Comité de Práctica de la ASRM, 2008).

Los factores de riesgo para el desarrollo del SHO incluyen edad, índice de masa corporal bajo, historia previa de síndrome de hiperestimulación ovárica y de registros de altas concentraciones séricas de estradiol en el día de inducción de ovulación con hCG (Macklon et al, 2006;.. Fauser et al, 2008; Comité de Práctica de la ASRM, 2008 ).

La prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) es la identificación de los factores de riesgo para el síndrome, llevando a una individualización de las dosis de gonadotropinas mínimas necesarias para lograr el objetivo terapéutico. Sin embargo, el pronosticar de manera exacta el síndrome de hiperestimulación ovárica en una paciente previo al ciclo de FIV sigue siendo una tarea difícil.

La identificación de una relación dosis entre la AMH y la respuesta ovárica a la FSH lleva a la hipótesis de que la hiperrespuesta a la inducción de ovulación podría resultar de las altas concentraciones de AMH.

En este contexto la AMH basal elevada puede estar relacionada con un mayor riesgo de desarrollar SHO (Eldar-Geva 2005. Tremellen et al, 2005; Nakhuda et al, 2006;. La Marca et al, 2007; Nelson et al, 2007;. Lee et al, 2008; Nardo et al, 2008).

Tabla III.- Valores de corte para AMH como marcador predictivo en la hiper respuesta en ciclos de estimulación ovárica controlada y el síndrome de hiperestimulación ovárica.

AMH cut-off values for the prediction of hyper-response to COS and OHSS							
Author	n	Study design	Cut-off value	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Prediction of hyper-response	Prediction of OHSS
Kwee <i>et al.</i> (2007)	110	Prosp	5 mcg/l	53	91	√ <sup>a</sup>	
Nelson <i>et al.</i> (2007)	340	Prosp	25 pmol/l	60	94.9	√ <sup>b</sup>	
Lee <i>et al.</i> (2008)	262	Prosp	3.36 ng/ml	90.5	81.3		√
Nardo <i>et al.</i> (2008)	165	Prosp	3.5 ng/ml	88	70	√ <sup>a</sup>	

Prosp: prospective study.

<sup>a</sup>Excessive response if >20 oocytes retrieved.

<sup>b</sup>Excessive response if ≥21 oocytes retrieve.

En conclusión, la medición de AMH antes de la estimulación con gonadotropinas puede proporcionar información útil para orientar a la aplicación de los protocolos de estimulación para el paciente con el fin de evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica. Además, el uso de antagonistas de GnRH permite la activación de la ovulación por medio de agonistas de la GnRH en lugar de hCG y esta práctica ha sido reconocida como útil en la prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica (Olivennes et al, 2002;.. Engmann et al, 2006; Griesinger et al ., 2006; Orvieto et al, 2006;. Kol y Solt, 2008).

#### 2.2.10.- AMH en el pronóstico de la respuesta ovárica cualitativa en ART.

Es muy conocido que el embarazo en la ART se relaciona principalmente con la evaluación cualitativa de los aspectos cuantitativos de la FIV. Como el estado de la reserva ovárica incluye tanto la cantidad como en la calidad del pool de folículos ováricos, la AMH puede reflejar la capacidad de respuesta ovárica no sólo cuantitativa sino también cualitativa. De hecho, varios autores han encontrado una correlación positiva significativa entre los niveles de AMH y la calidad de los ovocitos (Hazout et al, 2004;. Ebner et al, 2006;. Silberstein et al, 2006; Cupisti et al, 2007; Fanchin et al, 2007, Lekamge et al., 2007) y la morfología del embrión (Silberstein y cols., 2006). Sin embargo, esta relación no ha sido confirmada (Smeenk et al, 2007; Lie Fong et al, 2008).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Se ha postulado la relación de la hormona antimulleriana (AMH) con la reserva y la respuesta ovárica así como con el embarazo resultado de una FIV.

La AMH se propone utilizarla como marcador pronóstico en las pacientes que se someten a protocolos de inducción de ovulación. Sin embargo el uso de este marcador en cuanto a su valor predictivo sigue siendo controversial.

Evidencia reciente indica que las concentraciones séricas de AMH han mostrado una mayor sensibilidad para la RO en mujeres mayores de 35 años de edad así como el número de folículos antrales, empleándola como marcador pronóstico en un ciclo de inducción en comparación con los marcadores de FSH, E2 y los niveles de la inhibina B; el uso de estos marcadores en cuanto a su valor predictivo sigue siendo controversial donde, además se requiere de un día menstrual específico para el análisis preciso de algunos de ellos.

Por otra parte, varios investigadores han utilizado el volumen ovárico y recuento de folículos antrales en la predicción de la respuesta ovárica a la estimulación hormonal. Sin embargo, la ecografía es subjetiva, y la interpretación de las observaciones pueden no ser compatibles.

Recientemente, un marcador endócrino nuevo es la hormona antimullerina (AMH), esta ha sido evaluada por varios grupos como marcador de respuesta ovárica, además de ofrecer un mejor valor pronóstico de embarazo clínico que otros marcadores disponibles en la actualidad.

Estudios actuales valoran la correlación de AMH mejor que la edad, la FSH y de inhibina B con respecto al número de ovocitos recuperados en ciclos de reproducción asistida.

