



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

**CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE LA HORMONA ANTI-MÜLLERIANA
(HAM) CON LA RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA
(H.O.C.). EN PACIENTES BAJO TRATAMIENTO DE REPRODUCCION
ASISTIDA.**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO EN LA SUBESPECIALIDAD DE
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN**

PRESENTA:

DR. KARLO ALBERTO MOJICA MARTINEZ

ASESOR:

DR. VICTOR ALFONSO BATIZA RESENDIZ

MONTERREY NUEVO LEÓN.

FEBRERO DEL 2019



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.

INVESTIGADORES ASOCIADOS

Dr. Roberto Santos Haliscak

Co-director del Centro de Fertilidad IECH.

Dr. Pedro Galache Vega

Co-director del Centro de Fertilidad IECH.

Dr. Iram Obeso Montoya

Director Médico del Centro de Fertilidad IECH.

Dr. Julio C. Rosales de León

Jefe de enseñanza e investigación del Centro de Fertilidad IECH.

SEDE:

INSTITUTO PARA EL ESTUDIO DE LA CONCEPCIÓN HUMANA.
Monterrey, Nuevo León, México.

Índice

Dedicatoria.....	4
Agradecimientos.....	5
1. Introducción.....	6
2. Justificación.....	8
3. Marco Teórico.....	9
4. Planteamiento del problema.....	13
5. Hipótesis	13
6. Objetivos.....	13
7. Material y métodos.....	14
7.1. Universo de estudio	
7.2. Tamaño de muestra	
7.3. Criterios de Inclusión	
7.4. Criterios de no Inclusión	
7.5. Criterios de eliminación	
8. Descripción de variables.....	16
9. Análisis estadístico.....	20
10. Resultados.....	21
11. Discusión.....	28
12. Instrumento de recolección de datos.....	20
13. Referencias	31
14. Formato de consentimiento informado.....	36

DEDICATORIA

A Dios y a la vida, que me han permitido llegar hasta aquí con todos ustedes y cumplir una meta más.

A mis padres Luis y Diana por darme la vida, y guiar mis pasos siempre hacia delante; a mis hermanos Luis, Diana, Laura y Mildred por todo su cariño y apoyo... los llevo siempre en mi corazón.

A mi esposa Denisse por todo el amor y el apoyo que me ha brindado a lo largo de los años, por su paciencia y confianza que me han permitido seguir adelante durante mi vida profesional y personal.

A mi hijo Diego... mi inspiración, porque le dio un sentido especial a mi vida y es la razón por la cual deseo ser mejor cada día.

A mis segundos padres Jorge y Adriana por brindarme un apoyo incondicional en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Victor Alfonso Batiza Resendiz, mi asesor de tesis, gracias por todo el apoyo académico y sobre todo el tiempo que dedico para la realización de este trabajo.

Al Dr. Samuel Hernandez Ayup por su sabiduría, experiencia profesional y sobre todo por brindarme su amistad.

Al Dr. Pedro Galache Vega, por creer en mí y darme la oportunidad de conocer un mundo diferente de la medicina.

Al Dr. Roberto Santos Haliscak, por dedicarme su tiempo, trasmitirme sus conocimientos y sabiduría...

Al Dr. Pablo Díaz Spíndola, por apoyar este proyecto desde un inicio y ayudarme a culminar este sueño, muchas gracias...

A Militza Rogers Burguette, por todo su apoyo, paciencia y sobre todo por su tiempo dedicado al proyecto.

A mis compañeros, por todo el apoyo que me brindaron durante mi formación, que me hizo crecer no solo como profesionalista si no también como persona...

A todos los integrantes de la familia IECH, por demostrarme su cariño cada día, por su apoyo y por la amistad que conservaré siempre...

Pero especialmente gracias a todos los pacientes que me han enseñado y llenado de grandes satisfacciones...

ANTECEDENTES:

INTRODUCCIÓN.

El reclutamiento y desarrollo de varios folículos en respuesta a la estimulación con gonadotropinas exógenas es un recurso comúnmente utilizado en todas las técnicas de reproducción asistida, ya sea de baja o de alta complejidad.

La capacidad del ovario de responder al estímulo de las gonadotropinas se le ha denominado “reserva ovárica”, y ésta es una función biológica, no cronológica, por lo que la edad, como variable aislada no es el mejor parámetro para valorarla. La reserva ovárica puede iniciar su declinación casi a cualquier edad **(1)**, por eso la determinación adecuada de la reserva ovárica es un problema al que se enfrenta constantemente el médico al manejar una paciente con infertilidad. En el contexto de tratamiento con reproducción asistida, se busca que las pruebas de reserva ovárica puedan predecir la respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas. Sin embargo, las pruebas tradicionales, basadas en la determinación sérica de gonadotropinas, inhibina y estradiol, así como en determinaciones ultrasonográficas **(33)**, sólo brindan información general y limitada sobre esta respuesta. Los niveles séricos de gonadotropinas al inicio del ciclo están determinados por varios factores, y pueden variar de un ciclo a otro. De hecho, tanto la Hormona Folículo Estimulante (FSH) como la Hormona Luteinizante (LH) y el estradiol son interdependientes por ser parte de un mismo eje endócrino. Lo mismo sucede con algunos otros marcadores que se han empleado en la determinación de la reserva ovárica, como la inhibina B.

La Hormona Anti-Mülleriana (HAM) ha sido postulada como un marcador para predecir la respuesta ovárica en un ciclo de estimulación ovárica **(3)**

La hormona Anti-Mülleriana, es una glucoproteína homodimérica, la cual pertenece a la super familia de factor de crecimiento transformante beta (B-TGF). Esta glucoproteína pesa 140 kda y es cuatro veces más grande que la FSH y la LH. El gen de la HAM se encuentra en el cromosoma 19 p13.3. Su actividad biológica depende de la interacción con dos receptores de membrana serin y treonin cinasa llamados tipo I y tipo II. El receptor tipo I envía una señal vía fosforilación del receptor, así como de otros sustratos. El receptor tipo II es responsable por sí mismo de su activación. (4, 5,35)

Durante la diferenciación sexual masculina, la HAM es sintetizada por las células de Sertoli e induce una degeneración de los derivados Müllerianos que formarían los oviductos, el útero y el tercio superior de la vagina. **(4,5)**. En el tejido ovárico fetal humano, la expresión de la HAM no es detectable antes de las 36 semanas de gestación **(6)** y durante toda la vida reproductiva **(7)**.

En las mujeres, la HAM sólo es expresada por el ovario, específicamente por las células de la granulosa de folículos primordiales y preantrales, pero no en los folículos atrésicos ni en los folículos en crecimiento más allá de la fase de folículo primordial **(3,8)**

De la etapa de folículos primordiales en adelante, todos los folículos expresan la HAM, pero pierden esta capacidad a partir de la etapa de folículos antrales, es decir, de 6- 8 mm de diámetro, que es cuando inicia el reclutamiento. Así, en el humano, la cantidad de folículos en crecimiento son los que producen la HAM y puede ésta tener un efecto sobre los folículos primordiales restantes, inhibiendo su reclutamiento **(9)**. Por eso la HAM también es un excelente marcador de la “edad ovárica” **(10,11)**. El número de folículos antrales cuantificados por ultrasonido en el ovario de una mujer es el mayor determinante del tiempo que le queda antes de la menopausia. Los niveles séricos de HAM en mujeres con ciclos menstruales regulares disminuyen con el tiempo y existe una fuerte correlación entre los niveles de HAM y el número de folículos antrales **(10,11)**. Parece que el tamaño de la cohorte de folículos reclutados está intimamente relacionado con la cantidad de folículos primordiales restantes. **(12,13)**. A través de su efecto inhibitorio en el reclutamiento folicular, la HAM puede regular la eficiencia con que se dispone de la cantidad de folículos primordiales restantes, por lo que puede estar también involucrada en la determinación de la edad en que aparece la menopausia.

De esta manera, los niveles séricos de la HAM se correlacionan más con el número de folículos primordiales que los niveles de otros marcadores tradicionales como la FSH, LH, estradiol e inhibina B en los días 3-5 del ciclo **(14)**.

JUSTIFICACIÓN:

Por la pobre relación que a veces se encuentra entre el perfil hormonal y la respuesta ovárica **(15)**, es necesaria la estandarización de otros parámetros que nos brinden información más confiable a fin de poder orientar tanto a clínicos como a pacientes sobre si continuar con un ciclo estimulado o no, reduciendo el desgaste emocional y económico.

Se ha demostrado que la pobre respuesta a la hiperestimulación ovárica con gonadotropinas, particularmente en reproducción asistida, está asociada a niveles bajos de la HAM en la fase folicular temprana **(11, 14,16)**.

