Premios Biología - Curso SAMeR

Hormona antimülleriana. Reserva ovárica y reserva testicular

Samanta Unger, Helga Beraja Pizzoglio

Reproducción 2010; 25:137-153

Introducción

La reserva ovárica, representada por la cantidad de folículos y la calidad ovocitaria, disminuye con la edad de la mujer, resultando en la disminución de su función reproductiva. Si bien la edad promedio de la menopausia es de 51 años, hay una gran variabilidad individual. Para una mujer sería de gran utilidad poder predecirla unos años antes de que ésta ocurra y cese por completo su capacidad reproductiva. Varios son los *tests* que se utilizan para evaluar la reserva ovárica: hormona folículo-estimulante (FSH), inhibina B, estradiol y CFA (Conteo de Folículos Antrales), pero ninguno de ellos se modifica con tanto tiempo de anticipación.

La hormona antimülleriana (AMH) es producida por las células granulosas de los folículos preantrales (primarios y secundarios) y antrales pequeños. Actúa inhibiendo el reclutamiento de los folículos primordiales, así como también la fase de crecimiento folicular dependiente de FSH. Al expresarse exclusivamente en las células granulosas de los folículos no seleccionados, se convierte en un candidato ideal para representar tanto la cantidad como la calidad del *pool* de folículos ováricos.¹

Se ha demostrado que los niveles séricos de AMH decrecen a lo largo del tiempo en mujeres normo-ovuladoras, inclusive cuando el patrón menstrual todavía es regular, identificando a las mujeres que se encuentran en el estadío tardío de su edad reproductiva. Otros marcadores no cambian durante este intervalo de tiempo. Es por ello que se ha propuesto a la AMH como el marcador más sensible para predecir el período de transición hacia la menopausia.²

La medición de la AMH sérica podría ser de gran utilidad para las mujeres que realizan tratamientos de fertilidad ya que el envejecimiento ovárico produce una baja respuesta a la administración exógena de gonadotrofinas y una baja

tasa de embarazo.3

También sería una gran herramienta de ayuda para el diagnóstico de varias disfunciones ováricas y causas de amenorrea secundaria; como ser el síndrome de ovario poliquístico (PCO), la Falla Ovárica Precoz (FOP) y la disfunción del eje hipotálamo-hipofisario.⁴

La AMH puede ser también de utilidad para representar la función sertoliana y la espermatogénesis. Esta hormona en el varón es secretada por las células de Sértoli. Estudios recientes han demostrado la importancia de las concentraciones seminales de la AMH como marcador de la espermatogénesis, pero sus concentraciones en sangre no han sido lo suficientemente investigadas en adultos para la evaluación de desórdenes en la misma. La implicancia clínica de la AMH en el hombre puede tener cabida al igual que la inhibina B para predecir el resultado de un TESE (extracción testicular de espermatozoides) o biopsia testicular.

Recientemente se ha demostrado que la AMH es un marcador muy sensible y específico para detectar en forma temprana las recurrencias de los tumores de las células de la granulosa en pacientes ooforectomizadas a causa del tumor primario.

En esta monografía, "Hormona antimülleriana. Reserva ovárica y reserva testicular", trataremos y actualizaremos cada uno de los temas anteriormente mencionados.

Desarrollo

Reserva ovárica

Durante la vida fetal las células somáticas rodean a las células germinales del ovario y forman los folículos primordiales. Este *pool* de folículos serán los que acompañen a la mujer durante toda su vida reproductiva. Al nacimiento se encuentran presentes un millón de folículos, pero esta cantidad va decreciendo progresivamente y cuando la mujer llega a la pubertad cuenta ya con 300.000 de estos folículos, de los cuales sólo 500 serán ovulados y tendrán la posibilidad de ser fertilizados. A lo largo de la vida algunos de los folículos primordiales comenzarán a crecer y formarán el pool de folículos en crecimiento. Las células de la granulosa adoptarán una forma columnar y comenzarán a proliferar, proceso conocido como reclutamiento. La mayoría de estos folículos resultarán en atresia a menos que sean rescatados por la FSH. Este proceso es conocido como selección.⁵ De la cohorte de folículos rescatados, solo un folículo será seleccionado para ser el dominante y ser el ovulatorio bajo el estímulo de la hormona luteinizante (LH). Este proceso se repite a lo largo de la vida de la mujer hasta que el *pool* de folículos primordiales se agote con la consecuente disminución de la fertilidad. Esto comienza a suceder a partir de los 37 años, pero es más marcado en los años previos a la menopausia.²

