



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**“CORRELACIÓN CLÍNICA – BIOQUÍMICA DE LAS
CONCENTRACIONES DE
HORMONA ANTIMULLERIANA CUANTIFICADA MEDIANTE
EUROINMUN EN EL INSTITUTO NACIONAL DE
PERINATOLOGIA”**

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

**PRESENTA:
DRA. YESENIA RECIO LÓPEZ**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACIÓN
DRA. PATRICIA AGUAYO GONZÁLEZ**

**DIRECTOR DE TESIS
DRA. NAYELI MARTÍNEZ CRUZ**



CIUDAD DE MÉXICO 2018



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).

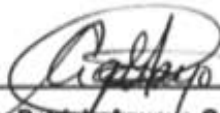
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

AUTORIZACIÓN DE TESIS

“Evaluar la correlación clínico-bioquímica de las concentraciones séricas de AMH medida mediante ELISA/EUROINMUN en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes”



Dra. Viridiana Gorbea Chávez
Directora de Educación en Ciencias de la Salud
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes



Dra. Patricia Aguayo-González.
Profesor de Titular del curso de Especialización en Biología de la
Reproducción Humana
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes



Dra. Nayeli Martínez Cruz
Directora de Tesis
Coordinación de endocrinología
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

INDICE

1	Resumen	1
2	Abstract	2
3	Introducción	3
4	Planteamiento del Problema	9
5	Justificación	10
6	Objetivos	10
7	Material y Métodos	10
8	Resultados	11
9	Discusión	18
10	Conclusión	20
11	Bibliografía	21

RESUMEN

Objetivo: Correlacionar clínica–bioquímica de la AMH cuantificada mediante ELISA / EUROINMUN en el Instituto Nacional de Perinatología. Así como la correlación entre FSH y estradiol con AMH; correlación de insuficiencia ovárica primaria con AMH y el diagnóstico de SOP con los valores de AMH esta última siempre medida por ELISA/EUROIMMUN.

Material y métodos: Estudio observacional, transversal, en 127 mujeres que se les realizó determinación de AMH en nuestro Instituto. Coeficiente de correlación de Pearson para variables cuantitativas, ANOVA con corrección de Bonferroni para diferencias en las variables y un análisis de regresión logística para el efecto de las concentraciones de FSH, estradiol y AMH en la probabilidad de tener síndrome de ovario poliquístico o insuficiencia ovárica primaria.

Resultados: Se incluyeron 127 mujeres, con correlación negativa de AMH versus FSH ($r = -0.302$, $p = 0.001$). Las mujeres con SOP presentaron concentraciones más altas de AMH (9.4 ± 3.8 ng/mL) comparado con IOP (1.4 ± 1.6 ng/mL) y con otros factores de infertilidad (2.4 ± 2.5 ng/mL). La AMH mostró mayor capacidad para predecir SOP (coeficiente B 1.018, OR: 2.676, $p = 0.001$), y en IOP la FSH fue mejor predictor (coeficiente B 0.279, OR: 1.32, $p = 0.000$).

Conclusión: Entre mayor es la FSH menor es el nivel de AMH, en mujeres con SOP se observaron mayores niveles de AMH lo cual correlaciona con lo descrito en la literatura. Respecto a IOP fue mejor marcador la FSH.

Palabras clave: Hormona antimulleriana, Hormona Folículo estimulante, Síndrome de Ovario poliquístico, Insuficiencia ovárica prematura.

ABSTRACT

Objective: To correlate clinical-biochemistry of AMH quantified by ELISA / EUROINMUN at the National Institute of Perinatology. As well as the correlation between FSH and estradiol with AMH; Correlation of primary ovarian failure with AMH and diagnosis of PCOS with AMH values, the latter always measured by ELISA / EUROIMMUN.

MATERIAL AND METHODS: Transversal and observational study, were included 127 women who were assessed for AMH in our Institute. Pearson's correlation coefficient for quantitative variables, ANOVA with Bonferroni correction for differences between variables and a logistic regression analysis for the effect of FSH, estradiol and AMH concentrations on the probability of having polycystic ovarian syndrome or primary ovarian failure .

Results: We included 127 women, with a negative correlation between AMH and FSH ($r = -0.302$, $p = 0.001$). Women with PCOS had higher concentrations of AMH (9.4 ± 3.8 ng / mL) compared to IOP (1.4 ± 1.6 ng / mL) and other infertility factors (2.4 ± 2.5 ng / mL). The AMH showed a greater capacity to predict PCOS (coefficient B 1.018, OR: 2.676, $p = 0.001$), and in IOP FSH was a better predictor (coefficient B 0.279, OR: 1.32, $p = 0.000$).

Conclusion: The higher the FSH the lower the level of AMH, the higher levels of AMH were observed in women with PCOS, which correlates with that described in the literature. IOP was the best marker for FSH.

Key words: Antimullerian Hormone, Follicle Stimulating Hormone, Polycystic Ovary Syndrome, Premature ovarian failure.

INTRODUCCIÓN

Estructura y función de la Hormona Antimülleriana y su receptor

La hormona antimülleriana (AMH) es una glicoproteína dimérica miembro de la superfamilia de ligandos TGF- β , los que constituyen un grupo de factores de crecimiento involucrados en numerosos procesos fisiológicos durante el desarrollo embrionario y postnatal, incluyendo la migración, diferenciación, proliferación y apoptosis celular. En relación a sus características estructurales, esta superfamilia se clasifica en diferentes subfamilias dentro de las cuales se encuentran: factores de crecimiento transformante beta (TGFs- β), proteínas morfogénicas del hueso (BMPs), factores de crecimiento y diferenciación (GDFs), activinas/inhibinas, factores neurotróficos derivados de la glía (GDNFs), sustancia inhibitoria mülleriana (MIS), entre otros. Los ligandos de esta superfamilia son moléculas homo o heterodiméricas que con excepción de los GDNFs e inhibina, interactúan con receptores de la membrana celular con actividad de cinasa de serina y treonina que desencadenan procesos de fosforilación de factores intracitoplasmáticos denominados Smads, que participan en la traducción de señales al interior del núcleo y en la activación de la transcripción de genes específicos. Existe una considerable comunicación cruzada entre estos receptores y sus ligandos, lo que refleja a su vez, la complejidad de este sistema biológico. (17)