En la actualidad en nuestra unidad: el Instituto para el Estudio de la Concepción Humana, el 10% de los ciclos son cancelados por baja respuesta y hasta en un 15% de los ciclos nos enfrentamos a las complicaciones de la sobre-respuesta a la estimulación. Con la herramienta diagnóstica apropiada sería factible predecir estos grupos específicos de pacientes, de manera de orientar nuestros protocolos de estimulación, disminuir costos e impactar de manera positiva en los resultados de las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

MARCO TEÓRICO:

La Hormona Inhibidora Mülleriana, también conocida como Hormona Anti-Mülleriana es una glicoproteína homodimérica la cual pertenece a la familia del factor de crecimiento transformante beta. (TGF-beta). Esta glicoproteína pesa 140 kda y es cuatro veces más grande que la FSH y LH. El gen de la HAM se encuentra en el cromosoma 19 p13.3. Su actividad biológica depende de la interacción con dos receptores de membrana serin y treonin cinasa llamados tipo I y tipo II. El receptor tipo II es responsable por si mismo de su activación, mientras que el receptor tipo I envía una señal vía fosforilación del receptor así como de otros sustratos. **(4, 5,35)**

La existencia de la HAM fue primero propuesta por el profesor Alfred Jost, quien mostró que un componente de testículo distinto a la testosterona era responsable de destruir los conductos müllerianos en el desarrollo de embriones masculinos. No fue hasta 20 años más tarde en que dos laboratorios independientes lograron purificar la proteína. El grupo de Donahoe y el laboratorio del Dr. Josso, ambos laboratorios nombraron a la proteína "Sustancia Inhibidora Mülleriana", como fue inicialmente nombrada por el Dr. Jost. Más tarde el laboratorio del Dr. Josso la nombró "Hormona Antimülleriana", término que es ampliamente usado en la actualidad. **(4)**

El significado clínico de la HAM se ha limitado por décadas al papel que ejerce en la diferenciación sexual del feto. Sin embargo, en los últimos 15 años, se le ha relacionado con la función ovárica. Algunos de los adelantos en la investigación de la función de la HAM incluyen el descubrimiento de que el gen de la HAM tiene un patrón de expresión sexualmente dimórfico; además, del descubrimiento de la secreción de la HAM por las células de la granulosa. Y en este sentido, algunos investigadores desarrollaron pruebas para detectar niveles de HAM en los fluidos corporales. **(4, 5,16)**. Las pruebas iniciales fueron radioinmunoensayos usando anticuerpos policlonales sensibilizados contra HAM purificada de testículos bovinos. Estas pruebas tenían un valor limitado en la clínica, porque no medían de forma precisa la proteína humana. El desarrollo de pruebas de ELISA altamente específicas y sensibles para medir la HAM en los fluidos humanos, permiten que se estudie a la proteína con varios enfoques clínicos. Durante los años 80's Cate y cols. clonaron el gen humano, haciendo posible la producción de la proteína humana recombinante y con ello la formación de anticuerpos monoclonales altamente específicos. Varias formas de estos ensayos fueron comercializados en Europa y EUA. **(35)**. Esto generó una serie de controversias sobre los valores referenciales de la HAM, por lo que no existe una referencia estándar. Esto hace que los estudios reportados en la literatura varíen en los resultados obtenidos.

En el hombre, la HAM es producida inicialmente por las células de Sertoli durante la diferenciación sexual del desarrollo fetal, resultando en completa regresión de los conductos de Müller. Su síntesis continúa durante toda la vida. En la mujer, las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales producen HAM, con

niveles séricos detectados desde las 36 semanas de embarazo y culminando su síntesis en la menopausia. Uno de los roles de la HAM después del nacimiento parece ser la inhibición de la esteroidogénesis en el testículo y los ovarios. En el ovario otra función es inhibir el reclutamiento inicial de folículos, así como su crecimiento y selección de folículos preantrales y pequeños antrales dependiente de FSH. Los folículos antrales que miden menos de 6mm expresan la mayor concentración de HAM, mientras que folículos de 8mm o mayores, células tecaes y folículos atrésicos tienen niveles indetectables. Por lo tanto, la HAM impide la transición de folículo primordial y preantral a folículos antrales en crecimiento. **(5)**

No se ha detectado alguna otra acción biológica de la HAM fuera de tejido ovárico, aunque se ha demostrado que los tejidos de origen de los conductos müllerianos presentan receptores tipo II. **(35)**

La relación de la HAM como marcador de la función y/o reserva ovárica se inició en 1999 cuando se observó que ratones carentes de HAM nacían con un número normal de folículos ováricos pero presentaban una pérdida acelerada del pool de folículos primordiales. **(23)**

Investigaciones clínicas que siguieron a este descubrimiento han examinado a la HAM en una variedad de diseños de estudio, pero prácticamente la mayoría de ellos se han centrado en las pacientes con infertilidad.

En el 2002, Vet y cols., realizaron un seguimiento prospectivo en 41 mujeres premenopáusicas con ovulación normal (edad media de 29^a). Ellos observaron una disminución de 38% de los niveles de HAM en el día 3 del ciclo en un periodo de tiempo de 1 a 7 años (2.1 ng/ml a 1.3 ng/ml) esto en ausencia de un cambio en el número de folículos antrales, FSH sérica e inhibina B. **(10)**

Van Rooij y cols. en el 2005 reportaron un estudio longitudinal prospectivo de 81 voluntarias sanas con fertilidad probada (edad media 39.6 años) en un intervalo de 4 años. Ellos notaron que los valores de HAM tomados un día 3 del ciclo disminuían un 58% (1.2 ng/ml a 0.5 ng/ml). Solamente la HAM al igual que el contenido de folículos preantrales, mostraron una disminución constante durante el lapso de tiempo comparados con los niveles de FSH en suero, inhibina B y estradiol **(11)**. Ambos estudios concluyen que los cambios que se producen conforme aumenta la edad tienen un orden de aparición. El cambio inicial es la disminución en los valores de HAM, seguido por la declinación de inhibina B, seguido por un aumento en suero de FSH.

Recientemente, Freeman y cols **(27)** dieron seguimiento a una cohorte de mujeres sanas, obesas (IMC ≥ 30 kg/m²) y sin obesidad durante 8 años, notando que existe una asociación entre el IMC y los niveles de HAM. Las mujeres con obesidad presentaban un nivel de HAM 65% más bajo que las mujeres no obesas. El mecanismo exacto de porqué existe un nivel más bajo de HAM en la obesidad no está claro, ellos especulan que la obesidad se puede estar asociada con un decremento de la reserva ovárica y/o disfunción folicular. **(27)**

A diferencia de los marcadores convencionales, los niveles en suero de la HAM son independientes de la secreción de gonadotropinas. Estudios han demostrado que no se detecta variación de la HAM en respuesta a los agonistas de GnRH **(11,14)** o gestación **(21)**. Al menos 4 estudios clínicos han confirmado la mínima variación de los niveles de HAM durante el ciclo menstrual **(20)**. La mínima variación intra e inter ciclo que ofrece la HAM lo hace el un marcador único de reserva ovárica que puede tomarse en cualquier fase del ciclo, sin alterarse entre distintos ciclos.

La Marca y cols **(21)** demostraron que una medición en suero de la HAM en cualquier día del ciclo menstrual predice la respuesta ovárica durante los procedimientos de fertilización in vitro. Los datos encontrados en 48 mujeres (28 durante la fase folicular y 20 durante la fase lutea) revelaron que los niveles más bajos de la HAM se asociaron con un incremento en el rango de cancelación y un menor número de ovocitos. Usando un valor de la HAM de 0.5 ng/ml para predecir una pobre respuesta a la estimulación ovárica mostró una sensibilidad de 85% y una especificidad de 82.3%.

Además de la HAM un estudio mostró que el continente de folículos antrales tiene un valor de predicción similar para una pobre respuesta ovárica con menor número de ovocitos (< 4) o ciclos de cancelación después de la inducción en FIV.

Su relación con el porcentaje en que se logra un embarazo, es variable, ya que como sabemos en el proceso de la implantación intervienen múltiples factores que no pueden todos ser controlados, como lo es la calidad endometrial, por ejemplo. A pesar de ello dos estudios apoyan la asociación de la HAM y gestación. Respaldando de que la HAM es el mayor factor independiente relacionado con el porcentaje obtenido de embarazos. **(22)**

Más recientemente, Smeenk y cols. **(31)** realizaron un análisis de regresión logística multivariado, y observaron una relación directa con los niveles en suero de HAM día 3 con el número de ovocitos y embriones obtenidos, pero no como predictor de calidad embrionaria y porcentaje de embarazo.