En el mundo occidental la edad promedio de la menopausia es de 51 años. Esta edad cambia de un individuo a otro con la consiguiente variación en el comienzo de la subfertilidad. Es por este motivo que la edad cronológica, si bien es de suma importancia, muchas veces no se corresponde con la edad reproductiva y, por ende, con la reserva ovárica.³

Para la evaluación de la reserva ovárica se realiza el dosaje de FSH, inhibina B y estradiol en fase folicular temprana. Tanto la inhibina B como el estradiol son producidos por los folículos antrales tempranos en respuesta al estímulo de la FSH.

Estos factores forman parte de un sistema de retroalimentación; sus niveles en sangre son dependientes de los valores del resto. Cuando el *pool* folicular disminuye, también disminuyen las concentraciones de inhibina B y estradiol con el consecuente aumento de FSH.

Antes del comienzo de la perimenopausia hay un estadío llamado "fase reproductiva tardía" que se caracteriza por presentar niveles de FSH ligeramente elevados con ciclos regulares. Los niveles de FSH comienzan a aumentar en promedio a partir de los 35 años, pero existe un

aumento fisiológico en mujeres menores debido a un polimorfismo del receptor y no a causa del envejecimiento prematuro del ovario.² Los cambios más evidentes en los niveles de FSH ocurren cuando los ciclos ya son irregulares.⁶

La inhibina B comienza a disminuir antes que el aumento de la FSH, por eso se cree que podría ser un marcador más temprano.²

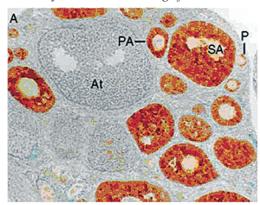
Otro buen predictor de la reserva ovárica es el Conteo de los Folículos Antrales por ecografía (CFA) que debe realizarse también en fase folicular temprana. Hace algunos años se descubrió que la AMH reflejaba el número de folículos que habían hecho la transición de folículo primordial a folículo en crecimiento y que, además, era independiente del control gonadotrófico. Es por ello que se comenzó a utilizarla como marcador de la reserva ovárica.³

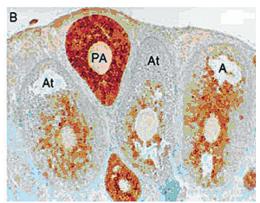
Hormona antimülleriana

La AMH, también conocida como sustancia inhibitoria mülleriana (MIS), es un péptido miembro de la familia de los factores de crecimiento, TGFβ. Esta hormona se expresa fuertemente en las células de Sértoli desde la diferenciación testicular hasta la pubertad y en menor grado en las células de la granulosa del ovario desde el nacimiento hasta la menopausia. La AMH parecería actuar sólo en los órganos reproductivos. Es bien conocida su participación en la diferenciación sexual.⁷

El gen SRY se encuentra en el brazo corto del cromosoma y es el factor determinante del desarrollo testicular. Las células de Leydig y de Sértoli (células somáticas testiculares) producen tres hormonas que son esenciales para la correcta diferenciación del individuo en masculino. La testosterona, producida por las células de Leydig, interviene en la diferenciación del conducto de Wolff que desarrollará el epidídimo, vasos deferentes y vesículas seminales. El factor insulino símil 3 (IGF-3), también producido por las células de Leydig, es esencial para la primera fase del descenso testicular. La AMH, producida por las células de Sértoli, interviene en la regresión del conducto de Müller, que en la mujer se diferencia en las trompas de Fallopio, útero y tercio superior de la vagina. En ausencia de la AMH, el conducto de Müller persiste, y se desarrollarán estos órganos a pesar de tratarse de un individuo XY.

Figura 1. Expresión de la AMH en ovarios de ratón. A) AMH se expresa en las células granulosas de los folículos primarios (P), preantrales (PA) y antrales pequeños (SA). B) La expresión de la AMH desaparece en los folículos antrales (A) y atrésicos (At). Se utilizó un anticuerpo monoclonal que reconoce la AMH humana y de ratón con una magnificación de x 200³.