La AMH es sintetizada como un gran precursor de 560 aminoácidos, con una secuencia de señal corta de 18 aminoácidos, seguida de la prehormona que forma homodímeros. Antes de su secreción, la hormona madura es glicosilada y dimerizada para dar un dímero de 144 kDa compuesto por dos subunidades idénticas monoméricas de 72kDa, ligadas por puentes disulfuro. Cada monómero contiene 1 dominio N-terminal (también llamado región "pro") y un dominio C-terminal (también llamado región "madura"). (2)

El ADNc del receptor de AMH primario o tipo II (AMHR-II), Se localiza en el cromosoma 12 y está constituido 11 exones repartidos en más de 8 kbp. Los tres

primeros exones codifican para el dominio extracelular, el cuarto para el dominio transmembrana, y los últimos siete exones para el dominio kinasa intracelular.

El gen de AMH se localiza en el cromosoma 19p13.3, mientras que el gen de AMH-RII en el cromosoma 12. El mensajero del AMHR-II se expresa de forma específica por los órganos diana de la AMH, como los conductos de Müller y las gónadas de ambos sexos. Los estudios de hibridación in situ han demostrado que, en los conductos de Müller, el ARNm del AMHR-II se expresa en las células mesénquimales que rodean el epitelio, siguiendo un gradiente cráneo-caudal, y desaparece en el varón tras la regresión de los conductos de Müller. En el ovario, el AMHR-II se expresa desde la vida fetal hasta la etapa adulta en las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales. ⁽¹⁾

En el varón es producida por las células de Sertoli y durante la etapa de diferenciación sexual su principal función es inducir la regresión de los conductos de Müller (útero, trompas y tercio superior de vagina) en los individuos 46 XY, mientras que en la mujer es sintetizada por las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales que tiene como función regular el desarrollo folicular en etapas tempranas. ⁽²⁾

AMH en la fisiología ovárica.

En los ovarios de fetos femeninos, la expresión de AMH se ha observado desde la semana 32 de gestación, principalmente en las células de la granulosa de los folículos antrales y preantrales durante la fase independiente de gonadotropinas y regula el crecimiento del folículo mediante la inhibición de la sensibilidad a la hormona folículo estimulante (FSH) y mediante la regulación negativa del proceso de aromatización de las células de la granulosa hasta el momento de la selección folicular. Cuando el folículo madura y alcanza un diámetro de alrededor de 6 a 8 mm entra en la fase de crecimiento dependiente de FSH, dando como resultado la selección del folículo dominante y la ovulación, por lo que debe existir un fino equilibrio entre las concentraciones de estradiol e inhibina producido por el folículo preovulatorio y la secreción de FSH por la hipófisis para asegurar que la ovulación se desencadene en el momento adecuado.

Por lo tanto, los niveles séricos de AMH están directamente relacionados con el contenido de folículos primordiales y es por este motivo q se mantienen sus concentraciones constantes a lo largo de la vida reproductiva de la mujer para posteriormente empezar a disminuir gradualmente a lo largo del proceso de senescencia ovárica.^(1,2,3)

A través del ciclo menstrual, la concentración de AMH parece mantenerse relativamente estable, sin embargo se observa un ligero aumento durante la fase folicular del ciclo menstrual y condiciones como el uso de anticonceptivos orales o el embarazo pueden causar una ligera disminución en los niveles sericos.^(4,5)

AMH en la evaluación de la función ovárica en la práctica clínica

En la práctica clínica se ha utilizado la medición de las concentraciones AMH para predecir el momento de la menopausia por su papel en el proceso de envejecimiento ovárico, como un factor de evaluación de aspectos cuantitativos de la reserva ovárica en mujeres que serán sometidas a procedimientos de reproducción asistida o que reciben fármacos gonadotóxicos o son sometidas a cirugías ováricas extensas que pueden afectar la reserva folicular y como marcador clínico de algunas patologías clínicas como el síndrome de ovario poliquístico (SOP) y la insuficiencia ovárica primaria (IOP). Aunque existen otras diferentes formas para evaluar la reserva ovárica como el conteo de folículos antrales (AFC), la medición de FSH, inhibina y estradiol en fase folicular temprana, la utilización de pruebas dinámicas, entre otras, se ha preferido en los últimos años la utilización de AMH debido a que las variaciones en un ciclo menstrual normal son mínimas, por lo tanto, su medición en cualquier momento del ciclo es válido para estudiar la actividad ovárica, a diferencia de la medición de FSH que debe realizarse en fase folicular temprana, respecto al conteo de folículos antrales los resultados no se someten a la variación interobservador ya que pueden ser operador dependiente.(6)

Evaluación en el síndrome de ovario poliquístico.

El síndrome de ovario poliquístico se caracteriza por un fracaso en la selección de la dominancia folicular que conduce a un acumulo de folículos antrales. Es

un trastorno endocrino complejo con tres signos y síntomas principales que son irregularidades menstruales como oligomenorrea/amenorrea, hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico y evidencia ultrasonográfica de ovarios morfológicamente poliquísticos. Es una enfermedad multifactorial en la que se combina la predisposición genética con la influencia ambiental. Las mujeres con SOP tienen alto riesgo de comorbilidades metabólicas como resistencia a la insulina, síndrome metabólico, DM 2 así como de enfermedades cardiovasculares e infertilidad.(3)

Se ha observado que los niveles séricos de AMH en mujeres con SOP se encuentran 2 a 3 veces más altos que en mujeres sanas de la misma edad y esto se correlaciona con la hipernadrogenemia y con el incremento en el número de folículos observados en estas mujeres. Este aumento de AMH se debe a alteraciones en la foliculogénesis, lo que resulta en la acumulación de folículos preantrales y antrales pequeños. El cese del desarrollo de folículos antrales hacia el folículo dominante se debería a la supresión de la actividad de la aromatoasa por la AMH y por una disminución en la sensibilidad del folículo a la FSH. La concentración sérica de AMH se relaciona con el fenotipo de SOP y la severidad de los síntomas. Así la medida más alta se observa en el fenotipo A y las pacientes con SOP y oligovulación tienen menores niveles de AMH comparados con aquellos que presentan SOP y anovulación. Además, la presencia de hiperandrogenismo en SOP hace que los niveles de AMH se incrementen aún más versus las pacientes con SOP sin hiperandrogenismo. (6)

Evaluación de la reserva ovárica.