Es importante antes de llevar a cabo algún tratamiento de FIV realizar la evaluación de la "reserva ovárica", donde la identificación de las altas o bajas respondedoras antes del ciclo de inducción de ovulación permite optimizar los protocolos de estimulación ovárica, así como la disminución en la tasa de cancelación de ciclo y reducir efectos secundarios tales como el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

Este estudio retrospectivo y descriptivo fué diseñado para investigar si las concentraciones de AMH, FSH y Edad, están asociados con la respuesta del ovario en los ciclos de estimulación ovárica.

#### **4. HIPÓTESIS**

¿ Si la reserva ovárica es valorada a través de la cuantificación de la hormona antimulleriana (AMH), puede ser ésta también utilizada como marcador pronóstico de la respuesta ovárica en la población mexicana, tras el empleo de protocolos de estimulación ?

#### **5. OBJETIVOS**

Conocer la relación entre la hormona antimulleriana (AMH) con respecto a la respuesta ovárica en mujeres sometidas a protocolos de estimulación ovárica, en un programa de Fertilización in Vitro.

##### **5.1. OBJETIVO GENERAL**

Comparar tres marcadores de reserva ovárica (FSH, AMH, AFC) en pacientes bajo protocolo de estimulación ovárica para Fertilización in vitro (FIV).

##### **5.2. OBJETIVOS PARTICULARES**

- 1.- Determinar las concentraciones en suero de hormonas Antimulleriana (AMH) y folículo estimulante (FSH) en pacientes sometidas a protocolo de estimulación ovárica para FIV.
- 2.- Valorar la respuesta ovárica en pacientes bajo protocolo de estimulación ovárica para FIV a través de la determinación en el número de ovocitos capturados.
- 3.- Evaluar la asociación entre FSH, AMH, AFC y Edad con respecto a la respuesta ovárica en pacientes sometidas a protocolo de estimulación ovárica en FIV.

#### **6. MATERIAL Y MÉTODOS**

6.1 El estudio se realizó de manera retrospectiva y decriptiva.

6.2. Ubicación temporal y espacial.

Pacientes inscritas al programa de FIV de la Unidad Reproductiva del Hospital Angeles Pedregal, durante el periodo del 01 de noviembre 2010 al 30 de Junio del 2011.

### 6.3. Criterios de Selección de la Muestra

a) Expedientes de pacientes de entre 20 y 45 años de edad, que acudieron a la Unidad de Medicina Reproductiva del Hospital Angeles Pedregal, inscritas en el programa de Fertilización in Vitro, durante el periodo del 01 de noviembre 2010 al 30 de Junio del 2011.

#### Criterios de Inclusión

- a) Todo expediente de paciente de entre 20 y 45 años de edad,
- b) inscrita al programa de FIV durante el periodo 01 de noviembre 2010 al 30 de Junio del 2011.

### 6.4. Variables

Independientes <b>(CAUSA)</b>		Dependientes. <b>(EFECTO)</b>	
Variable	Escala (intervalo, ordinal, nominal)	Variable	Escala (intervalo, ordinal, nominal)
Edad	Continua	Número de ovocitos capturados	Continua
FSH	Continua		
LH	Continua	Número de ovocitos fecundados	Continua
AMH	Continua		
AFC	Continua		

### 6.5. Tamaño de la Muestra

Estudio retrospectivo, descriptivo de 39 expedientes de mujeres inscritas a protocolo de FIV en la Unidad Reproductiva del Hospital Angeles Pedregal, quienes se sometieron a ciclo de inducción ovárica controlada.

### 6.6. Protocolo de Estimulación ovárica:

Antes de iniciar el tratamiento, se realizó ecografía transvaginal basal, de donde se registró el conteo de folículos antrales (AFC) y se tomaron muestras de sangre para la medición de las concentraciones de las hormonas Folículo Estimulante (FSH), Antimulleriana (AMH), Luteinizante (LH). Todas las pacientes fueron sometidas a un tratamiento de FIV con agonistas de GnRH y el protocolo de estimulación ovárica controlada como se describe:

En resumen, la estimulación ovárica se inició con gonadotropinas exógenas en la forma de la FSH recombinante (Gonal-F, Serono) en el día 3 del ciclo. La dosis diaria inicial se decidió de acuerdo con la edad y los niveles de FSH basal. Un antagonista de la GnRH (Cetrorelix, Serono) 0,25 mg, se administró en inyección subcutánea diaria desde el día 8 del ciclo para la prevención de pico prematuro de LH. El mismo día se realizó un ajuste de dosis de acuerdo con la ecografía transvaginal. Cuando al menos dos o más folículos  $\geq 18$  mm de diámetro fueron observados se administró Triptorelina (Gonapeptyl, Ferring) 200 mg como inductor de ovulación.

Se realizó ecografía transvaginal guiada para la recuperación de oocitos a las 34 horas después de la inyección de Triptorelina. El número de ovocitos recuperados se registró y, se fertilizaron en el laboratorio con espermatozoides de muestra homóloga/heteróloga.

El grupo de estudio se dividió en tres grupos, de acuerdo al número de número de ovocitos recuperados tras el ciclo de inducción ovárica. Grupo I (Hipo respondedora), II (Normo respondedora) y III (Hiper respondedora) por ovocitos capturados de cero a cinco, de seis a diez y seis y, mayor o igual a 17 ovocitos respectivamente.

## 6.7. Métodos de Laboratorio

### 6.7.1.- Procesamiento de las muestras.

Se obtuvieron muestras de sangre venosas de las mujeres en el día 3 de su ciclo menstrual, donde se cuantificaron las concentraciones para FSH y AMH, se tomó alrededor de 5 ml, por punción venosa y se dividieron en dos tubos.