Durante la vida fetal sólo los testículos masculinos expresan la AMH. En la mujer comienza a expresarse mayormente en la vida post-natal y actúa modulando el crecimiento folicular y previniendo el reclutamiento de los folículos no dominantes.⁸

Hay estudios realizados en roedores que demuestran que la expresión de la AMH comienza inmediatamente después del proceso de reclutamiento, cuando las células pregranulosas planas de los folículos primordiales se diferencian en células granulosas cilíndricas. La expresión es aún mayor en las células granulosas de los folículos preantrales y antrales pequeños, y luego va disminuyendo con los estadíos subsiguientes del desarrollo folicular. En los estadíos dependientes de FSH y en los folículos atrésicos ya no se observa la expresión de la AMH.⁹

Estudios para investigar la dinámica folicular y el rol de la AMH se han realizado en ratones deficientes de la AMH (AMH-null mice). En los ovarios de estos ratones de 4 meses de edad se encontraron el triple de folículos en crecimiento que en los ratones que contenían AMH (wild-type mice) acompañado de una disminución del pool de folículos primordiales. El aumento del número de los folículos en crecimiento había comenzado ya a los 25 días post-natales, previo al comienzo del ciclo estrogénico. Este aumento del reclutamiento provocó luego de unos meses, a los 13 meses de edad, un agotamiento prematuro del pool de folículos primordiales. Toman-

do como referencia de ovulación la presencia del cuerpo lúteo, se comprobó que el 56% de los AMH-null mice habían dejado de ovular a los 16-17 meses de edad, mientras que el 82% de los wild-type mice continuaban ovulando. Estos resultados indicarían que la AMH tendría un efecto inhibitorio en el reclutamiento folicular y que en ausencia de ésta, la tasa de reclutamiento se produce en forma más acelerada.

Basado en los bajos niveles de FSH dosados en los AMH-*null mice*, en comparación a los niveles de FSH encontrados en los *wild-type mice*, y el gran número de folículos en crecimiento, se puede decir que en ausencia de la AMH los folículos son más sensibles a la FSH.¹⁰ En cultivos de células granulosas la AMH inhibe la inducción de la FSH sobre la actividad de la aromatasa y la expresión del receptor de LH. Estudios *in vivo* en los cuales se fueron agregando diferentes concentraciones de FSH observaron mayor número de folículos en crecimiento en los AMH *null-mice* que en los *wild-type mice*, tanto con bajas como altas dosis de la misma.¹¹

Este efecto inhibitorio de la AMH sobre la sensibilidad de los folículos a la FSH parecería jugar un rol en el proceso de selección. Se cree que cada folículo posee su propio umbral a la concentración de FSH que tiene que ser superado para permitir la selección del mismo. Algunos folículos presentan una menor expresión de AMH que otros. Éstos serán más sensibles a la FSH (disminuye el umbral a la FSH) y con-

tinuarán su crecimiento para poder ser ovulados en el ciclo siguiente.³

A pesar de que la mayoría de los estudios están basados en roedores, los hallazgos también pueden aplicarse al ovario humano.¹² Si bien se observa la expresión de AMH en los folículos primarios de los ratones a los 3 ó 4 días postnatales,9 en las mujeres la expresión de la misma puede observarse en las células granulosas de los folículos primarios a partir de las 36 semanas de gestación.¹³ Recién en la vida post-natal y en los folículos preantrales y antrales pequeños (≤ 4 mm) la expresión es aún mayor. La expresión de AMH continúa en los folículos en crecimiento y desaparece cuando éstos alcanzan un tamaño en el que pueden ya ser seleccionados por la FSH. En el ratón ocurre en el estadío antral temprano,14 mientras que en la mujer ocurre cuando los folículos alcanzan un tamaño de 4-6 mm. En los folículos atrésicos y en las células de la teca no se observa expresión de AMH.¹⁵

La AMH se expresa en los folículos que ya fueron reclutados, pero que aún no fueron seleccionados para ser dominantes. Previo y posterior a estos dos puntos la AMH no se expresa. Esto indica que la AMH jugaría un rol importante tanto en la regulación del número de folículos en crecimiento (inhibiendo el reclutamiento) como de su selección para ser ovulados (inhibiendo a la FSH). De esta manera se convierte en un marcador clave del tamaño del *pool* folicular (Figura 2).⁵

Ahora bien, ¿en qué momento del ciclo debemos solicitar la AMH? Varios son los trabajos que encontramos, pero hay algunas controversias al respecto. Si bien Wunder y col concluyen que los niveles de AMH durante el ciclo menstrual presentan cambios estadísticamente significativos, ¹⁶ el resto de los trabajos no coinciden con esto.