Otro enfoque potencial que se le puede atribuir a la HAM es como marcador de la reserva ovárica, no sólo en mujeres sanas o con algún problema de infertilidad, si no, además en pacientes que han sido sometidas a tratamiento por cáncer. Cambios en los niveles en suero de la HAM se demostraron en pacientes con evidencia de gonadotoxicidad durante la quimioterapia, de una forma más dramática que el estradiol o los niveles de inhibina B. **(26)**

Además, la asociación dosis-respuesta existente entre los niveles en suero de la HAM y la respuesta ovárica a la inducción de la ovulación hacen pensar que niveles elevados de HAM podrían ser correlacionados con una respuesta ovárica exagerada. Nakhuda y cols **(36)** notaron que los niveles basales en suero de la HAM en mujeres con Síndrome de Hiperestimulación Ovárica Severo fueron 6 veces más altos que las mujeres que mostraban una respuesta ovárica normal a las gonadotropinas (3.6ng/ml vs. 0.63 ng/ml, respectivamente. $P < .004$). Con este reporte se sugiere que la HAM puede ser un marcador para determinar el riesgo de

presentar un síndrome de hiperestimulación ovárica antes de someter a la paciente a una estimulación ovárica.

Existen algunos factores que pueden influir en la concentración en suero de la HAM. Estos factores pueden disminuir su concentración como: incremento en la masa corporal **(38)**, incremento en la edad, administración de gonadotropinas, administración de quimioterapia o radioterapia, y, por supuesto la ooforectomía. La entidad que se acompaña con aumento en la concentración de la HAM es el Síndrome de Ovarios Poliquísticos. Por último también hay factores que no alteran la concentración en suero de la HAM como el uso de agonista de la GnRH, anticonceptivos orales, gestación o, el día del ciclo menstrual. **(40,41)**

En este sentido ya se ha reportado en series de 17,120 pacientes (con edades de 24-50 años) la correlación en el comportamiento sérico del HAM con la edad ; encontrado una disminución de hasta 0.2ng/dl por año con rangos que iban desde 4.1 ng/dl hasta 0.0 ng/dl en función al aumento de la edad de las pacientes. **(42)**

Los métodos que actualmente utilizamos para establecer la reserva folicular son de laboratorio (la determinación sérica de gonadotropinas y esteroides sexuales como la FSH, LH y estradiol), clínicos (edad) y de gabinete (ecografía basal para conteo de folículos antrales) séricos (FSH, LH, estradiol) , clínicos (edad) y de gabinete (ecografía basal con conteo de folículos antrales). Al tratar de establecer la correlación entre los mismos y la respuesta a la estimulación ovárica controlada , se ha visto que su capacidad de predecir respuesta folicular : es limitada en comparación a la HAM ; encontrado para la FSH :una ROCAUC de 0.63 vs 0.88 con el HAM en la predicción de pobre respuesta ; y una ROCAUC de 0.66 en la FSH y de 0.81 en caso de HAM para predecir sobre respuesta. **(43)**

Recientemente se ha iniciado la evaluación de los niveles de Hormona Anti-Mülleriana y la probabilidad de tener un nacido vivo. Hasta el momento, en 507 ciclos estudiados, se ha encontrado que valores de <1.05ng/dl están asociados a una probabilidad muy baja de tener un recién nacido vivo **(44)**.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad carecemos de suficientes estudios para establecer valores de referencia de la HAM, particularmente en la población latina, como marcador de reserva ovárica en pacientes con diagnóstico de infertilidad.

OBJETIVO PRIMARIO:

1.- Establecer la correlación entre los valores de HAM y la respuesta a la estimulación ovárica controlada en las pacientes bajo tratamiento de reproducción asistida de alta complejidad.

OBJETIVOS SECUNDARIOS:

1. Describir los valores de HAM según grupo de edad.
2. Establecer la correlación entre la HAM y los marcadores séricos tradicionales de respuesta folicular (FSH, LH, Estradiol) y la edad de las pacientes.
3. Establecer la correlación entre los valores de la hormona HAM, el número de ovocitos totales y ovocitos maduros en ciclos de estimulación ovárica controlada en pacientes bajo tratamiento de reproducción asistida.

HIPÓTESIS:

1. La HAM tiene correlación con la respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas más objetiva y real que los parámetros tradicionales, ya que esta hormona no es dependiente del eje hipotálamo – hipófisis – ovario y por lo tanto, no tiene variaciones de ciclo a ciclo.
2. Los niveles séricos de HAM tienen una correlación directamente proporcional con la respuesta a la estimulación ovárica controlada.

MATERIALES Y METODOS:

DISEÑO

Correlacional, longitudinal y prospectivo.

UNIVERSO DE ESTUDIO:

Pacientes con infertilidad que se van a someter a programas de reproducción asistida de alta complejidad en el Instituto para el Estudio de la Concepción Humana de Monterrey (I.E.C.H.), N.L.

Muestreo:

Se realizó muestreo no probabilístico por casos consecutivos de todas las pacientes candidatas al programa de reproducción asistida del I.E.C.H. y cumplieran con los criterios de inclusión.

GRUPOS DE ESTUDIO

Se dividió la población en 3 grupos según el número de ovocitos recuperados totales, posterior a la estimulación ovárica controlada:

1. Pacientes de respuesta baja a la estimulación ovárica controlada con recuperación total de 0-5 ovocitos.
2. Pacientes con respuesta normal a la estimulación ovárica controlada con recuperación total de 6 – 16 ovocitos.
3. Pacientes con respuesta alta a la estimulación ovárica controlada con recuperación total de ovocitos de 17 o más.

Criterios de Inclusión:

1. Pacientes de entre 18 y 42 años de edad.
2. Con indicación para ingresar al programa de reproducción asistida del I.E.C.H.
3. Que acepten participar en el protocolo y firmen consentimiento informado.
4. Que tengan, al menos, una determinación de HAM de no más de 6 meses anteriores a la fecha en que ingresará esa paciente al programa.

Criterios de no inclusión

1. Pacientes menores de 18 años o mayores de 42 años de edad.
2. Que no acepten participar en el protocolo y/o no firmen consentimientos informados del protocolo.
3. Que no cumplan los requisitos para ingresar al programa de reproducción asistida del I.E.C.H.
4. Pacientes con alteración endocrina no controlada.
5. Pacientes con ooforectomía uni o bilateral.
6. Pacientes que no tengan ninguna determinación de HAM.
7. Pacientes con diagnóstico de Síndrome de Ovario Poliquístico.

Criterios de Eliminación

1. Pacientes que no puedan continuar con el tratamiento debido a que tuvieron una menstruación prematura, posterior a supresión hormonal.
2. Las que decidan no continuar en el estudio.

VARIABLES A ANALIZAR

VARIABLES DEPENDIENTES:

- Niveles séricos de la HAM
- FSH en día 3 del ciclo.
- LH en día 3 del ciclo.
- Estradiol en día 3 del ciclo.
- Prolactina en día 3 del ciclo.
- Indicación para reproducción asistida.
- Niveles de estradiol sérico en día 7 y día 10 del ciclo.
- Número de óvulos totales, inmaduros, maduros, Vesícula Germinal y degenerados.
- Índice de fertilización.
- Índice de división celular embrionaria.
- Número de embriones transferidos.
- Índice de implantación.
- Índice de embarazo clínico.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Edad.
- IMC.

Las parejas de pacientes que calificaron para ingresar en el programa de reproducción asistida, fueron evaluadas en función de los criterios de inclusión y exclusión, posteriormente a las mismas se le realizó:

- Determinación de FSH, LH, Estradiol y Prolactina (AXIM Systems de Abbott) en un día 3 del ciclo.
- Registro de peso: se empleó una báscula con una precisión mínima de 100 g, la cual se calibró antes de cada medición. El sujeto se colocó erguido en el centro de la báscula, con los brazos colgando lateralmente, inmóvil, descalzo, habiendo evacuado vejiga e intestino, en ayuno y con el mínimo de ropa.
- Registro de estatura: Se colocaron descalzas, de espaldas al dímetro; con los talones, glúteos, hombros y cabeza en contacto con el plano vertical. La cabeza se mantuvo erguida, con el borde orbitario inferior en el mismo plano horizontal que el conducto auditivo externo (Plano de Frankfurt), los brazos debieron colgar de manera libre al lado del tronco. Se trazo un plano horizontal perpendicular a la escala o al plano vertical que toque el vértice de la cabeza. La medida se registra en cm².
- Cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC) o índice de Quetelet: considerando el mismo como la razón entre el peso (expresado en kilogramo) y la estatura al cuadrado (expresada en metro) ($\text{Peso}/\text{Estatura}^2$).

Determinación Sérica de Hormona Anti-Mülleriana.

La medición de los niveles séricos de HAM, fue realizada por la técnica de Ensayo de Inmunoabsorción de Ligado a Enzimas (ELISA). Se utilizó el Kit. de AMH Gen ELISA, reactivo fabricado por la empresa Beckman Coulter Inc. Brea CA. U.S.A. con número de referencia A73818 y A73819.