Todas las muestras fueron centrifugadas para separar el suero y almacenado en alícuotas a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Un tubo se utilizó para la FSH, y el otro para la AMH.

La AMH se midió utilizando prueba de ELISA ultrasensible (Bechman-Caulter, Francia), la muestra para medición fue tomada en cualquier día del ciclo, previo a la administración de gonadotropinas. Se utilizó una prueba de inmunoensayo ELISA con sensibilidad de  $0.7\text{ pM}$  ( $1\text{ ng / mL}$ ) y especificidad del  $12.3\%$ .

La determinación cuantitativa de FSH, E2 y LH en suero se realizó a través de ARCHITECT FSH, inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) RIA kit, en donde se tuvo una sensibilidad de la prueba para LH de  $0.07\text{ mU/ml}$ , para Estradiol de  $\leq 10\text{ pg/ml}$  y, sensibilidad para FSH de  $\geq 0.05\text{ mUI/ml}$ , con límite de concentración mínima detectable para E2, FSH y LH de 0.

## 6.8. Análisis Estadístico

Se realizó estadística descriptiva para evaluar las características de la población. El análisis de correlación de respuesta ovárica se realizó con edad, concentraciones de FSH y AMH. Se aplicaron pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov, con pruebas de correlación de Pearson para las variables con distribución normal y de Spearman para las variables de distribución no normal. Se utilizó una prueba ANOVA en rangos para el análisis entre grupos, así como la pruebas de Mann-Whitney, de T, Kruskal-Wallis, tomando como significancia estadística una  $p < 0.05$ .

Todos los cálculos se realizaron usando un software de estadística (SPSS) versión 18.0.

Las pacientes se dividieron en tres grupos de acuerdo al tipo de respuesta ovárica: el grupo I corresponde a las pacientes bajas respondedoras (número de ovocitos  $\leq 5$ ), grupo II corresponde a las pacientes normorespondedoras (número de ovocitos 6 a 15) y, el grupo III que corresponde a las pacientes hiper respondedoras (número de ovocitos  $\geq 16$ ). De las concentraciones séricas de FSH se dividieron en dos grupos Grupo. 0 con FSH  $\leq 10$  IU/L y Grupo 1 con FSH  $\geq 10$  IU/L.

## 7. RESULTADOS Y ANÁLISIS

1.- Se incluyeron 39 expedientes en éste estudio, de las cuales 26 (66.66%) presentaron diagnóstico de Infertilidad primaria y 13 (33.33%) de Infertilidad secundaria. El 56.3% (22/39) presentaron edades mayores de 35<sup>a</sup>., motivo por el que el factor edad se debe considerar en los resultados obtenidos en ésta muestra.

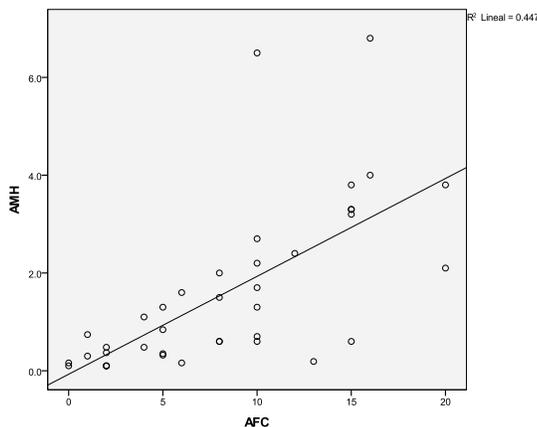
2.- El diagnóstico de Infertilidad por orden de frecuencia fue la Endometriosis en el 28.2% (11/39) , el segundo por Edad con el 20.5% (8/39) y el tercero de Ovarios Poliquísticos con el 12.8% (5/39)., como se observa la Endometriosis al igual que en la población general en nuestra muestra, es una de las primeras causas de Infertilidad.

3.- El análisis de correlación de Spearman estableció una asociación fuerte entre AMH y AFC (coeficiente de correlación 0.766,  $p = 0.01$  ) donde a mayor concentración de AMH existe una mayor cuenta de folículos antrales y viceversa. Ver Tabla 1.

Tabla y Gráfico de Correlación de AMH y AFC

Correlaciones			AMH	AFC
Rho de Spearman	AMH	Coefficiente de correlación	1.000	.766**
		Sig. (bilateral)	.	.000
		N	39	39
AFC	AFC	Coefficiente de correlación	.766**	1.000
		Sig. (bilateral)	.000	.
		N	39	39

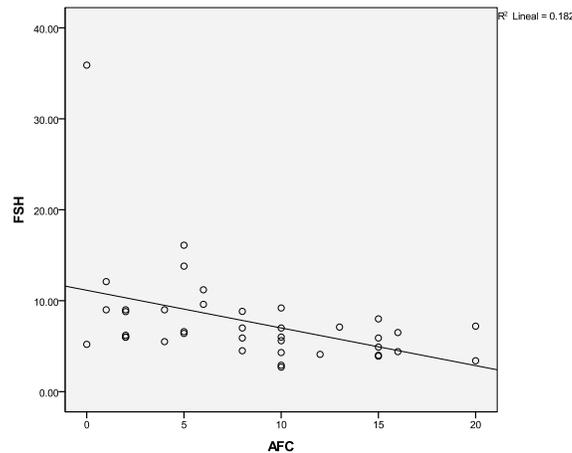
\*\* . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).