En abril de 2008 ESHRE organizó una reunión titulada "Reserva ovárica: nuevas perspectivas para la gestión clínica": ¿qué necesitamos saber?. (2) En esta reunión se abordaron temas con respecto al desafío que representa el uso de AMH para evaluar la reserva ovárica en la práctica clínica y el desarrollo de información normativa para su cuantificación.

Un aspecto que se ha debatido en la literatura científica es con respecto a si existe variación en los niveles séricos de AMH durante el ciclo menstrual, y a este respecto la mitad de los estudios publicados sostienen que los niveles de

AMH varían a lo largo del ciclo menstrual, mientras que otros sugieren que no hay cambios significativos(7), posiblemente la variabilidad encontrada en los diferentes estudios depende del rango de edad de las mujeres estudiadas (8). De manera general se dice que la AMH permanece relativamente estable durante el ciclo menstrual y no varían sus concentraciones significativamente entre un ciclo y otro, por lo que se considera un marcador altamente útil para evaluar la reserva ovárica y predecir la transición a la menopausia. Sin embargo, algunos autores han publicado que los niveles de AMH en suero pueden estar influenciados por la etnicidad, el índice de masa corporal (IMC), el tabaquismo y el uso de anticonceptivos hormonales entre otros factores, por lo que aún se deben de hacer más estudios para establecer rangos de referencia para la población general y los puntos de corte en patologías específicas con SOP e IOP. (9,10,11).

Respuesta ovárica en reproducción asistida.

La probabilidad de una respuesta ovárica exitosa en reproducción asistida (RA) generalmente se evalúa según la edad, sin embargo, incluso con edades comparables, se ha reportado una amplia variabilidad en la respuesta ovárica entre las mujeres. Es por esto que en reproducción asistida se han utilizado también como marcadores para predecir la respuesta ovárica a la estimulación hormonal, el conteo de folículos antrales, la medición de FSH, inhibina y estradiol en fase folicular temprana y el volumen ovárico, sin embargo, debido a la variabilidad dependiente de los operadores y a las inconsistencias dependientes de los métodos de cuantificación hormonales, la AMH se ha sumado como otro marcador de evaluación de respuesta en RA. La AMH se correlaciona con el número y calidad de ovocitos recuperados después de la estimulación y refleja un crecimiento folicular excesivo en mujeres con síndrome de hiperestimulación ovárica y su disminución en suero indica confiablemente una pobre respuesta a la estimulación y un menor número de ovocitos recuperados. (12)

Métodos bioquímicos para la cuantificación de AMH.

Los primeros inmunoensayos desarrollados para cuantificar AMH fueron realizados por Hudson et al en 1990 e introducidos por Diagnostic Systems Laboratories (DSL) e Immunotech (IOT), se basan en la metodología de ELISA

(ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) por lo que su amplia variabilidad se explica por aspectos biológicos y analíticos como la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos utilizados para la detección de AMH y variaciones en la fase pre-analítica del ensayo. Un ensayo de nueva generación desarrollado por Beckman Coulter, denominado AMH Gen II ELISA, se ha utilizado como estándar de oro debido a que es capaz de detectar concentraciones de hasta 0.01 ng/mL. (18). El aumento de la sensibilidad y la disponibilidad de diferentes ensayos ha puesto de manifiesto la necesidad urgente de estandarizar los niveles para una mejor interpretación y evitar sesgos en los resultados obtenidos identificando la fuente de variabilidad en los resultados (7). A continuación se describirán brevemente algunas de las fuentes identificadas de variabilidad :

a.-Variabilidad pre-analítica.

El almacenamiento prolongado de la muestra de sangre a temperatura ambiente influye en la concentración de AMH medida en el suero asociado a un fenómeno enzimático, y se ha reportado un incremento del 20 hasta el 60% de la concentración normal según el tiempo en que se deja la muestra a temperatura ambiente. Por lo cual se recomienda centrifugar la muestra después de tomarla, y mantener a una temperatura de -20 C con el fin de no modificar los resultados obtenidos. (14)

b.-Variabilidad intra-individual.

Al igual que otros analitos, la variación biológica es mayor que la variación analítica. Existen diferentes factores que contribuyen a esta variabilidad biológica, como cambios en el ciclo menstrual, cambios estacionales, el tabaquismo e incluso con el ciclo circadiano. La variación intraindividual total varía entre un 0-54% con una media de 22%, otros autores reportan variación del 2.1-73% con una media de 20%, mientras que la variación analítica tiene menor repercusión en los resultados.(15)

c.-Comparabilidad entre estudios.