En un estudio realizado por Cook y col en el año 2000 se midieron los niveles séricos de AMH en tres fases diferentes del ciclo menstrual (folicular, ovulatoria y lútea), observando una mínima fluctuación.¹⁷ Esto puede explicarse por el continuo crecimiento de los folículos pequeños que producen AMH.

Se les extrajo sangre a doce mujeres sanas y jóvenes (18-24 años) a lo largo de un ciclo menstrual y se midieron los niveles de FSH, LH, estradiol, progesterona, inhibina B y AMH. Los niveles de AMH en los primeros días del ciclo (días -14 a -12) fueron de 3,8 +/- 1,2 ng/ml. No se observaron cambios significativos de la AMH a través del ciclo. El valor más alto fue de 3,9 +/- 1,3 ng/ml en el día - 12 y el menor valor fue de 3,4 +/- 1,1 ng/ml en el día 14, y la diferencia no fue significativa (Figura 3).8

El resto de las hormonas que fueron estudiadas demostraron variaciones significativas a lo largo del ciclo menstrual ya que forman parte de un complejo sistema de retroalimentación del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Un marcador sérico que no se encuentre bajo el control gonadotrófico, como lo es la AMH, sería un candidato ideal para evaluar la actividad ovárica.

En otro trabajo de Hehenkamp y col¹⁸ se estudiaron los niveles de FSH, LH, estradiol y AMH a lo largo de un ciclo menstrual de 44 mujeres y las conclusiones fueron similares a las del estudio de Cook y col Las variaciones de AMH en un ciclo menstrual normal son mínimas, por lo tanto, un solo dosaje de AMH en cualquier momento del ciclo es válido para estudiar la actividad ovárica.

Figura 2. La AMH es producida por los folículos pequeños en crecimiento y tiene un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento folicular y la fase de selección dependiente de la FSH.⁵

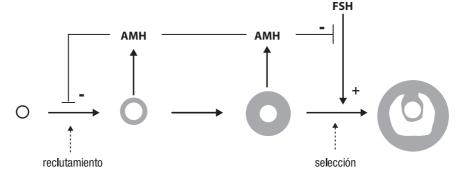
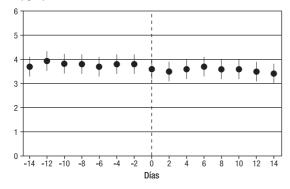


Figura 3. Patrón circulatorio de la AMH a lo largo del ciclo menstrual. Día 0 = ovulación.8

AMH (ng/ml)



Hormona antimülleriana: marcador de reserva ovárica

El envejecimiento ovárico (disminución de la reserva ovárica) se refleja en la disminución del tamaño del *pool* de folículos primordiales. La medición directa de éstos es imposible. Sin embargo, el número de folículos en crecimiento refleja en forma indirecta el número de los primordiales. Se necesita de un factor que se exprese solamente en los folículos en crecimiento hasta su selección⁹ y que pueda ser medido en suero.

Se utilizan varias técnicas para evaluar la reserva ovárica. El CFA por ecografía transvaginal informa sobre el número de folículos en crecimiento, brindando información del tamaño del *pool* de folículos primordiales. La FSH y la inhibina B también son buenos predictores de la reserva ovárica.

Como expusimos anteriormente, la AMH sólo se expresa en las células de la granulosa de los folículos en crecimiento hasta el momento en que son seleccionados, estadío dependiente de FSH. Por lo tanto, sería un candidato ideal como marcador de la reserva ovárica ya que reflejaría el *pool* de folículos primordiales.

En un estudio realizado por De Vet y col en el año 2002 se compararon los diferentes marcadores de reserva ovárica en mujeres normo-ovuladoras. ¹⁹ Se realizaron mediciones con un intervalo de 3 años. Se pudo observar que los valores de AMH disminuyeron significativamente, mientras que los niveles de FSH, inhibina B y CFA no se modi-

ficaron luego del intervalo de 3 años. En relación a la edad y a los niveles de AMH séricos junto con el conteo de los folículos antrales, se observó que ambos parámetros disminuían a medida que aumentaba la edad de las mujeres. Esto fue confirmado un año más tarde por Fanchin y col en otro trabajo en el que se observó una mejor correlación entre los niveles séricos de AMH y el CFA, que entre la AMH y los niveles de FSH, inhibina B y estradiol.²⁰

En los resultados del estudio de De Vet y col también se pudo observar que las modificaciones de los niveles séricos de AMH ocurren antes que la secuencia de eventos asociados al envejecimiento ovárico.