4.- Se observó una asociación débil entre AFC y FSH (coeficiente de correlación -0.478,  $p = 0.002$  ), donde a menor conteo de folículos antrales se observó una mayor concentración de FSH.

Tabla y Gráfico de correlación de AFC y FSH

Correlaciones			AFC	FSH
Rho de Spearman	AFC	Coeficiente de correlación	1.000	-.478**
		Sig. (bilateral)	.	.002
		N	39	39
	FSH	Coeficiente de correlación	-.478**	1.000
		Sig. (bilateral)	.002	.
		N	39	39

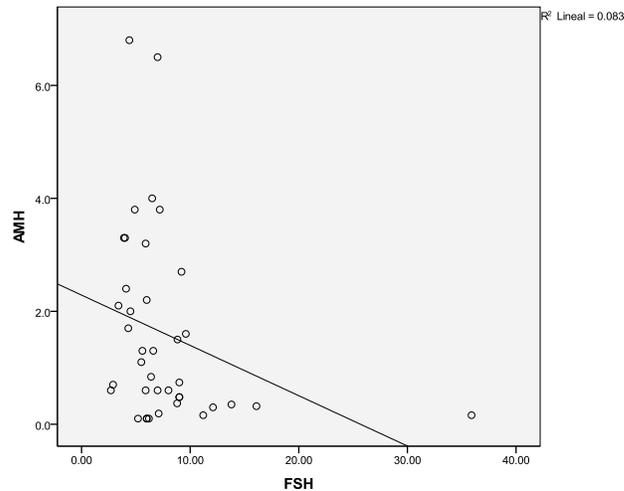


5.- El análisis de correlación estableció una débil asociación entre FSH y AMH (coeficiente de correlación - 0.388,  $p = 0.015$  ). Donde se observó que a mayores concentraciones de AMH existen menores concentraciones de FSH., que es lo esperado para ambos marcadores, en una relación proporcionalmente inversa. Ver Tabla No.

Tabla y Gráfico de correlación de FSH y AMH

Correlaciones			FSH	AMH

Rho de Spearman	FSH	Coefficiente de correlación	1.000	-.388*
		Sig. (bilateral)	.	.015
		N	39	39
AMH	AMH	Coefficiente de correlación	-.388*	1.000
		Sig. (bilateral)	.015	.
		N	39	39



6.- No se encontraron asociaciones significativas entre el factor Edad y AMH, FSH y AFC ( $p = - 0.205$ ,  $p = - 0.080$ ,  $p = - 0.220$  respectivamente ), donde no hubo ninguna relación el factor edad de nuestra población con respecto a las diferentes concentraciones tanto para AMH, FSH y AFC.

Tablas de correlación edad y AMH/FSH/AFC

Correlaciones			Edad	AMH
Rho de Spearman	Edad	Coefficiente de correlación	1.000	-.205
		Sig. (bilateral)	.	.210
		N	39	39
AMH	AMH	Coefficiente de correlación	-.205	1.000
		Sig. (bilateral)	.210	.

**Correlaciones**

			Edad	AMH
Edad	Coeficiente de correlación		1.000	-.205
	Sig. (bilateral)		.	.210
	N		39	39
	Coeficiente de correlación	Edad	-.205	1.000
	Sig. (bilateral)		.210	.
	N		39	39

**Correlaciones**

			Edad	FSH
Rho de Spearman	Edad	Coeficiente de correlación	1.000	-.080
		Sig. (bilateral)	.	.628
		N	39	39
	FSH	Coeficiente de correlación	-.080	1.000
		Sig. (bilateral)	.628	.

**Correlaciones**

			Edad	AFC
Rho de Spearman	Edad	Coeficiente de correlación	1.000	-.220
		Sig. (bilateral)	.	.178
		N	39	39
	AFC	Coeficiente de correlación	-.220	1.000
		Sig. (bilateral)	.178	.
		N	39	39

7.- Se realizaron pruebas no paramétricas para la correlación de igualdad de medias entre grupos, dividiendo a nuestra población en aquellas que registraron en el perfil basal una FSH < 10 IU/L (34 pacientes, 87.17%) y, una FSH >10 IU/L (5 pacientes, 12.8%), observando una media de AMH de 1.8 µg/dL y 0.258 µg/dL respectivamente.  $p = 0.01$ . Lo esperado para ambos grupos, donde la relación es inversamente proporcional de AMH y FSH.

**Estadísticos de grupo**

FSH +/-		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
AMH	0	34	1.800	1.7204	.2951
	1	5	.258	.0912	.0408

8.- Las pacientes fueron divididas en tres grupos de acuerdo al tipo de respuesta obtenida tras el protocolo de estimación ovárica donde, el Grupo I correspondió a las Hiporrespondedoras (10 pacientes, 25.64%), en el Grupo II las Normorrespondedoras (19 pacientes, 48.71%) y el Grupo III con las Hiporrespondedoras (10 pacientes, 25.64%)

9.- Con el fin de identificar un punto de cohorte en la concentración de AMH entre bajas y normo e hiper respondedores, se promediaron los valores de concentraciones séricas de AMH de las bajas respondedoras y de las normo junto con las hiper respondedoras, obteniéndose valores promedio de  $0.355 \pm 0.33 \mu\text{g/dL}$ , para hiperrespondedoras  $3.10 \pm 1.86 \mu\text{g/dL}$  y normorrespondedoras  $1.46 \pm 1.43 \mu\text{g/dL}$ . Teniendo en cuenta la desviación estándar de los dos grupos se determinó el punto de cohorte de  $0.9 \mu\text{g/dL}$  de AMH. Al categorizar la población del estudio de acuerdo al punto de cohorte establecido para la concentración sérica de  $\text{AMH} \leq 0.8 \mu\text{g/dL}$  o  $\geq 0.9 \mu\text{g/dL}$ , y comparar los dos grupos contra el número de ovocitos capturados, se encontró diferencia estadística significativa (prueba T,  $p = 0.01$ ).