Procedimiento de análisis

- Tomar 5 ml de sangre venosa periférica, con las precauciones recomendadas para la veno-punción,
 - Dejar reposar la muestra por 30 minutos para su coagulación.
 - Centrifugar la muestra a por 5 minutos para separar el suero a 1200 rpm.
 - Separar una alícuota de 2ml. de suero en un vial de plástico y se congela a -20 ° C.
 - El día del procedimiento todas las muestras y el reactivo se dejan a temperatura ambiente (25 ° C)
 - Agitar gentilmente los suavemente los estándares, controles y las muestras.
1. Marcar las tirillas de microplaca que se van a usar (se analizaron los estándares, controles y las muestras por duplicado)
 2. Pipetear 20µl de los estándares, controles, y muestras en cada pocillo correspondiente.
 3. Agregar 100 µl de buffer SIM/HAM a cada pocillo utilizando una pipeta de precisión.
 4. Incubar los pocillos agitando a 500 – 700 rpm en un agitador de microplacas orbital por una hora a temperatura ambiente 25° C.
 5. Aspira y lave cada pocillo 5 veces con solución de lavado (se utilizo una placa lavadora automática). Luego se seca invirtiendo la placa en un material absorbente.
- Nota: Modo de preparación de la solución de lavado*
En una probeta se hace una dilución 1:9 del concentrado de la solución de lavado con agua desionizada.
6. Añada 100 µl de la solución de conjugado anticuerpo-biotina en cada pocillo utilizando pipeta de precisión
 7. Incubar los pocillos agitanando de 500-700 RPM en un agitador orbital de placas por 60 minutos a una temperatura ambiente de 25 ° C

8. Aspire y lave cada pocillo 5 veces con la solución de lavar utilizando un lavador automático de placas y se seco invirtiendo la placa sobre material absorbente.
9. Añada 100 μ l de conjugado de enzima estreptavidina en cada pocillo utilizando una pipeta de precisión.
10. Incubar los pocillos agitando de 500 a 700 rpm en un agitador de microplacas por 30 minutos a una temperatura ambiente de 25 ° C
11. Aspire y lave cada pocillo 5 veces con la solución de lavado utilizando un lavador de microplacas automático. Invierta la placa sobre material absorbente para secar.
12. Añada 100 μ l de la solución de cromógeno TMB de cada pocillo utilizando una pipeta de solución
13. Incube los pocillos agitando de 600-800 RPM en un agitador de microplacas orbital de 8-12 minutos a temperatura ambiente (25° C)
14. Añada 100 μ l de solución de bloqueo (STOP) en cada pocillo utilizando una pipeta de precisión
15. Lea la absorbancia de la solución en los pocillos dentro de los 30 minutos utilizando un lector de microplacas (Lector de ELISA).Filtros que se utilizaron es de 450 nm y de 630 nm.
16. Hacer los cálculos para convertir las absorbancias a concentraciones de ng/ml., graficando absorbancia vs. concentración.

Protocolos de Estimulación:

Las pacientes sometidas a los TRA fueron sometidas a diferentes protocolos de estimulación según las características clínicas del caso.

Los esquemas de estimulación utilizados fueron los siguientes:

- Agonista de la GnRH en fase lútea tardía: acetato de leuprolide (Lucrin® kit, Abbott de México),. Dosis: 10 uds diario vía subcutánea desde el día 21 del ciclo previo hasta el día de la menstruación, posteriormente a partir del primer día de menstruación: A partir del primer día de menstruación: se administraron sólo 5 unidades vía subcutánea diariamente hasta el día de la administración de la Gonadotropina Coriónica Humana (GCh) (Choriomon®, Corne de México).

- El segundo día del ciclo se tomó un ultrasonido vaginal (Ultrasonido SIUI 5500 con transductor endovaginal multi-frecuencia) basal para confirmar características uterinas y endometriales, así como número y tamaño de folículos.

- Se aplicaron las dosis de FSH-rec (Gonal-F®, Serono de México) a partir del 2° día del ciclo. Posteriormente se determinaron estradiol sérico y ultrasonido en el día 7° del ciclo y a partir de ese día se individualiza la dosis administrada de gonadotropina recombinante utilizada, así como la adición o no de menotropinas urinarias (Merional®, Corne de México) a dosis de (75-150 UI/im/día) hasta alcanzar criterio de aplicación de la GCh a dosis de 10,000 UI dosis única vía intramuscular ; el mismo se considero al alcanzar 2 o más folículos de 18 Mm. diámetro. La aspiración folicular transvaginal se realizó con guía ultrasonográfica y se llevó a cabo a las 34-36 hrs. post aplicación de la GCh.

- Protocolo Antagonista.:

Se aplicaron dosis de FSH rec (Gonal-F®, Serono de México) a partir del día 2 del ciclo y posteriormente según evaluación ecográfica y desarrollo folicular (> de 2 folículos >14mm) se aplicaron 0.25mg de Cetrotide®, Serono de México. Utilizando los criterios de desarrollo folicular antes expuesto; se programó la aspiración folicular consecuente.

Aspiración Folicular:

- La Aspiración folicular se realizó por vía transvaginal con guía ultrasonográfica (ultrasonido Hitachi EUB-405 plus con transductor vaginal de 5 mHz).
- Lo óvulos obtenidos fueron contados y denudados en el laboratorio de gametos de reproducción asistida para su clasificación bajo un **microscopio de fase invertida**. Los óvulos maduros, en metafase II (MII), fueron inyectados 4 hrs. después de su obtención **micromanipulador**. Quedarán en **incubadora** Se verificó la fertilización entre 18 y 24 hrs. después y, según su desarrollo, se llevo a cabo la transferencia embrionaria a la cavidad uterina en el día 2 o día 3 post-inyección.

Soporte de Fase Lútea.

- Todas las pacientes fueron sometidas a suplementación de la fase lútea según el protocolo ya establecido en el I.E.C.H. a base de óvulos de progesterona de 400 mgs diarios por 14 días.
- A los 14 días post-transferencia se tomo una determinación cuantitativa de la sub-unidad beta de la gonadotropina coriónica GCh (AXIM Systems de Abbott); en caso de resultar positiva, se continuo con la suplementación de progesterona según el protocolo convencional del I.E.C.H. Monterrey; si resultaba negativa, se suspendía toda medicación.

ANALISIS ESTADISTICO:

Los datos fueron recolectados mediante una encuesta tipo cedula elaborada por los autores; y el análisis estadístico de la información se realizó evaluando la correlación entre las variables utilizando coeficientes de correlación de Spearman y la significancia estadística con la $p < 0.05$, y para la ejecución del mismo utilizamos los programa Windows SPSS software versión 14.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL) y Windows Excel .La diferencias entre los grupos de estudio de estableció utilizando un análisis de varianza (ANOVA).

Resultados.

La población final que se incluyó en el estudio para el análisis estadístico fue de 48 pacientes. Se analizaron un total de 48 ciclos continuos con estimulación ovárica controlada.

El promedio de edad del total de las pacientes incluidas en el estudio fue de 30 ± 7.91 años con rangos de edad entre 19 y 46 años; Índice de Masa Corporal (IMC) de 23.90 ± 4.03 Kg/mts²; Hormona Anti-Mülleriana de 2.53 ± 2.0 ng/dl ; ovocitos recuperados de 11.89 ± 6.5 e índice de madurez ovular de 75.11 ± 28.59 %.

Se dividió la población en 3 grupos según el número de ovocitos recuperados totales.

Se obtuvo en el **primer grupo de 0-5 ovocitos recuperados totales**, un promedio de edad de 38 ± 3.58 años, Índice de Masa Corporal de 22.53 ± 4.33 , Hormona Folículo Estimulante (FSH) de 8.78 ± 3.43 , de Hormona Anti-Mülleriana de 0.59 ± 0.40 y de ovocitos recuperados totales de 2.50 ± 2.11 .