Para demostrar el valor de AMH como un biomarcador, es necesario un ensayo confiable y comercialmente disponible. El ensayo de AMH de segunda generación Gen II se desarrolló mediante la modificación del ensayo de Immunotec (IOT) y el Laboratorio de Sistemas de Diagnóstico (DSL). El ensayo Gen II usa el mismo anticuerpo del sistema DSL, pero adoptó la calibración

contra el estándar del sistema IOT (3). Publicaciones recientes informaron una discrepancia en los valores de AMH obtenidos usando el ensayo Gen II observándose variaciones en los niveles de hasta 40% con respecto a DSL, debido principalmente a cambios en la fase pre-analítica del ensayo. (16)

Con esto se puede concluir que existe una clara necesidad internacional para establecer rangos de referencia para AMH por lo que resulta también indispensable establecer protocolos estandarizados para el manejo y procesamiento de las muestras así como una evaluación detallada de los diferentes kits comerciales que se usan en la práctica clínica para disminuir la variabilidad interensayo y poder aplicarlos en la práctica y en investigación con seguridad en la interpretación de los resultados. (16)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De manera tradicional, la evaluación de la reserva ovárica en el INPer incluía el conteo de folículos antrales (AFC) y la evaluación del volumen ovárico, la medición de FSH y estradiol en fase folicular temprana así como la utilización de pruebas dinámicas con citrato de clomifeno entre otras. A partir del año 2016 se subrogó a los Laboratorios LANS la cuantificación de AMH para ser utilizada en la práctica clínica en la atención de las pacientes que acuden al INPer por diferentes motivos. La medición de AMH se ha convertido en un elemento con una amplia gama de aplicaciones clínicas, basado principalmente en su capacidad para representar un marcador de la reserva ovárica, por lo que se ha abierto un nuevo campo de posibilidades diagnósticas y terapéuticas que deben ser evaluadas particularmente en nuestra población. En el último año se ha utilizado la medición de AMH en el INPer como marcador de reserva ovárica en mujeres con patologías ováricas como IOP o disgenesias gonadales, como predictor de senescencia ovárica en pacientes en transición a la menopausia, como marcador de respuesta ovárica y para individualizar tratamientos de estimulación en técnicas de reproducción asistida entre otros usos. Por lo que consideramos prioritario hacer una evaluación de los resultados obtenidos en el último año. (13)

JUSTIFICACION

La alta variabilidad interensayo reportada en los diferentes kits comerciales disponibles para la cuantificación de AMH obliga a estandarizar la prueba, establecer protocolos de manejo y procesamiento de las muestras y a definir rangos de referencia para nuestra población. Actualmente en el INPer, la cuantificación de AMH se subroga al Laboratorio LANS y se realiza mediante un kit comercial de ELISA / EUROIMMUN que ha sido muy poco validado en la literatura científica. Las muestras séricas son tomadas por el personal del Laboratorio Central del INPer y son almacenadas en promedio 7 días para su posterior envío al laboratorio de referencia, y los resultados son enviados en un máximo de 3 días posteriores a la entrega. Por lo tanto, debido a la preocupación que existe al ser utilizada la cuantificación de AMH como un marcador clínico en la toma de decisiones terapéuticas, resulta imprescindible evaluar y comparar esta herramienta bioquímica con los marcadores de reserva ovárica tradicionalmente utilizados y correlacionar los resultados con los diagnósticos clínicos de las pacientes.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

Existe una correlación clínico – bioquímica entre la cuantificación de hormona antimulleriana medida mediante ELISA / EUROINMUN en el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

OBJETIVOS

General

Evaluar la correlación clínico – bioquímica de los valores de hormona antimulleriana cuantificada mediante ELISA / EUROINMUN en el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Específicos

1. Evaluar la correlación entre las concentraciones de FSH y estradiol, en fase folicular temprana con la concentración de AMH medida mediante ELISA/EUROIMMUN.
2. Evaluar la correlación entre el diagnóstico clínico de insuficiencia ovárica primaria con los valores de AMH medida mediante ELISA/EUROIMMUN.
3. Evaluar la correlación entre el diagnóstico clínico de síndrome de ovario poliquístico con los valores de AMH medida mediante ELISA/EUROIMMUN.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, transversal en donde se incluyeron mujeres a quienes se les realizó determinación de hormona antimülleriana mediante ELISA /EUROINMUN en el Instituto Nacional de Perinatología en el periodo de Agosto del 2016 a Febrero del 2017.

-Diseño del estudio:

- a) Por la participación del investigador: Observacional
- b) Por temporalidad del estudio: Transversal
- b) Por la lectura de los datos: Prolectivo
- d) Por el análisis de datos: Analítico

-Criterios de inclusión:

- a. Mujeres mayores de 16 años atendidas en el INPer no embarazadas, a quienes se les haya solicitado la cuantificación de AMH y se encontraran en seguimiento en la consulta de infertilidad, endocrinología, ginecología, medicina del adolescente o climaterio.
- b. Que contaran con la cuantificación de FSH y estradiol en fase folicular temprana de un sangrado espontáneo o inducido con progestina.

-Criterios de exclusión:

- a. Pacientes que durante la cuantificación hormonal se encontraran bajo tratamiento hormonal anticonceptivo o de reemplazo o durante estimulación ovárica controlada.
- b. Pacientes que no contaran con un diagnóstico clínico o que no tuvieran toda la información necesaria en el expediente clínico.

-Definición de variables

1.-Concentración sérica de AMH.

Definición operacional: Resultado de la cuantificación de AMH en suero medida mediante ELISA/EUROIMMUN.

Es un ensayo basado en la combinación de dos anticuerpos altamente específicos para AMH con un límite de detección de 0.07 ng/mL, concordancia del 99%, coeficiente de correlación con Gen II del $R^2=0.956$.

Tipo de variable: Cuantitativa continua

Nivel de medición: ng/mL

2.-Concentración sérica de FSH y estradiol en fase folicular temprana.

Definición operacional: Determinación realizada por quimioluminiscencia en equipo immulite 2000

Tipo de variable: cuantitativa continua

Nivel de medición: para FSH UI/mL y para estradiol pg/mL

3.-Diagnóstico de síndrome de ovario poliquístico.

Definición operacional: Con base en los criterios de Rotterdam 2003

Tipo de variable: Nominal

Nivel de medición: Presente o ausente

4.-Diagnóstico de insuficiencia ovárica primaria.