En un trabajo realizado por Van Rooij y col en 2004 se evaluaron los diferentes marcadores y la capacidad que tenían para predecir la ocurrencia de la transición hacia la menopausia.²

Se estudió un grupo de 81 mujeres normoovuladoras entre 25 y 46 años de edad con un intervalo de 4 años (T1: primer consulta, T2: segunda consulta). En la primera consulta todas presentaban ciclos regulares. En T1 y T2 se dosaron AMH, FSH, inhibina B y estradiol en fase folicular temprana, así como también CFA. En T2 se agregó información sobre el ritmo menstrual y se definió como transición a la menopausia a dos posibilidades: a) ciclos < 21 días o > 35 días en los últimos 6 meses, o b) ciclos entre 21-35 días, pero con el siguiente ciclo menstrual no predecible en 7 días, también en los últimos 6 meses.

En cuanto a los resultados, 14 mujeres en la segunda consulta, luego de 4 años, presentaron ciclos irregulares. En comparación con las otras mujeres que todavía presentaban ciclos regulares, las primeras eran de mayor edad (promedio 44,7 vs 39,8) y ya en la primera consulta presentaron diferencias significativas en los valores de CFA, AMH, FSH, inhibina B (menores niveles de AMH, CFA, inhibina B y mayores niveles de FSH). Todos estos parámetros, con excepción del estradiol, se asociaron en forma significativa con la aparición de la irregularidad menstrual. La AMH, CFA y la edad obtuvieron el valor predictivo más alto (ROC AUC 0,87; 0,80 y 0,82, respectivamente). Luego de ajustar por edad, solo la AMH e inhibina B fueron significativamente asociadas con la irregularidad menstrual (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación entre edad y pruebas de reserva ovárica entre mujeres con ciclos regulares e irregulares a los 4 años de seguimiento (T2)².

Variables ^a	Ciclos regulares T_2 (n = 67)	Ciclos irregulares T_2 (n = 14)	₽b
Edad	39.8 (32.0-45.0)	44.7 (39.0-46.5)	< 0.001
AMH (µg/L)	1.7 (0.2-3.4)	0.3 (< 0.05-1.0)	< 0.001
CFA	7.0 (2.8-17.2)	4.0 (1.5-8.0)	< 0.001
FSH (IU/L)	7.6 (4.2-11.4)	10.4 (5.7-24-6)	0.01
Inhibina B (ng/L)	116 (28-163)	43 (4-126)	0.002
Estradiol (pmol/L)	178 (100-318)	197 (87-537)	0.55

Los valores representan la media. ^a Evaluadas en T₁, ^b test Mann-Whitney

Comparada con los otros marcadores, la AMH presentó una disminución de sus valores en forma longitudinal a lo largo del tiempo. Por lo tanto, sola o en combinación con la inhibina B parecería ser el mejor predictor de la transición hacia la menopausia.

A pesar de esto, hoy en día se continúa utilizando la FSH en la mayoría de los laboratorios porque es más fácil de evaluar que la AMH o inhibina B.

Estos trabajos indicarían que la AMH es el mejor marcador de reserva ovárica y el que mejor predice la transición hacia la menopausia.

Hormona antimülleriana: predictor de respuesta en tratamiento de fertilizacion in vitro

La fertilización *in vitro* es hoy en día el tratamiento más sofisticado que tiene la medicina reproductiva para ofrecerle a las parejas infértiles que buscan embarazo. Una óptima evaluación de la mujer y el conocimiento de su capacidad de respuesta ovárica son esenciales para realizar un correcto tratamiento y fundamentalmente para ofrecerle un pronóstico, importantísimo tanto para el paciente como para el médico que realiza el tratamiento. La identificación de pacientes con baja o alta respuesta antes de un tratamiento de fertilización con estimulación controlada puede disminuir tanto la tasa de cancelación como el síndrome de hiperestimulación ovárica.^{21,22}