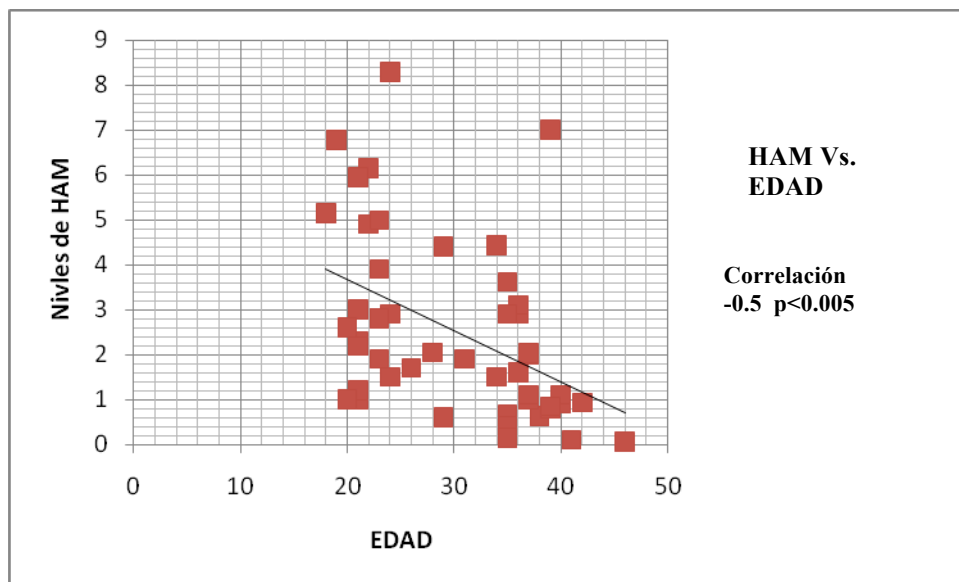
En el **segundo grupo de 6- 16 ovocitos recuperados totales** se encontró un promedio de edad de 27 ± 6.94 años, de Índice de Masa Corporal de 24.64 ± 4.31 , de Hormona Folículo Estimulante de 5.22 ± 1.65 , de Hormona Anti-Mülleriana de 2.27 ± 1.36 ng/dl y de ovocitos recuperados totales de 11.73 ± 1.19 .

En el **tercer grupo de 17 o mas ovocitos recuperados totales** se encontró un promedio de edad de 27 ± 7.67 años, de Índice de Masa Corporal de 23.47 ± 2.95 , de Hormona Folículo Estimulante de 4.55 ± 1.70 , de Hormona Anti-Mülleriana de 4.74 ± 1.97 ng/dly de ovocitos recuperados totales de 20.08 ± 2.64 . (**Tabla No. 1**)

TABLA No. 1	0-5 OVOCITOS (n=10)	6-16 OVOCITOS (n=26)	17 O MÁS (n=12)	Valor P
Edad	38.8 ± 3.58	27.69 ± 6.94	27.6 ± 7.67	<0.000
IMC	22.53 ± 4.33	24.64 ± 4.31	23.47 ± 2.95	0.344
FSH	8.78 ± 3.43	5.22 ± 1.65	4.55 ± 1.70	<0.000
Estradiol día 10	555.10 ± 489.64	2416.27 ± 1428.44	3564.75 ± 1678.39	<0.000
Folículo > 15 mm	2.30 ± 1.89	9.54 ± 3.89	11.58 ± 2.31	<0.000
HAM	0.59 ± 0.40	2.27 ± 1.36	4.74 ± 1.97	<0.000
Ovocitos Totales	2.50 ± 2.17	11.73 ± 1.19	20.08 ± 2.64	<0.000
Ovocitos Maduros	2.30 ± 2.11	9.15 ± 3.45	15.17 ± 3.83	<0.000

Al estudiar el comportamiento de la HAM según grupos de edad observamos que la misma exhibe una tendencia decreciente en relación con la edad, en nuestra población de estudio nuestros resultados máximos fueron: 8.29 ng/dl en pacientes con 24 años de edad y nuestros resultados mínimos fueron 0.04 ng/dl en grupo de 39 años de edad. Con respecto a la correlación entre la HAM y la edad observamos una tendencia inversamente proporcional entre las variables: de (-0.5) ($p < 0.005$). **(Figura No 1)**

Fig. No 1: Correlación entre Edad y HAM.



En nuestro grupo de estudio se le realizaron mediciones de HAM y perfil hormonal en Día 3 (FSH, LH, Estradiol) a todas nuestras pacientes; al establecer la correlación entre estos valores hormonales encontramos que la HAM tiene una correlación inversamente proporcional con respecto a la FSH d3 (-0.64) ($p < 0.001$) **(Figura No 2)**. Sin embargo no se encontró correlación con respecto a la LH d3 (-0.30) ($p: 0.04$) **(Figura No 3)**; ni a los niveles de Estradiol en D3 (-0.25) ($P: NS$). **(Figura No 4)**

Fig. No 2: Correlación entre FSH d3 y HAM.

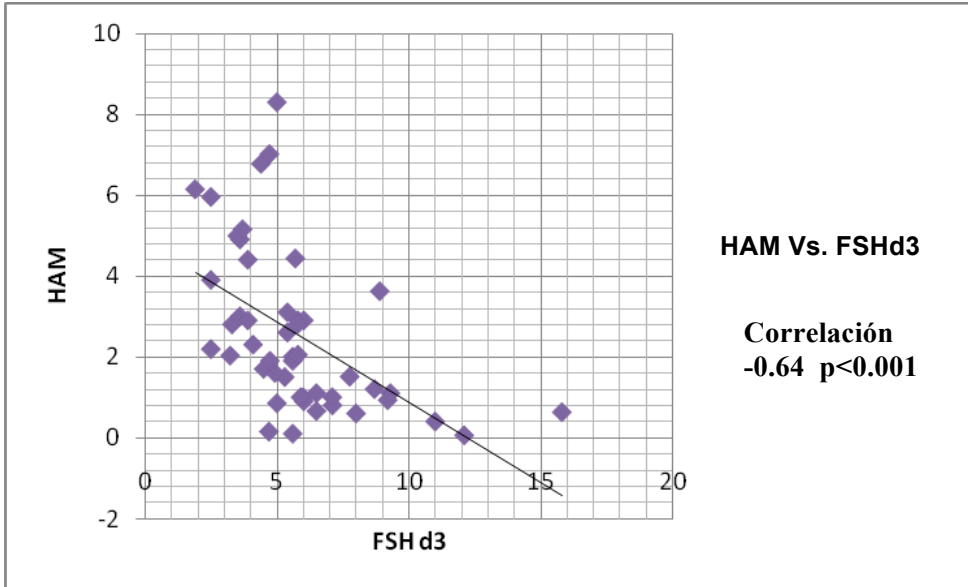


Fig. No 3: Correlación entre LH d3 y HAM.

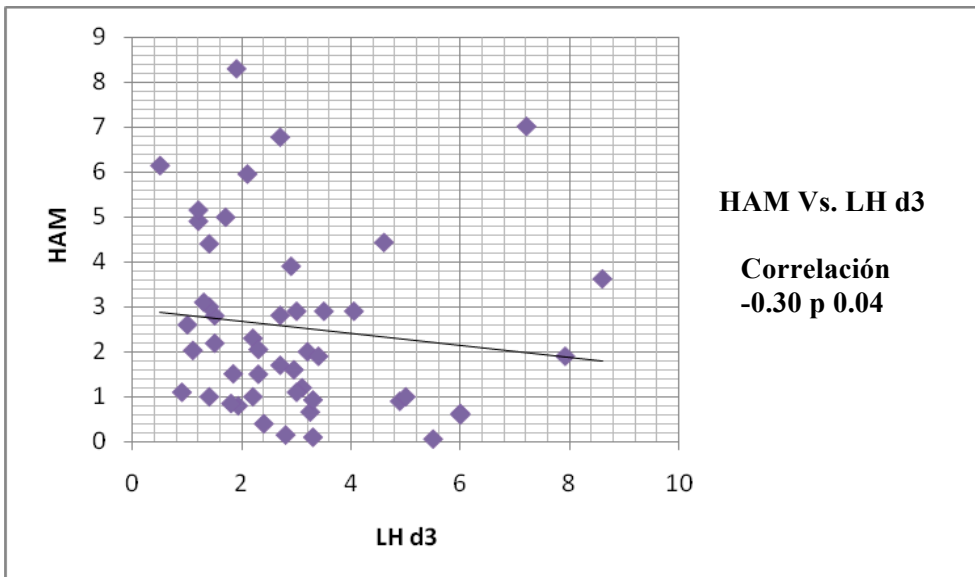
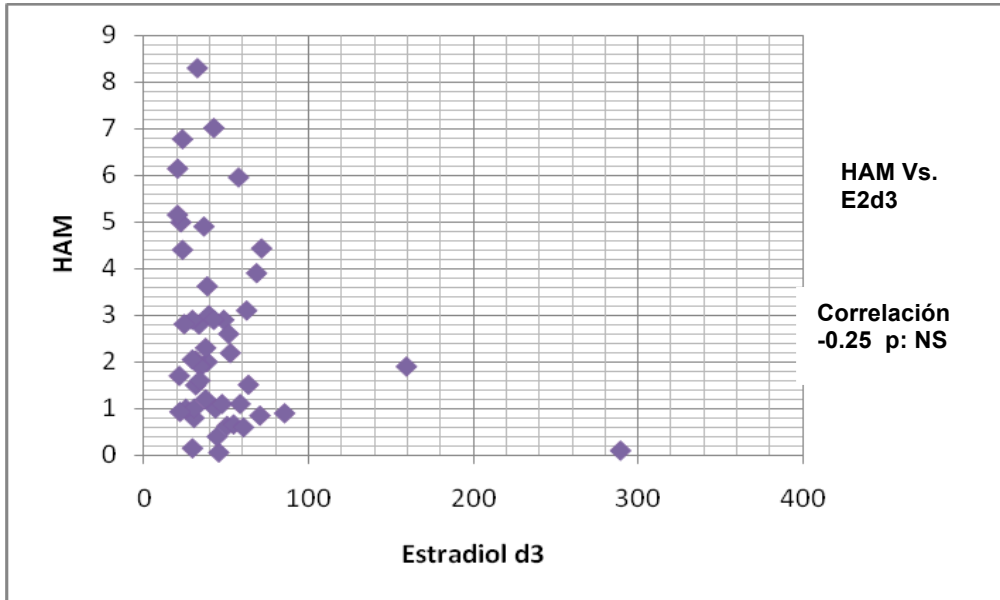


Fig. No 4: Correlación entre Niveles de Estradiol d3 y HAM.