**Estadísticos de grupo**

Tipo de respuesta		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
AMH	Normorrespondedoras	19	1.466	1.4367	.3296
	Hiporrespondedoras	10	.355	.3367	.1065

**Prueba de muestras independientes**

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para			
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia

AMH	Se han asumido varianzas iguales	3.905	.058	2.391	27	.024
	No se han asumido varianzas iguales			3.207	21.485	.004

#### Estadísticos de grupo

Tipo de respuesta		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
AMH	Normorrespondedoras	19	1.466	1.4367	.3296
	Hiperrespondedoras	10	3.109	1.8645	.5896

#### Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias				
		F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia
H	Se han asumido varianzas iguales	.626	.436	-2.642	27	.014	-1.6432	
	No se han asumido varianzas iguales			-2.433	14.782	.028	-1.6432	

Los resultados para FSH fueron divididos en dos grupos de acuerdo a las concentraciones en  $< 10$  IU/L (34 pacientes, 87.2 %) y  $> 10$  IU/L ( 5 pacientes, 12.8 % ). Se dividieron igualmente en grupos de acuerdo al tipo de respuesta ovárica, el grupo I corresponde a las pacientes bajas respondedoras (número de ovocitos  $\leq 5$ ,  $n=10$ , 25.6 %), grupo II corresponde a las pacientes normorespondedoras (número de ovocitos 6 a 15,  $n=20$ , 51.2%) y el grupo III que corresponde a las pacientes hiper respondedoras (número de ovocitos  $\geq 16$ ,  $n=9$ , 23%). Las pacientes hipo, normo e hiper respondedoras presentaron concentraciones promedio de AMH de  $0.355 \pm 0.33$   $\mu\text{g/dL}$ ,  $1.46 \pm 1.43$   $\mu\text{g/dL}$ ,  $3.10 \pm 1.86$   $\mu\text{g/dL}$ , respectivamente.

De igual forma se observaron concentraciones de FSH de  $8.9 \pm 4.1$  IU/L,  $6.1 \pm 2.1$  IU/L,  $5.3 \pm 1.3$  IU/L en los tres grupos y edades de  $38.3 \pm 5.1$  años,  $34.0 \pm 6.5$  años,  $36.2 \pm 4.1$  años, respectivamente. La prueba de Kruskal-Wallis estableció diferencias

estadísticamente significativas entre los grupos de respondedoras por concentraciones de AMH ( $p = 0.000$ ), no siendo el caso para los otros dos marcadores, FSH ( $p = 0.140$ ) y edad ( $p = 0.189$ ).

## 8. DISCUSIÓN

Este estudio retrospectivo se llevó a cabo para evaluar la utilidad de la hormona antimulleriana como marcador predictivo de la respuesta ovárica en mujeres sometidas a protocolo de inducción ovárica en FIV. La población estudiada, es la primera serie en México que evalúa la respuesta a la inducción de la ovulación con AMH como marcador.

En la actualidad, la mayoría de los médicos determinan la dosis inicial de gonadotropinas en el primer ciclo de FIV basado principalmente en la edad y las concentraciones de FSH basal. Nuestro estudio sugiere que la AMH y el AFC son los mejores predictores de respuesta ovárica en comparación con la edad y la FSH basal.

El Análisis de correlación muestra una asociación significativa entre la AMH, AFC, y la FSH y el número de ovocitos capturados. De acuerdo con un estudio reciente, la AMH se correlaciona mejor que la edad, FSH, LH, E2 e Inhibina B con el número de oocitos recuperados (La Marca 2007). Nuestro análisis confirma que la AMH y la FSH basal muestran una relación negativa.

Nuestros resultados demuestran una fuerte asociación entre AMH y AFC con respecto al número de oocitos capturados de los folículos antrales.

Por lo tanto, las concentraciones séricas de AMH basales pueden reflejar el pool de folículos antrales y proporcionar así un marcador asociado con el número de ovocitos que pueden ser obtenidos tras la hiperestimulación ovárica controlada (COH). Además, nuestros resultados están de acuerdo con los de los estudios anteriores.

Se observó que las concentraciones de AMH y la AFC fueron significativamente menores en las Hiporrespondedoras que en las mujeres normorrespondedoras

La utilidad de la AMH en la identificación de las pacientes Hiporrespondedoras fué muy similar al del AFC. Sabemos que la evaluación sonográfica, tiene variantes intra e interobservador, las cuales se omitieron en esta población ya que los ultrasonidos fueron realizados por un sólo Médico con experiencia en ultrasonido. Las concentraciones de AMH fueron obtenidas por mediciones objetivas realizándose en el laboratorio, por lo que quedaron libres de la variabilidad del interobservador.

Una de las más atractivas ventajas de la AMH es que sus concentraciones han demostrado ser estables bajo diversas influencias tales como la anticoncepción hormonal, la administración de agonistas de GnRH, el embarazo, y el ciclo menstrual. Por lo tanto, las mediciones se pueden hacer en cualquier momento durante el ciclo menstrual. En nuestras pacientes, la determinación de AMH se realizó sin la influencia de algún tipo de

medicamento.