Definición operacional: Edad menor de 40 años, FSH mayor o igual a 15mU/mL

Tipo de variable: Nominal

Nivel de medición: Presente o ausente

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para IBM en su versión 22. Se utilizó estadística descriptiva para los tres grupos de grupos de estudio utilizando media y desviación estándar y/o frecuencia y porcentajes para variables cuantitativas y cualitativas respectivamente. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar el grado en que las variables cuantitativas estaban linealmente relacionadas en la muestra. Se realizó prueba de ANOVA con corrección de Bonferroni para identificar diferencias en las variables cuantitativas en los 3 grupos de estudio por diagnóstico clínico ovárico. Y se utilizó un análisis de regresión logística para evaluar el efecto de las concentraciones de FSH, estradiol y AMH en la probabilidad de tener síndrome de ovario poliquístico o insuficiencia ovárica primaria.

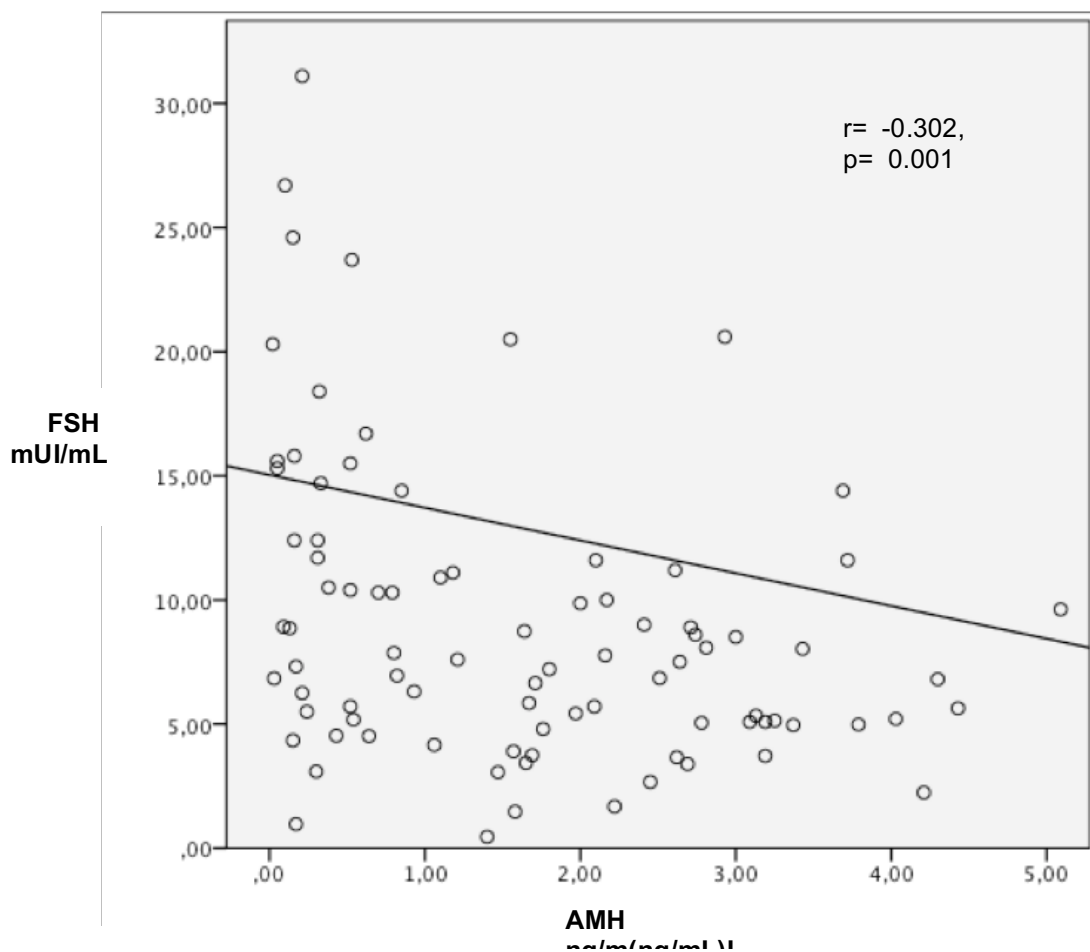
RESULTADOS

Se analizaron un total de 127 pacientes capturadas de Agosto de 2016 a Febrero de 2017, con una edad promedio de 35.4 ± 4.7 años, con peso de 65.7 ± 10.1 kg, IMC 26.4 ± 3.8 kg/m², el 63 % con diagnóstico de infertilidad primaria y el 37% con infertilidad secundaria y/o amenorrea secundaria. En promedio con 5.4 ± 3.4 años de infertilidad, el 57.1% tenía factor tubo-peritoneal, el 54% factor uterino, el 31% factor masculino, el 39.4% factor ovárico y el 13.4% diagnóstico de SOP, el 57.5% eran nuligestas y el 30.7% fueron sometidas a alguna técnica de reproducción asistida.

Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las variables cuantitativas AMH, FSH, LH y estradiol, usando corrección de Bonferroni para controlar el error tipo I entre las correlaciones, por lo que un valor de $p = 0.005$ fue requerido para considerarse significativo, encontrándose una correlación negativa

significativamente estadística entre AMH y FSH ($r = -0.302$, $p = 0.001$), no así para AMH y LH ($r = -0.195$, $p = 0.037$) o AMH y estradiol ($r = -0.043$, $p = 0.657$).

Gráfico 1 Correlación bivariada entre la concentración de AMH y FSH en fase folicular temprana.