Con respecto al pronóstico de la Estimulación Ovárica controlada se realizaron correlaciones entre los valores de hormona Anti-Mülleriana y respuesta folicular obtenida luego de la estimulación con gonadotropinas encontrando una relación directamente proporcional con los folículos totales de >15mm en día 10 (0.70) ($p < 0.0001$) (**Figura No 5**) al igual que los niveles de estradiol sérico en día 10 de estimulación: (0.62) ($p < 0.001$) (**Figura No 6**) sin embargo la correlación mas directa que se encontró en nuestro grupo de estudio fue la relación entre la HAM y el numero de ovocitos totales (0.84) ($p < 0.001$) (**Figura No 7**). Y en sentido al establecer la correlación entre la FSH día 3 y ovocitos totales se encontró una correlación significativamente menor (-0.47) ($p < 0.001$) (**Figura No 8**)

Fig. No 5: Correlación entre Folículos de >15mm D10 y HAM.

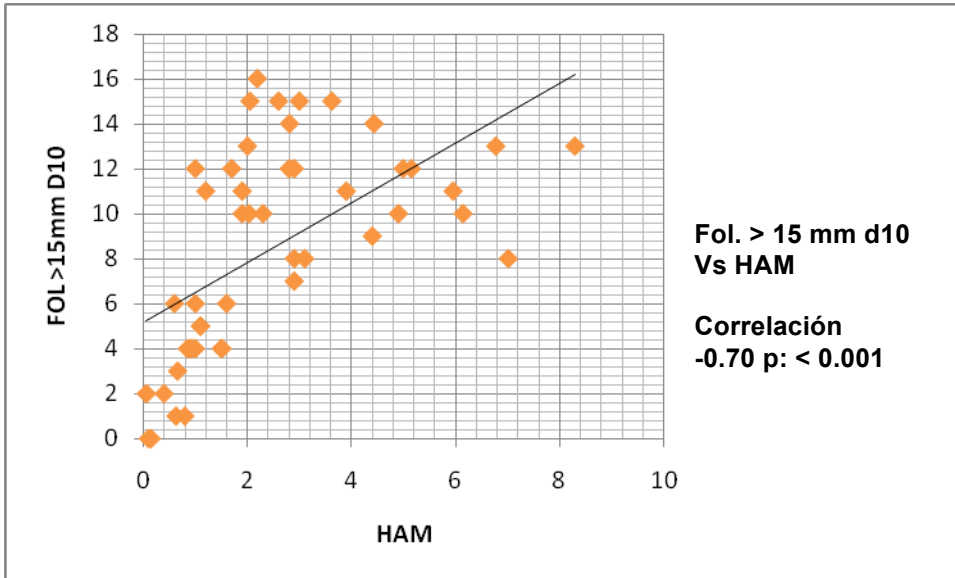


Fig No 6: Correlación entre Niveles de Estradiol D10 y HAM.

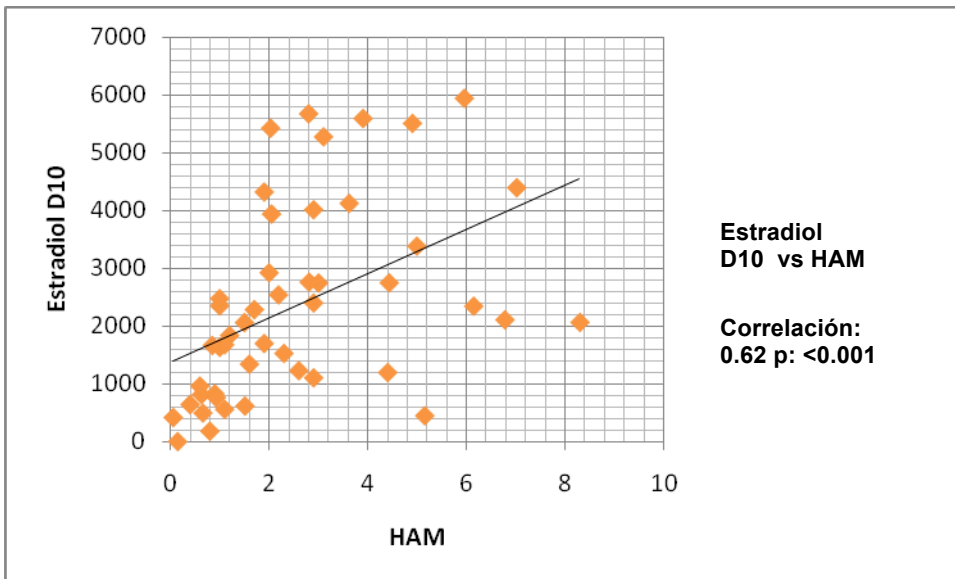


Fig No 7: Correlación entre No de Ovocitos Totales y HAM.

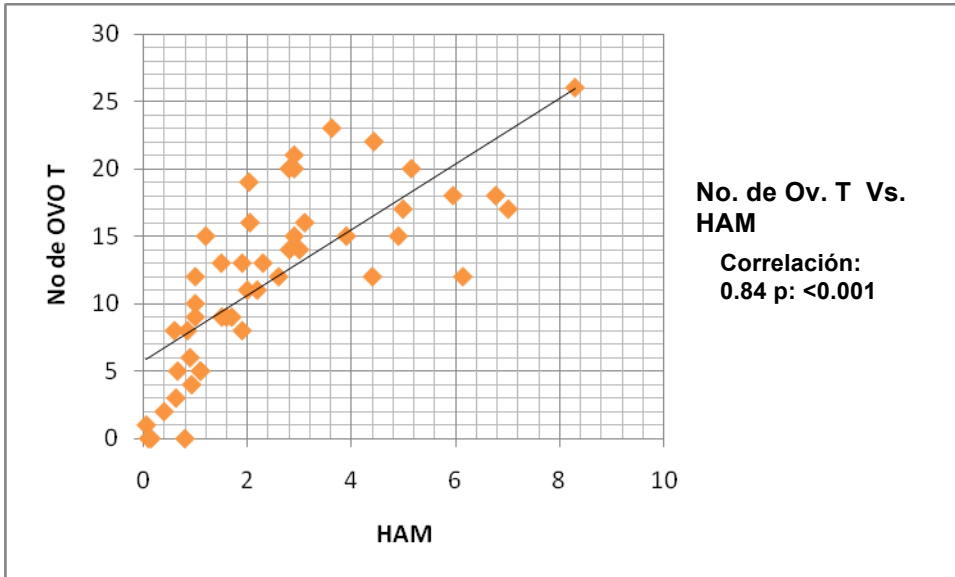
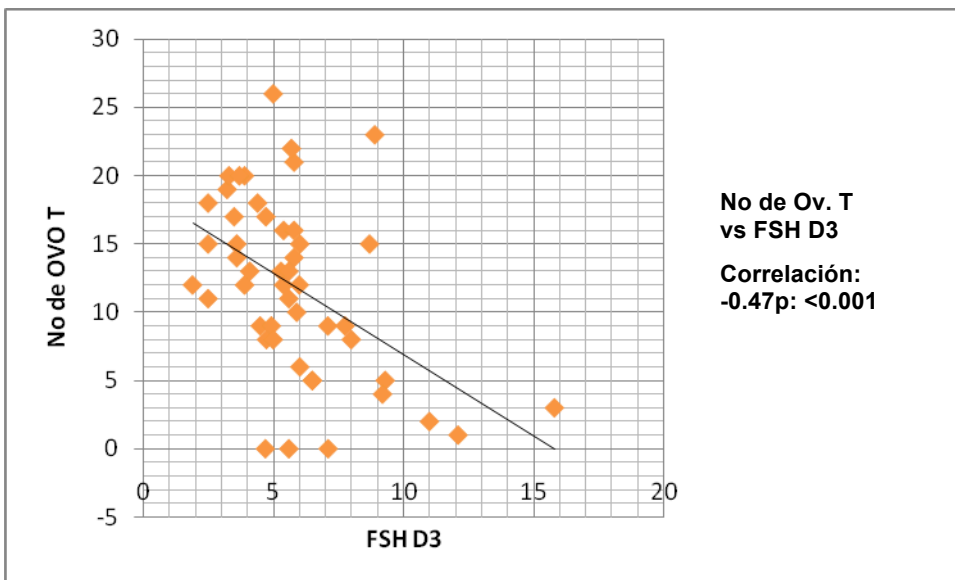
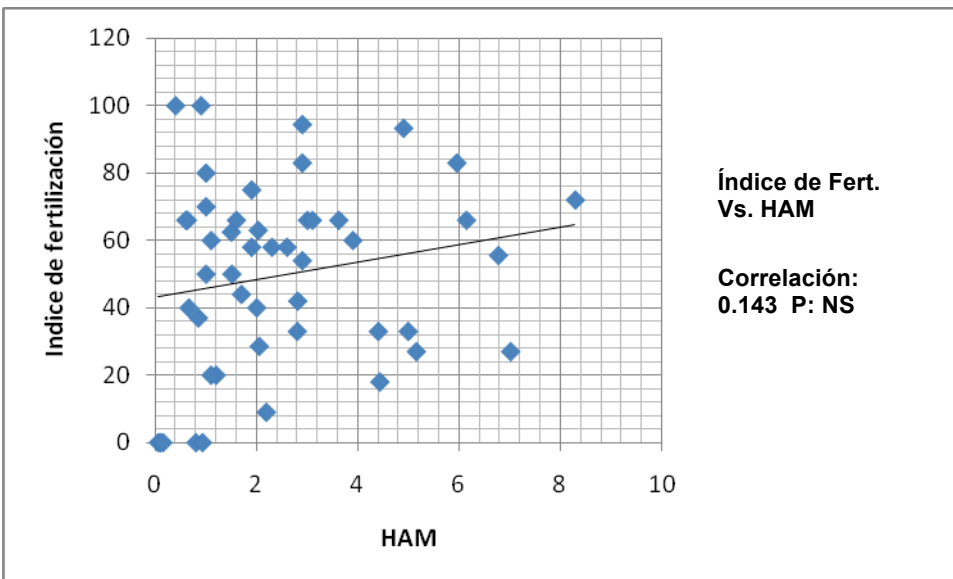