La reserva ovárica en pacientes de FIV es útil para la optimización del protocolo de estimulación para una buena respuesta. Sin embargo, sigue siendo un desafío identificar a las mujeres jóvenes, con normalidad de ciclos ovulatorios, pero con baja reserva ovárica.

Algunos estudios han demostrado que las concentraciones séricas de AMH pueden predecir el número de ovocitos capturados pero no puede predecir la probabilidad de embarazo.

## **9. CONCLUSIONES**

Existen muchas ventajas de la utilización de la AMH sérica con respecto a otros marcadores séricos de reserva ovárica. En primer lugar, las concentraciones séricas de AMH comienzan a declinar antes que la FSH sérica.

En segundo lugar, la AMH se puede medir en cualquier momento del ciclo, en contraste con los otros marcadores, que sólo se pueden determinar en la fase folicular temprana. Por último, a diferencia del conteo de folículos antrales (AFC), la AMH no depende del observador, lo que resulta en menos variabilidad.

En este estudio se encontró que se puede predecir la respuesta ovárica mediante el conteo de folículos antrales por ultrasonido (AFC) o la cuantificación de AMH y FSH basal.

De los tres marcadores de reserva ovárica analizados, la AMH presentó una asociación con la respuesta ovárica en cuanto al número de ovocitos capturados y fecundados.

Se observó diferencia entre las pacientes bajas, normo e hiper-respondedoras de acuerdo a las concentraciones en suero de AMH.

Se determinó como punto de cohorte para las concentraciones en suero de AMH en nuestra población, el valor de 0.9 µg/dL asociado a una mayor respuesta ovárica.

## **10. PERSPECTIVAS**

Estudios como éste han indicado que la AMH puede constituir una nueva medida importante de la reserva ovárica (Van Rooij et al, 2004; Van Rooij et al, 2005; La Marca et al, 2005a, b;. Robertson et al, 2008;. Shin et al, 2008;. Van Disseldorp et al, 2008).

Para las mujeres que desean quedar embarazadas por medio de técnicas de reproducción asistida, es importante ofrecer un asesoramiento sobre el equilibrio óptimo entre los beneficios y riesgos. Dado que estos resultados son altamente dependientes de la reserva ovárica, se propone el empleo de la AMH como un marcador clínico de la reserva ovárica en relación con el pronóstico individual para el éxito y el diseño de protocolos adecuados de estimulación.

## BIBLIOGRAFÍA

Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. **Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception.** Cochrane Database Syst Rev 2006;3:CD001750.

Al-Qahtani A, Muttukrishna S, Appasamy M, Johns J, Cranfield M, Visser JA, Themmen AP, Groome NP. **Development of a sensitive enzyme immunoassay for anti-Müllerian hormone and the evaluation of potential clinical applications in males and females.** Clin Endocrinol (Oxf) 2005;63:267-273.

Andersen CY, Byskov AG. **Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid.** J Clin Endocrinol Metab 2006;91:4064-4069.

Arbo E, Vetori DV, Jimenez MF, Freitas FM, Lemos N, Cunha-Filho JS. **Serum anti-Mullerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills.** Hum Reprod 2007;22:3192-3196.

Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, Grootegoed JA. **Anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle and gonadotropin-induced follicle growth.** Endocrinology 1995;136:4951-4962.

Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. **Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve.** Fertil Steril 2002;77:328-336.

Behringer RR, Cate RL, Froelick GJ, Palmiter RD, Brinster RL. **Abnormal sexual development in transgenic mice chronically expressing müllerian inhibiting substance.** Nature 1990;345:167-170.

Bersinger NA, Wunder D, Birkhäuser MH, Guibourdenche J. **Measurement of anti-Mullerian hormone by Beckman Coulter ELISA and DSL ELISA in assisted reproduction: differences between serum and follicular fluid.** Clin Chim Acta 2007;384:174-175.

Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. **A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome.** Hum Reprod Update 2006;12:685-718.

Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. **The role of anti-Mullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count.** Fertil Steril 2008.

Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen AP, Hovatta O. **Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro.** Hum Reprod 2006;21:2223-2227.

Carlsen SM, Vanky E, Fleming R. **Anti-Müllerian hormone concentrations in androgen-suppressed women with polycystic ovary syndrome.** Hum Reprod 2009;24:1732-1738.

Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. **Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women.** Fertil Steril 2002;77:141-146.

Cupisti S, Dittrich R, Mueller A, Strick R, Stiegler E, Binder H, Beckmann MW, Strissel P. **Correlations between anti-Müllerian hormone, inhibin B, and activin A in follicular fluid in IVF/ICSI patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes.** Eur J Med Res 2007;12:604-608.

di Clemente N, Josso N, Gouédard L, Belville C. **Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads.** Mol Cell Endocrinol 2003;211:9-14.

Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. **Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles.** Hum Reprod 2006;21:2022-2026.

Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, Rabinowitz R, Markowitz E, Mimoni T, Gal M, Zylber-Haran E, Margalioth EJ. **Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome.** Hum Reprod 2005;20:3178-3183.

Elgindy EA, El-Haieg DO, El-Sebaey A. **Anti-Müllerian hormone: correlation of early follicular, ovulatory and midluteal levels with ovarian response and cycle outcome in intracytoplasmic sperm injection patients.** Fertil Steril 2008;89:1670-1676.