La edad materna, la FSH basal, la inhibina B, el número de folículos antrales y el volumen ovárico han demostrado ser predictores de respuesta ovárica. ^{19,21,23} Sin embargo, ninguno de estos parámetros son predictores realmente confiables. Los trabajos son controvertidos y no se han obtenido

conclusiones significativas acerca de los valores de los mismos en cuanto a calidad ovocitaria como a tasa de embarazo total.²³ Recientemente ha ganado popularidad la AMH como marcador de respuesta ovárica en tratamientos de fertilización *in vitro*. Varios trabajos destacan tanto su valor como predictor de respuesta ovárica, así como también su relación con la calidad ovocitaria, factor importantísimo en términos de resultados de embarazo.¹

En el ovario la AMH se expresa en las células de la granulosa de los folículos primarios, los folículos pre-antrales y los antrales pequeños. Las concentraciones se hacen luego indetectables en folículos antrales de mayor tamaño. Conociendo esta dinámica de expresión de la AMH en los folículos en crecimiento podemos deducir entonces que los valores séricos de AMH reflejan el tamaño de la cohorte folicular en crecimiento, y por lo tanto, el potencial de crecimiento folicular bajo una estimulación exógena con FSH.¹⁹ A diferencia de lo que ocurre en un ciclo menstrual normal en el cual la AMH se mantiene en valores constantes durante los días 2 a 6 del ciclo⁸ en ciclos estimulados con gonadotrofinas, la AMH muestra un progresivo descenso hasta la fase folicular tardía. 1,3,24 Este descenso puede explicarse por el desarrollo progresivo de los folículos primarios productores de AMH reflejando la diferenciación de las células de la granulosa y alterando así su capacidad de secretar AMH. Sobre la base de estos conocimientos Ebner y col en Austria realizaron un estudio prospectivo en el cual demuestran que la AMH es un marcador superior a la FSH basal tanto como predictor de la cantidad de ovocitos recuperados como de su calidad en tratamientos de fertilización in vitro.1 Resulta interesante describir brevemente este trabajo.

Incorporaron al estudio a un total de 141 pacientes que entre los meses de agosto a diciembre de 2005 realizaron un ICSI y dosaron la AMH sérica. La edad media fue de 32,9 +/- 4,5 años. Como se incluyeron todas las pacientes que realizaron ICSI, la mayoría de las parejas presentaban factor masculino severo (88%), el resto tenía historia previa de falla de fertilización o simplemente solicitaban ICSI como primer tratamiento. Los esquemas de inducción de la ovulación fueron con antagonistas de la GnRh (n: 111) o con agonistas utilizando el esquema largo (n: 30). La captación

Tabla 2. Comparación de datos demográficos y estimulación ovárica controlada con respecto a los valores de AMH¹.

	Grupo 1 (AMH<1.66)	Grupo 2 (AMH 1.66-4.52)	Grupo 3 (AMH > 4.52)
Edad	34.8±3.7*	32.0±4.6**	30.5±4.4
Años de infertilidad	6.0±5.2***	3.35±2.5	3.4 ± 2.3
Número de ciclos	2.2±1.8	1.9±1.3	2.0±1.5
FSH (UI/ml)	10.5±3.8****	7.7±2.1	6.9±2
LH (UI/mI)	5.7±2.6	5.8±2.5	5.8±2.9
Dosaje	2396±790****	1712±623**	1449±439
Duración (días)	9.6±1.8	9.7±1.7	10.3±2.4
Endometrio (mm)	9.9±1.3	10.2±1.9	10.2±1.8
Estradiol (pg/ml)	802.6±377.8****	1279.5±630.9**	1728.8±912.2
Número de ovocitos	4.6±3.1****	9.1±5.1****	12.9±5.7
Número de ovocitos MII	4.0 <u>±</u> 2.8****	7.4±4.1**	10.4±5.1

Todos los valores representan la media +/- DS; AMH ng/ml; estradiol en el dia de inducción de ovulación; FSH y LH dia 3 del ciclo.