Fig No 8: Correlación entre No de Ovocitos Totales y FSH D3.



Finalmente no encontramos correlaciones significativas entre los niveles de la hormona y los índices de fertilización ($r = 0.143$) (p NS) , implantación (0.183) (P: NS)y embarazo clínico P: NS. **(Figura No 9)**.

Fig No 9: Correlación entre Índice de Fertilización y HAM



Discusión

Similar a series previas de pacientes **(42)**; en nuestra población la HAM se relaciona de manera decreciente en función de la edad; sin embargo en nuestro caso es importante destacar, hasta que rangos de valores esperamos en nuestras pacientes. Evaluamos un total de 48 pacientes de programa y reportamos valores que iban desde 0.04ng/dl hasta 8.29ng/dl.

Consecuentemente al evaluar los subgrupos de pacientes, en función de la recuperación de ovocitos totales posterior a la Hiperestimulación Ovárica Controlada, encontramos para nuestro grupo de respuesta baja (0-5 ovocitos) valores de HAM de 0.59 ± 0.40 ng/dl.; en el grupo de respuesta normal (6-16 ovocitos) valores de HAM de 2.27 ± 1.36 ng/dl y en el grupo de respuesta alta valores de HAM de 4.74 ± 1.97 ng/dl. Estos datos concuerdan con reportes previos, en donde grupos similares de pacientes obtuvieron valores de HAM de $0.91 \pm .55$ ng/dl; 3.04 ± 2.06 ng/dl y 5.56 ± 2.85 ng/dl. respectivamente según grupos de estudios Nardo y cols.**(41,43)**

La Hormona Anti-Mülleriana expresa una correlación inversamente proporcional con los niveles de FSH en día 3 (-0.64) similar a los resultados reportados por Ding y cols 2008 **(39)** y Singer y cols **(46)** quienes encontraron que valores de 0.5ng/dl de HAM se correlacionan con valores 12mIU/ml de FSH, sin embargo en cuanto a los marcadores hormonales como LH y estradiol a pesar de encontrar una relación inversamente proporcional la misma fue significativamente menor o nula respectivamente.

Es de conocimiento general la importante utilidad del perfil hormonal en el día 3 del ciclo menstrual, en pacientes bajo tratamiento de protocolos de estimulación ovárica controlada; en este sentido el objetivo principal de nuestro estudio es establecer la correlación que pudiésemos obtener con este nuevo marcador de reserva ovárica y la respuesta consecuente. Sorprendentemente la HAM demostró en nuestro grupo estudio una correlación positiva de hasta (0.84) Vs. la FSH en día 3 que nos reporta una correlación de solo (-0.47) para predecir el número de ovocitos totales posterior a una estimulación ovárica controlada. Estos resultados fueron reportados previamente por: Cem Fişcioglu y cols 2006 **(35)** y La Marca 2010 **(41)** ; estos autores como otros grupos han propuesto la utilización de la HAM como marcador sérico único de la reserva ovárica. Una vez establecida estas mediciones de manera rutinaria en nuestras pacientes; estudios posteriores tendrían como objetivos establecer cuales es

Sensibilidad y Especificidad de la prueba para predecir no solo pobre respuesta si no también sobre respuesta y la integración de los valores en los esquemas de estimulación ovárica como ha sido propuesto por Nelson y cols 2009 **(47)**, pudiese orientar de manera más fidedigna las dosis y el tipo de estimulación para cada caso en particular.

Al ser una valoración hormonal dependiente solamente de la secreción ovárica por las células de la granulosa, y no dependiente del eje hipotálamo hipofisario ; la Hormona Anti-Mülleriana ha sido propuesta como predictor del el pronóstico de desarrollo embrionario y pronóstico de embarazo como en los estudios de Norbert Gleicher y cols **(44)** quien ha reportado tasas bajas de nacido vivo con valores $<1.05\text{ng/dl.}$, sin embargo en nuestro estudio dicha correlación no fue observada.

Este es el primer estudio regional que explora la capacidad de correlación de la Hormona Anti-Mülleriana con los parámetros usuales de la estimulación ovárica controlada. Para nosotros es de suma importancia establecer valores de referencia y su relación con la respuesta a la hiperestimulación ovárica controlada. Como ya ha sido demostrada en otros países, la naturaleza de nuestros hallazgos parecen indicar que la Hormona Anti-Mülleriana es más que un marcador de pobre respuesta a la estimulación; ya que a partir de la misma existe una correlación poderosa con el numero de ovocitos obtenidos. El familiarizarnos con la interpretación de la prueba nos permitirá orientarnos a nuevas investigaciones clínicas, que nos permitan explorar su capacidad como herramienta de orientación hormonal no solo cuantitativa, si no también cualitativa, en los ciclos de estimulación ovárica controlada como ha sido propuesta por Fanchin y cols y La Marca y cols. **(41,45)**.

HOJA DE CAPTURA DE DATOS:

CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE LA HORMONA ANTI-MÜLLERIANA (HAM) CON LA RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA (H.O.C.). EN PACIENTES BAJO TRATAMIENTO DE REPRODUCCION ASISTIDA.

Fecha-----

Nombre----- No. de afiliación-----

Indicación para reproducción asistida

Edad _____

Peso.....kgrs.

Estatura.....mts

IMC _____

Ahf.....a) diabéticos.....b) oncológicos.....c) htas.....d) Depresivos.....

App.- a) diabéticos.....b) oncológicos.....c) htas.....d) depresivos.....

Ago.- a)menarca.....b)ciclos.....c)g.....d)p.....e)a.....f)c.....

Mpf.....a) anticonceptivos orales.....

b) Inyectables.....

c) DIU.....

d) *Otb*.....e) *otros*.....

Cuanto tiempo; esterilidad a) < 1 año b) 1-3 años c) > 3 años

Niveles séricos de la hormona anti muleriana..... ng/dl.

FSH en el día 3.....

Lh en el día 3.....