El-Halawaty S, Rizk A, Kamal M, Aboulhassan M, Al-Sawah H, Noah O, Al-Inany H. **Clinical significance of serum concentration of anti-Müllerian hormone in obese women with polycystic ovary syndrome.** *Reprod Biomed Online* 2007;15:495-499.

Fallat ME, Siow Y, Marra M, Cook C, Carrillo A. **Mullerian-inhibiting substance in follicular fluid and serum: a comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis.** *Fertil Steril* 1997;67:962-965.

Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. **Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable screening test for detecting 'poor responders' in in-vitro fertilization.** *Hum Reprod* 1994;9:1607-1611.

Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. **Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3.** *Hum Reprod* 2003b;18:323-327.

Fanchin R, Louafi N, Méndez Lozano DH, Frydman N, Frydman R, Taieb J. **Per-follicle measurements indicate that anti-müllerian hormone secretion is modulated by the extent of follicular development and luteinization and may reflect qualitatively the ovarian follicular status.** *Fertil Steril* 2005a;84:167-173.

Fanchin R, Mendez Lozano DH, Frydman N, Gougeon A, di Clemente N, Frydman R, Taieb J. **Anti-Müllerian hormone concentrations in the follicular fluid of the preovulatory follicle are predictive of the implantation potential of the ensuing embryo obtained by in vitro fertilization.** *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1796-1802.

Fausser BC, Diedrich K, Devroey P. **Predictors of ovarian response: progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation.** *Hum Reprod Update* 2008;14:1-14.

Fiçicioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakacak Z. **Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve.** *Fertil Steril* 2006;85:592-596.

Freeman EW, Gracia CR, Sammel MD, Lin H, Lim LC, Strauss JF 3rd. **Association of anti-mullerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women.** *Fertil Steril* 2007;87:101-106.

Fréour T, Mirallié S, Bach-Ngohou K, Denis M, Barrière P, Masson D. **Measurement of serum anti-Müllerian hormone by Beckman Coulter ELISA and DSL ELISA: comparison and relevance in assisted reproduction technology (ART).** *Clin Chim Acta* 2007;375:162-164.

Galey-Fontaine J, Cédric-Durnerin I, Chaïbi R, Massin N, Hugues JN. **Age and ovarian reserve are distinct predictive factors of cycle outcome in low responders.** *Reprod Biomed Online* 2005;10:94-99.

Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. **Relevance of anti-Müllerian hormone measurement in a routine IVF program.** Hum Reprod 2008;23:1359-1365.

Goulis DG, Tsametis C, Iliadou PK, Polychronou P, Kantartzi PD, Tarlatzis BC, Bontis IN, Papadimas I. **Serum inhibin B and anti-Müllerian hormone are not superior to follicle-stimulating hormone as predictors of the presence of sperm in testicular fine-needle aspiration in men with azoospermia.** Fertil Steril 2009;91:1279-1284.

Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. **GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis.** Hum Reprod Update 2006;12:159-168.

Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. **Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation.** J Clin Endocrinol Metab 2006;91:4057-4063.

Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. **Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level.** Fertil Steril 2005;83:291-301.

Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. **A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation.** Fertil Steril 2008. [Epub ahead of print].

Jee BC, Ku SY, Suh CS, Kim KC, Lee WD, Kim SH. **Serum anti-Müllerian hormone and inhibin B levels at ovulation triggering day can predict the number of immature oocytes retrieved in in vitro fertilization cycles.** J Korean Med Sci 2008;23:657-661.

Josso N, di Clemente N, Gouedard L. **Anti-Müllerian hormone and its receptors.** Mol Cell Endocrinol 2001;179:25-32.

Kailasam C, Keay SD, Wilson P, Ford WC, Jenkins JM. **Defining poor ovarian response during IVF cycles, in women aged <40 years, and its relationship with treatment outcome.** Hum Reprod 2004;19:1544-1547.

Klinkert ER, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. **Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial.** Hum Reprod 2005;20:611-615.

Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, Ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, Laven JS, Goverde AJ, Broekmans FJ, Themmen AP, et al. **Anti Müllerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with varying degrees of hypergonadotropic ovarian failure.** J Clin Endocrinol Metab 2008.

Kol S, Solt I. **GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in patients at risk of ovarian hyperstimulation syndrome: still a controversy?** J Assist Reprod Genet 2008;25:63-66.

Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. **Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve.** Fertil Steril 2007. [Epub ahead of print].

La Marca A, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, Volpe A. **Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation.** Hum Reprod 2004a;19:2738-2741.

La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. **Müllerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics.** Fertil Steril 2004b;82:970-972.

La Marca A, De Leo V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L, Volpe A. **Anti-Müllerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause.** J Soc Gynecol Investig 2005a;12:545-548.

La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. **Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy.** Hum Reprod 2005b;20:1569-1572.

La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. **Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle.** Hum Reprod 2006a;21:3103-3107.

La Marca A, Pati M, Orvieto R, Stabile G, Carducci Artenisio A, Volpe A. **Serum Anti-Müllerian Hormone levels in women with secondary amenorrhea.** Fertil Steril 2006b;85:1547-1549.

La Marca A, Volpe A. **Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool?** Clin Endocrinol (Oxf) 2006c;64:603-610.

La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, Volpe A. **Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology.** Hum Reprod 2007;22:766-771.

La Marca A, Marzotti S, Brozzetti A, Stabile G, Carducci Artenisio A, Bini V, Giordano R, De Bellis A, Volpe A, Falorni A; on behalf of the Italian Addison Network. **Primary ovarian insufficiency due to steroidogenic cell autoimmunity is associated with a preserved pool of functioning follicles.** J Clin Endocrinol Metab 2009a. [Epub ahead of print].