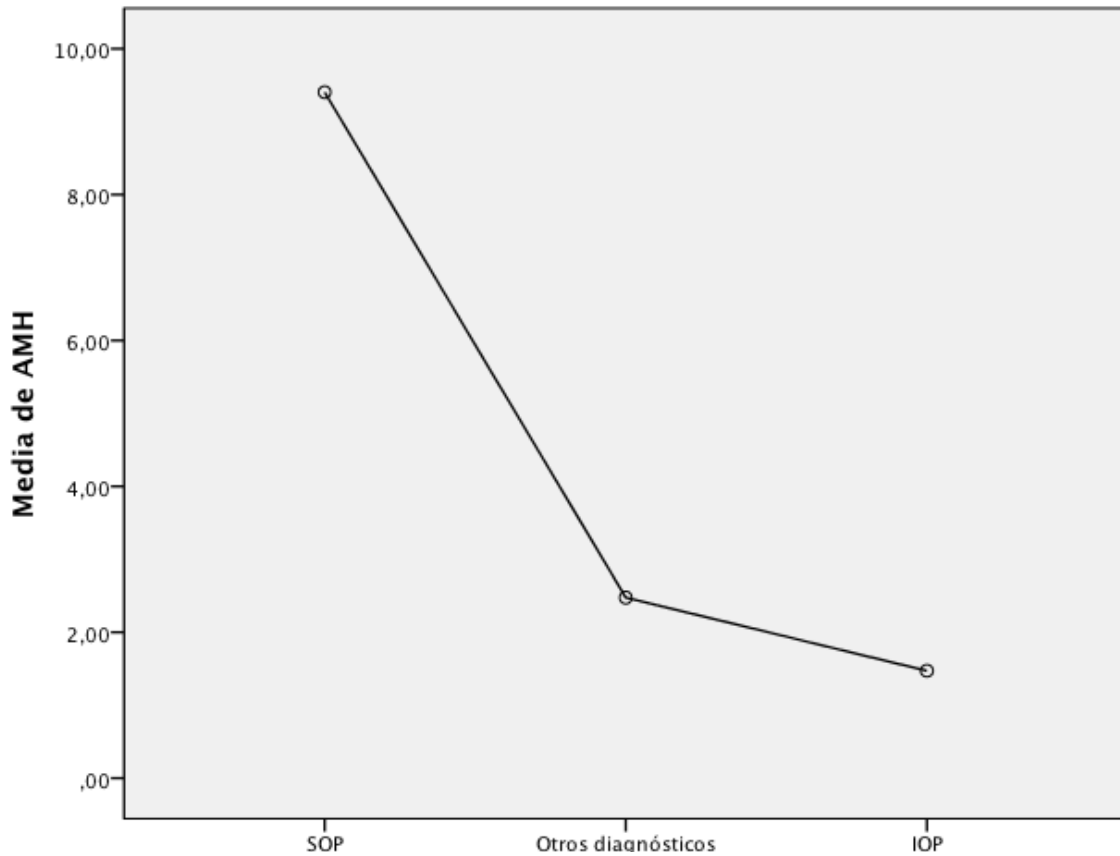


Las 127 pacientes se clasificaron por diagnóstico clínico ovárico (Tabla 1) de síndrome de ovario poliquístico ($n = 17$), insuficiencia ovárica primaria espontánea o post-quirúrgica ($n = 50$) y otros diagnósticos ($n = 60$) en los que se incluyó a pacientes cuya medición de AMH se realizó como parte del protocolo de infertilidad. Se encontró que la concentración de AMH era significativamente diferente entre los tres grupos de estudio (Gráfico 2), siendo más alta en el grupo de mujeres con SOP (9.4 ± 3.8 ng/mL) y más baja en el grupo con IOP (1.4 ± 1.6 ng/mL), al igual que las concentraciones de FSH y LH fueron significativamente diferentes entre los tres grupos, no así los niveles de estradiol sérico.

Tabla 1. Características bioquímicas por diagnóstico ovárico.

	SOP n=17 media ± DE	Otros diagnósticos n=60 media ± DE	IOP n=50 media ± DE	p
AMH (ng/mL)	9.4 ± 3.8 ^{AB}	2.4 ± 2.5 ^A	1.4 ± 1.6 ^B	0.000
Edad a la AMH (años)	34 ± 4.3	35.6 ± 4.5 ^C	33.3 ± 4.9 ^C	0.038
FSH (mUI/mL)	4.8 ± 1.8 ^D	6 ± 3.2 ^E	18.5 ± 19.8 ^{DE}	0.000
LH (mUI/mL)	5 ± 5.2	4 ± 4.7 ^F	9.5 ± 11.6 ^F	0.005
Estradiol (pg/mL)	59.5 ± 29.6	84.3 ± 98.4	66 ± 66.7	0.415

Gráfico 2 Concentraciones séricas promedio de AMH ng/mL por diagnóstico ovárico.



Se seleccionaron a las pacientes con diagnóstico clínico de SOP (Tabla 2) y se realizó un análisis de regresión logística para evaluar el efecto de las concentraciones de FSH, estradiol y AMH en la probabilidad de tener o no SOP. El modelo de regresión logística fue estadísticamente significativo, $X^2= 56.35$ $p= 0.000$ El modelo explicó el 77% (Nagelkerke R2) de la varianca del diagnóstico de SOP y clasificó correctamente al 97.2% de los casos. De los tres parámetros bioquímicos predictores solo la AMH fue significativamente estadística (coeficiente B 1.018, OR: 2.676, $p=0.001$) lo que significa que a mayor concentración de AMH, existe mayor probabilidad de tener SOP.

Tabla 2. Características clínico-bioquímicas en el grupo de mujeres con síndrome de ovario poliquístico.

	Muejeres con SOP n=17 media ± DE / %
AMH (ng/mL)	9.4 ± 3.8
Edad a la AMH (años)	34 ± 4.3
Peso (kg)	69.8 ± 14.2
IMC (kg/m²)	27.6 ± 4.2
Motivo de ingreso (%)	
-Infertilidad Primaria	82.3
-Infertilidad Secundaria	17.7
Años de infertilidad (años)	7.1 ± 4.1
Pacientes que fueron sometidas a técnica de RA (%) n= 8	47.1%

De las pacientes con diagnóstico clínico de insuficiencia ovárica primaria (Tabla 2) y se realizó un análisis de regresión logística para evaluar el efecto de las concentraciones de FSH, estradiol y AMH en la probabilidad de tener o no SOP. El modelo de regresión logística fue estadísticamente significativo, $X^2= 47.35$, $p= 0.000$ El modelo explicó el 47.4% (Nagelkerke R2) de la varianca del diagnóstico de IjOP y clasificó correctamente al 80.7% de los casos, con una sensibilidad del 67.4% y especificidad del 90.5%. De los tres parámetros bioquímicos predictores solo la FSH fue significativamente estadística (coeficiente B 0.279, OR: 1.32, $p=0.000$) lo que significa que a mayor concentración de FSH, existe mayor probabilidad de tener IOP.