Estradiol en el día 3

Prolactina en el día 3

No. De folículos mayores de15 mm en el día 10 del ciclo

Niveles de estradiol sérico en el día 7 y 10 del ciclo

Número de óvulos totales obtenidos-----

Inmaduros-----maduros----- postmaduros----- vesícula germinal

Índice de fertilización

Índice de división celular embrionaria

Número de embriones transferidos

Índice de implantación

Índice de embarazo clínico

Referencias Bibliográficas

1. Scott and Hoffman. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fértil Steril.* 1995; 63:1-11.
2. Beckman A and Heinemann MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with sub fertility. *Hum Reprod Update.* 2001; 7:581-590.
3. Gruijters MJG, Visser JA, Durlinger ALL, Themmen APN. Antimullerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol.* 2003; 211: 85-90).
4. Josso N, Picard JY, Tran D. The anti-Müllerian hormone. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1977; 13: 59–84.
5. Josso-N, The role of anti-Müllerian hormone in gonadal development. *Mol Cell Endocrinol.* 1998; 145: 3–7.
6. Rajpert-DeMeyts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Cate RL and Skakkebaek NE. Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84. 3836–3844.
7. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, Hasegawa Y, Noto RA, Schonfeld D, MacLaughlin DT. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 571-576).
8. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, Grootegoed JA. Antimüllerian 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.
9. Fauser-B. Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences. *Endocr Rev.* 1997; 18:71–106.
10. DeVet- A, Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril.* 2002; 77: 357–362.
11. Van Rooij IA, Broekmans FJ, Te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH and Themmen AP. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod.* 2002; 17: 3065–3071.

12. Richardson SJ and Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition. *Ann NY Acad Sci.* 1990; 592:13–20 ● Te Velde ER and Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum. Reprod. Update.* 2002; 8: 141–154.
13. Te Velde ER and Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update.* 2002; 8: 141–154.
14. Fanchin R, Schonaüer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod.* 2003; 18:323-327.
15. Farhi J, Homburg R, Ferber A, Orvieto R and Ben-Rafael Z. Serum anti-müllerian hormone dynamics during controlled ovarian stimulation hormone levels. *Hum. Reprod.* 2003; 18: 328-332.
16. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B and Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil.Steril.*2002;77, 468 – 471.
17. Fanchin R, Schonaüer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R and Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum.Reprod.*2003; 18, 328–332.
18. Bukulmez, Orhan; Arici, Aydin. Assessment of ovarian reserve. *Current opinion in obstetrics and gynecology.* 2004, 16:3, 231-237.
19. Peñarrubia-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(4), 915-922.
20. La Marca-A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum.Reprod.* 2006. 21(12), 3103-3107.
21. La Marca-A, Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum.Reprod.*2007. Vol.22, No3. pp.766-771.

22. Eldar-G, Dynamic assays of inhibin B, anti-Müllerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. *Hum.Reprod.*2005. 20(11), 3178-3183.
23. Méduri-G, Serum anti-Müllerian hormone expression in women with premature ovarian failure. *Hum.Reprod.*2007; Vol.22, No.1 pp.117-123.
24. Seifer- D, Müllerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil.Steril.*2007;88:539-46
25. Fleming R, Metformin reduces serum müllerian-inhibiting substance levels in women with polycystic ovary syndrome after protracted treatment. *Fertil.Steril.*2005; 83:130-6.
26. La Marca-A, The Anti-Müllerian hormone and ovarian cancer. *Human Reproduction Update.* 13(3), 265-273, 2007.
27. Freeman E., Gracia C. Association of anti-müllerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women. *Fertility and Sterility.* 87(1). 101-107. 2007.
28. McIlveen M., Skull J., Ledger W. 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. *Human Reproduction.* 22(3), 778-785. 2007.
29. Maheshwari A., Fowler P., Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve-should we perform tests of ovarian reserve routinely?. *Human Reproduction.* 21(11), 2729-2735. 2006.
30. Haadsman M., Bukman A. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve test in a subfertile population. *Human Reproduction.* 22(7), 1925-1931. 2007.
31. Smeenk Jesper M. Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility.* 87(1). 223-226. 2007
32. Scheffer G., Broekmans F. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Human Reproduction.* 18(4). 700-706. 2003

33. Bukman A., Heineman M. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Human Reproduction Update*, 7(6), 581-590, 2001.
34. Broekmans F., Kwee J. A systematic review of test predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update*. 12(6), 685-718, 2006.
35. Ficiocioglu-C, Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve. *Fertil. Steril.* 2006; 85:592-6.
36. Nakhuda-L, Elevated serum müllerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 2006;85:1541-3.
37. Seifer D., MacLaughlin D. Müllerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertility and Sterility*. 88(3) 2007.
38. Freeman-E, Association of anti-müllerian hormone levels with obesity in late reproductive –age women. *Fertil. Steril.* 2007; 87:101-6.
39. Ding-J, Anti-Müllerian hormone (AMH) is a better predictor of ovarian reserve than day-3 FSH and is positively correlated to conceptions during IVF/ET cycles. *Fertil. Steril.* 2008; Vol.90.
40. Streuli-I, Serum anti-müllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil. Steril.* 2008; 9:935-400.
41. La Marca-A, Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update*, vol.16, No.2 pp.113-130, 2010
42. Seifer-D, Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil. Steril.* 2011;95:747-50
43. Nardo-L, Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 2009;92: 1586-93

44. Gleicher-N, Anti-Müllerian hormone (AMH) defines, independent of age, low versus good live-birth chances in women with severely diminished ovarian reserve. *Fertil. Steril.* 2010;94:2824-7.
45. Fanchin-R, Louafi-N, Mendez-D, Frydman-N, 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.* 2005;84:167-73
46. Singer-T, Barad-D, Weghofer-A, Correlation of antimüllerian hormone and baseline follicle-stimulating hormone levels. *Fertil. Steril.* 2009;26:16-9.
47. Nelson-S, Yates-R, Lyall-H, Anti-Müllerian hormone-based a approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum. Reprod.* 2009. Vol. 24, No 4 pp. 867-875, 2009

Anexos

ANEXO No. 1 FORMA DE CONSENTIMIENTO.

CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE LA HORMONA ANTI-MÜLLERIANA (HAM) CON LA RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA (H.O.C.). EN PACIENTES BAJO TRATAMIENTO DE REPRODUCCION ASISTIDA.

Página No. 1

Título del proyecto: CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE LA HORMONA ANTI-MÜLLERIANA (HAM) CON LA RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA (H.O.C.). EN PACIENTES BAJO TRATAMIENTO DE REPRODUCCION ASISTIDA.

Investigadores:

Investigador principal: Dr. Karlo Alberto Mojica Martínez.

Investigador asesor: Dr. Víctor Alfonso Batiza Resendiz

Investigadores asociados: Dr. Roberto Santos Haliscak, Dr. Pedro Calache Vega, Pablo Díaz Spíndola.

Patrocinador: I.E.C.H

Teléfono:

Monterrey, N.L.

Dr. Víctor Alfonso Batiza Resendiz.

(81) 8333 6084, cel (24 hrs): 045 818253 0792.

Propósito:

Se me ha solicitado participar, en forma voluntaria, en un estudio de investigación con el fin de determinar la correlación de la Hormona Anti-Mülleriana en la respuesta de mis ovarios a la hiperestimulación ovárica para el programa de reproducción asistida al que ingresaré. Soy candidata a este estudio porque como parte de mi tratamiento yo requiero ser sometida a la hiperestimulación ovárica.

La participación en este estudio autoriza el uso de los datos obtenidos (no identificatorios) con fines estadísticos y de publicación. Se me ha explicado que mi participación consistirá en permitir que se tomen 5 ml. de mi sangre para determinar los niveles de la Hormona Anti-Mülleriana. No recibiré compensación de ningún tipo.

Riesgos:

La participación en el estudio no me expone a riesgos adicionales más allá de los implícitos en el procedimiento electivo de diagnóstico y tratamiento de mi condición por esterilidad.

Beneficios:

Los beneficios que yo recibiré de la participación en este estudio serán el conocimiento de que he contribuido al entendimiento de la fisiología básica folicular y a mejorar el conocimiento sobre algunas formas para pronosticar de manera más efectiva la respuesta de los ovarios a gonadotropinas exógenas en programas de reproducción asistida.

Confidencialidad:

Cualquier información obtenida acerca de mí en esta investigación, incluyendo los datos de mi historia clínica y examen físico, serán conservadas de manera confidencial. Nunca seré identificado por mi nombre en ningún reporte o publicación.

Preguntas:

Cualquier pregunta concerniente sobre mi participación en este estudio será dirigida en Monterrey, N.L. al Dr. Víctor Alfonso Batiza Resendiz.

Página No. 2

Abandono del estudio:

Soy libre de rescindir mi consentimiento a la participación en este estudio en cualquier momento sin perjuicio contra mi tratamiento médico presente o futuro en esta institución.

Derechos del sujeto:

Si deseo más información acerca de mis derechos como participante de esta investigación, puedo contactar a cualquiera de los investigadores para que se me proporcione cuanta información existente me parezca necesaria y hasta que se aclaren todas mis dudas.

Acuerdo:

He leído y he recibido una copia de esta forma de consentimiento. Estoy de acuerdo en participar en este estudio de investigación.

Firma del paciente

Nombre del paciente y fecha

Firma del investigador

Nombre del investigador y fecha

Firma del testigo

Nombre del testigo y fecha