La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS; **ESHRE Special Interest Group for Reproductive Endocrinology–AMH Round Table. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know?** Hum Reprod 2009b;24:2264-2275.

Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. **Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response.** Hum Reprod 1997;12:294-297.

Lee MM, Donahoe PK. **Müllerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions.** Endocr Rev 1993;14:152-164.

Lee TH, Liu CH, Huang CC, Wu YL, Shih YT, Ho HN, Yang YS, Lee MS. **Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles.** Hum Reprod 2008;23:160-167.

Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP. **Anti-Müllerian hormone as a predictor of IVF outcome.** Reprod Biomed Online 2007;14:602-610.

Lie Fong S, Baart EB, Martini E, Schipper I, Visser JA, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BJ, Laven JS. **Anti-Müllerian hormone: a marker for oocyte quantity, oocyte quality and embryo quality?** Reprod Biomed Online 2008;16:664-670.

Loutradis D, Vomvolaki E, Drakakis P. **Poor responder protocols for in-vitro fertilization: options and results.** Curr Opin Obstet Gynecol 2008;20:374-378.

McIlveen M, Skull JD, Ledger WL. **Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population.** Hum Reprod 2007;22:778-785.

Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Norman RJ. **The use of anti-mullerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome.** J Clin Endocrinol Metab 2007;92:3796-3802.

Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. **Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients?** BJOG 2004;111:1248-1253.

Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. **Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology?** BJOG 2005;112:1384-1390.

Nakhuda GS, Chu MC, Wang JG, Sauer MV, Lobo RA. **Elevated serum müllerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization.** Fertil Steril 2006;85:1541-1543.

Nakhuda GS, Sauer MV, Wang JG, Ferin M, Lobo RA. **Müllerian inhibiting substance is an accurate marker of ovarian response in women of advanced reproductive age undergoing IVF.** *Reprod Biomed Online* 2007;14:450-454.

Nardo LG, Christodoulou D, Gould D, Roberts SA, Fitzgerald CT, Laing I. **Anti-Müllerian hormone levels and antral follicle count in women enrolled in in vitro fertilization cycles: Relationship to lifestyle factors, chronological age and reproductive history.** *Gynecol Endocrinol* 2007;24:1-8.

Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P, Laing I. **Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization.** *Fertil Steril* 2008. [Epub ahead of print].

Nelson SM, Yates RW, Fleming R. **Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles—implications for individualization of therapy.** *Hum Reprod* 2007;22:2414-2421.

Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, Mitchell P, Ambrose P, Fleming R. **Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception.** *Hum Reprod* 2009.

Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. **Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition.** *Reproduction* 2007;134:209-221.

Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. **Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries.** *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:240-245.

Peñarrubia J, Fábregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, Carmona F, Vanrell JA, Balasch J. **Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist—gonadotropin treatment.** *Hum Reprod* 2005;20:915-922.

Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. **Serum Anti-Müllerian Hormone as a Surrogate for Antral Follicle Count for Definition of the Polycystic Ovary Syndrome.** *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:941-945.

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. **Ovarian hyperstimulation syndrome.** *Fertil Steril* 2008;90:S188-S193.

Saldeen P, Källen K, Sundström P. **The probability of successful IVF outcome after poor ovarian response.** *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007;86:457-461.

Seifer DB, Maclaughlin DT. **Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance.** Fertil Steril 2007;88:539-546.

Seifer DB, Golub ET, Lambert-Messerlian G, Benning L, Anastos K, Watts DH, Cohen MH, Karim R, Young MA, Minkoff H, et al. **Variations in serum müllerian inhibiting substance between white, black, and Hispanic women.** Fertil Steril 2008.

Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. **Anti-Mullerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome.** Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2007;134:196-201.

Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. **Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids.** Fertil Steril 2008;90:395-400.

Streuli I, Fraise T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof P, de Ziegler D. **Clinical uses of anti-Müllerian hormone assays: pitfalls and promises.** Fertil Steril 2009;91:226-230.

Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. **Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review.** Hum Reprod Update 2003;9:61-76.

Thomson RL, Buckley JD, Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Norman RJ, Brinkworth GD. **The effect of weight loss on anti-Müllerian hormone levels in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome and reproductive impairment.** Hum Reprod 2009;24:1976-1981.

Tremellen KP, Kolo M, Gilmore A, Lekamge DN. **Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve.** Aust N Z J Obstet Gynaecol 2005;45:20-24. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. **Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women.** Hum Reprod 2007;22:1837-1840.

Ulug U, Ben-Shlomo I, Turan E, Erden HF, Akman MA, Bahceci M. **Conception rates following assisted reproduction in poor responder patients: a retrospective study in 300 consecutive cycles.** Reprod Biomed Online 2003;6:439-443.

Van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT, Broekmans FJ. **Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause.** J Clin Endocrinol Metab 2008;93:2129-2134.

Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, Jong FH, Themmen AP. **Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve.** Hum Reprod 2002;17:3065-3071.

Van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, Themmen AP, te Velde ER. Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11:601-606.

Van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, Fauser BJ, Themmen AP, te Velde ER. **Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study.** *Fertil Steril* 2005;83:979-987.

Visser JA, Themmen AP. **Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis.** *Mol Cell Endocrinol* 2005;234:81-86.

Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhäuser MH. **Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women.** *Fertil Steril* 2008;89:927-933.