Tabla 3. Características clínico-bioquímicas en el grupo de mujeres con insuficiencia ovárica primaria.

	Mujeres con IOP n=50 media ± DE / %
AMH (ng/mL)	1.4 ± 1.6 ^B
Edad a la AMH (años)	33.3 ± 4.9 ^C
Peso (kg)	65.36 ± 10.2
IMC (kg/m²)	27.1 ± 3.9
Motivo de ingreso (%)	
-Infertilidad Primaria	66
-Infertilidad Secundaria	34
Años de infertilidad (años)	4.8 ± 3.06
Pacientes que fueron sometidas a técnica de RA (%) n= 12	24%

DISCUSIÓN

Durante los últimos 26 años, los ensayos de AMH han evolucionado de forma considerable. En los años noventa se informaron sobre los primeros ensayos de AMH/ELISA que con el paso del tiempo fueron mejorando su sensibilidad en 2013 Ansh Labs desarrollo nuevos ensayos ultrasensibles: AMH ELISA para uso estándar (rango aproximado 0,14-8,68 ng / ml) y un pico AMH para muestras con AMH inferior (rango aproximado 0,007-0,70 ng / ml). En 2014, sale el primer ensayo totalmente automatizado por Roche con una sensibilidad de 0,010 ng / ml. (19)

El primer artículo que describe la aplicación clínica de AMH apareció en 2002 (20) y desde entonces muchos centros de reproducción incluyeron su determinación en la práctica ya que es un reflejo de la reserva ovárica (21) En nuestro estudio encontramos que la concentración de AMH tiene una correlación negativa con la concentración de FSH que es otro de los marcadores de reserva ovárica, solo que este debe medirse en fase folicular temprana.

Los niveles séricos de AMH disminuyen gradualmente a medida que pasan los años desde la etapa reproductiva hasta volverse indetectable en la menopausia. En nuestro estudio el nivel medio máximo de AMH fue de 9.40ng/dl en pacientes con SOP y la disminución de los niveles se observaron en el grupo de mayor edad. Un estudio realizado por Sergio Parco et al., reportó una correlación inversa entre los niveles de AMH y la edad, informó niveles de AMH ($10,0 \pm 2,28$ ng / ml) en pacientes con SOP (19). Kumar et al., reportó que los niveles séricos de AMH disminuyeron después de los 30 años, con niveles significativamente más altos en las pacientes con síndrome de ovario poliquístico ($p < 0,001$) (22). Psaikumar et al., También encontró que el nivel sérico de AMH es tres o cuatro veces mayor en pacientes con SOP y es un marcador de los folículos reclutados (23). Zadehmodarres S y otros concluyeron que la AMH de 3,15 ng / ml tenía una sensibilidad de 70,37% y especificidad de 77,36% para el diagnóstico precoz de SOP (24).

Nosotros encontramos que los niveles medios de AMH eran significativamente mayores en los casos con un valor basal de FSH 4.8 mIU / ml. Lo cual concuerda con lo reportado por Kumar et al., en donde los niveles medios de AMH eran

significativamente mayores en los casos con un valor basal de FSH <5.56 mIU / ml ($p = 0.018$). (22).

En nuestro estudio no se obtuvo asociación lineal entre los niveles séricos de AMH y el Índice de Masa Corporal (IMC). Sin embargo, Buyuk et al., informó que las mujeres con sobrepeso y obesidad tenían niveles más bajos de AMH (25). A pesar de que no es el objetivo de nuestro estudio, es importante señalar que las mujeres jóvenes con SOP tienen más riesgo de síndrome metabólico, como lo reportó Feldman et al. (26). El SOP es la causa más común de anovulación en pacientes con infertilidad siendo esta la más importante, además de repercusión metabólica y psicológica. AMH es un prometedor biomarcador ovárico, con una gama de aplicaciones clínicas especialmente en pacientes con infertilidad.

La IOP consiste en la disminución de la fertilidad a causa de la reducción en la cantidad y calidad de los ovocitos. Lo cual implica mayor uso de medicamentos a lo largo de un ciclo de FIV así como más riesgo de cancelación por no respuesta y por consiguiente pobres resultados reproductivos. En la práctica clínica, el nivel de FSH en fase folicular temprana es una prueba comúnmente utilizada para el diagnóstico de IOP pero posee menor especificidad que la AMH que a diferencia de la FSH sus niveles séricos son relativamente constantes durante el ciclo menstrual (27).

En nuestro estudio las mujeres con IOP tuvieron en promedio FSH de 18.5 U_i/ml y AMH de 1.4pg/ml (P de 0.000) lo cual coincide con lo reportado por Buyuk et al., quienes reportaron que las mujeres con FSH elevada y niveles aleatorios de AMH $>0,6$ ng / mL deben ser aconsejadas respecto al pronóstico reproductivo durante las Técnicas de Reproducción Asistida (ART) que suele ser mejor que las que tienen FSH elevada y AMH $<0,6$ ng / mL, estas últimas de igual manera deben ser informadas sobre los pobres resultados reproductivos esperados. (28).

CONCLUSIÓN

Encontramos que la concentración de AMH correlaciona negativamente con otro marcador de reserva ovárica utilizado que es la medición de FSH en fase folicular temprana ($r = -0.302$, $p = 0.001$). De acuerdo con el diagnóstico clínico ovárico el grupo de mujeres con SOP tiene las concentraciones más altas de AMH (9.4 ± 3.8 ng/mL) comparado con mujeres con IOP (1.4 ± 1.6 ng/mL) y con mujeres con otros factores de infertilidad (2.4 ± 2.5 ng/mL). El modelo de regresión logística mostró que de los tres parámetros bioquímicos (FSH, E2 y AMH) solo la AMH mostró la mayor capacidad para predecir SOP (coeficiente B 1.018, OR: 2.676, $p = 0.001$), y en el caso de mujeres con IOP la FSH fue el mejor marcador de predicción (coeficiente B 0.279, OR: 1.32, $p = 0.000$).

BIBLIOGRAFÍA

1. Lambert-Messerlian G, Plante B, Eklund EE, Raker C, Moore RG. Levels of antimullerian hormone in serum during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril*. 2016;105(1):208-13 e1.
2. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS, Table ESIGfRE--AR. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod*. 2009;24(9):2264-75.
3. Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction*. 2002;124(5):601-9.
4. 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*. 2003;18(2):323-
5. Andersen CY, Schmidt KT, Kristensen SG, Rosendahl M, Byskov AG, Ernst E. Concentrations of AMH and inhibin-B in relation to follicular diameter in normal human small antral follicles. *Hum Reprod*. 2010;25(5):1282-7.
6. Casadei L, Madrigale A, Puca F, Manicuti C, Emidi E, Piccione E, et al. The role of serum anti-Mullerian hormone (AMH) in the hormonal diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(6):545-50.
7. Rustamov O, Smith A, Roberts SA, Yates AP, Fitzgerald C, Krishnan M, et al. The measurement of anti-Mullerian hormone: a critical appraisal. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(3):723-32.
8. Overbeek A, Broekmans FJ, Hehenkamp WJ, Wijdeveld ME, van Disseldorp J, van Dulmen-den Broeder E, et al. Intra-cycle fluctuations of anti-Mullerian hormone in normal women with a regular cycle: a re-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(6):664-9.
9. Dolleman M, Verschuren WM, Eijkemans MJ, Dolle ME, Jansen EH, Broekmans FJ, et al. Reproductive and lifestyle determinants of anti-Mullerian hormone in a large population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(5):2106-15.

10. van Houten EL, Themmen AP, Visser JA. Anti-Mullerian hormone (AMH): regulator and marker of ovarian function. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2010;71(3):191-7.
11. van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT, et al. Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(6):2129-34.
12. Jamil Z, Fatima SS, Rehman R, Alam F, Arif S. Anti Mullerian Hormone: Ovarian response indicator in young patients receiving Long GnRH Agonist Protocol for Ovarian Stimulation. *Pak J Med Sci*. 2016;32(4):944-9.
13. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):370-85.
14. Fleming R, Fairbairn C, Blaney C, Lucas D, Gaudoin M. Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes. *Reprod Biomed Online*. 2013;26(2):130-2.
15. Hadlow N, Brown SJ, Habib A, Wardrop R, Joseph J, Gillett M, et al. Quantifying the intraindividual variation of antimullerian hormone in the ovarian cycle. *Fertil Steril*. 2016;106(5):1230-7.
16. Lee JY, Ahn S, Lee JR, Jee BC, Kim CH, Seo S, et al. Reference Values for the Revised Anti-Mullerian Hormone Generation II Assay: Infertile Population-based Study. *J Korean Med Sci*. 2017;32(5):825-9.
18. Trombly DJ., Woodruff TK., Mayo KE. Roles for transforming growth factor beta superfamily proteins in early folliculogenesis. *Semin Reprod Med* 2009; 27:14-23
19. Hudson PL, Dougas I, Donahoe PK, Cate RL, Epstein J, Pepinsky RB et al. An immunoassay to detect human Müllerian inhibiting substance in males and females during normal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70, 16-22.
20. Parco S, Novelli C, Vascotto F, Princi T. Serum anti-mullerian hormone as a predictive marker of polycystic ovarian syndrome. *Int J Gen Med*. 2011;4:759-63.

21. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, et al. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2002;77:468–71.
22. Ewa Pastuszek, Aron Lukaszuk, Michal Kunicki, Joanna Mockun, Grzegorz Kloss, Iwona Malinowska, Adam Czyzyk, Blazej Meczekalski & Krzysztof Lukaszuk (2017): New AMH assay allows rapid point of care measurements of ovarian reserve, *Gynecological Endocrinology*, DOI: 10.1080/09513590.2017.1306735
23. Kumar A, Rajbhar S, Mishra J, Anti-Mullerian Hormone: A Marker of Ovarian Reserve and its Association with Polycystic Ovarian Syndrome, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016 Dec, Vol-10(12).
24. Saikumar P, Kalai Selvi VS, Prabhu K, venkatesh P. Anti Mullerian Hormone: A Potential Marker for Recruited Non Growing Follicle of Ovarian Pool in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(9):1866-69.
25. Zadehmodarres S, Heidar Z, Razzaghi Z, Ebrahimi L, et al. Anti-mullerian hormon level and polycystic ovarian syndrome diagnosis. *Iran J Reprod Med*. 2015;13(4):227-30.
26. Buyuk E, Seifer DB, Illions E, Grazi RV, Lieman H. Elevated body mass index is associated with lower serum anti-mullerian hormone levels in infertile women with diminished ovarian reserve but not with normal ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2011;95(7):2364-68.
27. Feldman R, O'Neill K, Butts S, Antimullerian hormone levels and cardiometabolic risk in young women with polycystic ovary syndrome *Fertility and Sterility*® Vol. 107, No. 1, January 2017
28. Coccia ME, Rizzello F. Ovarian reserve. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1127:27–30.
29. Buyuk E., Seifer D., Random antimullerian hormone (AMH) is a predictor of ovarian response in women with elevated baseline early follicular follicle-stimulating hormone levels *Fertility and Sterility*" Vol. 95, No. 7, June 2011