Tabla 3. Calidad de ovocitos con respecto a los valores de AMH según los grupos.¹

	Grupo 1 (AMH<1.66)	Grupo 2 (AMH 1.66-4.52)	Grupo 3 (AMH > 4.52)
Número de ovocitos	155	627	462
MII	139 (89.7)	538 (85.8)	390 (84.4)
Ovocitos normales	47 (33.8)	242 (45.0)***	139 (35.6)
Anomalias	92 (66.2)	296 (55.0)	251 (64.4)
Granulación central	43 (46.7)***	88 (29.7)	75 (29.9)
Vacuolización	9 (9.8)	39 (13.2)***	13 (5.2)
Agregación REL	4 (4.4)	5 (1.7)**	16 (6.4)
Inclusión	14 (15.2)****	61 (20.6)	85 (33.8)
Cuerpo refractil	7 (7.6)	77 (26.0)***	39 (15.5)
Gránulos PVS	7 (7.6)	13 (4.4)	8 (3.2)
Anomalias múltiples	8 (8.7)	13 (4.4)	15 (6.0)

MII: Metafase II; PVS: espacio perivitelino; REL: retículo endoplásmico liso;

ovocitaria fue realizada en todas las pacientes 36 horas después de la aplicación de hCG. Después de 2 a 4 hs de incubación, los ovocitos fueron pelados, extrayéndoles el complejo cúmulus para luego realizar la invección espermática. Se realizaron entonces varias evaluaciones: la primera inmediatamente luego del ICSI, la segunda en estadío de 2 pronúcleos (2pn), la tercera en día 3 y la última, si la evolución lo permitía, en blastocisto. En un 6,4% de las pacientes la fertilización no ocurrió o hubo una detención en el desarrollo embrionario, no obteniéndose material para transferir. Para la evaluación estadística las pacientes fueron divididas en tres grupos sobre la base del valor sérico de AMH en día 3 del ciclo utilizando los percentilos 25 y 75. El grupo 1 incluía las pacientes con bajos niveles de AMH y el grupo 3 a las pacientes con

altos niveles de AMH, formando un total de 35 pacientes con valores extremos de la hormona. El grupo 2 incluía 71 pacientes con valores medios.

El valor medio de AMH de aquellas pacientes en quienes no se pudo transferir embriones fue significativamente menor del de aquellas que sí pudieron realizarla (P < 0.05). Analizando la Tabla 2 vemos que el grupo 1 incluía pacientes de mayor edad y con mayor tiempo de infertilidad (P < 0.05). También notamos una correlación positiva entre valores bajos de AMH y valores elevados de FSH en el grupo 1 (P < 0.001). En cuanto a calidad ovocitaria (Tabla 3), se demostró un mayor número de ovocitos de buena calidad en el grupo 2 comparado con el grupo 1 con AMH baja (P < 0.05) y con el grupo 3 con AMH alta (P < 0.01).

En cuanto a la tasa de fertilización y su pos-

^{*} P < 0.05 versus grupo 2 y P < 0.001 versus grupo 3, *** P < 0.05 versus grupo 3, *** P < 0.05 versus otro grupo, ****p< 0.001 versus otro grupo, ***** p < 0.001 versus grupo 3.

^{*}P<0.05 versus grupo 1; **P< 0.01 versus grupo 3; ***P< 0.01 versus otros grupos, ****P< 0.001 versus otros grupos.

terior clivaje a blastocisto, no se ha demostrado su relación con los valores de AMH. Tampoco la calidad embrionaria en día 2, día 3 o blastocisto; los tres grupos mostraron calidades embrionarias similares. Sin embargo, autores como Silberstein han demostrado una mejor morfología embrionaria en pacientes con valores de AMH mayores a 2,7 ng/ml.²⁵ La crítica a este trabajo puede ser que el dosaje de AMH fue realizado el día de la captación ovocitaria, cuando debido al desarrollo folicular los valores de AMH descienden, no reflejando entonces la calidad ovocitaria y/o embrionaria.

Como el trabajo mencionado anteriormente, encontramos en la bibliografía varios autores que también demuestran una fuerte correlación entre los valores de AMH en día 3 y la respuesta ovárica a la FSH. Mostramos estos trabajos en la Tabla 4.21 La Marca y col demuestran una vez más lo anteriormente publicado, pero agregan que el dosaje de AMH puede realizarse cualquier día del ciclo menstrual (Tablas 5 y 6).21,8

Recientemente Dharmawijaya y col publican un trabajo en el cual atribuyen a la AMH como el parámetro clínico más fuerte como marcador de performance reproductiva.²³ La AMH se correlaciona con el número total de folículos antrales pequeños listos para ser reclutados durante una estimulación para una FIV (Tabla 7). Las pacientes con mayores valores de AMH tuvieron un mayor número de ovocitos que el grupo de pacientes con valores bajos de AMH, a pesar de recibir estas últimas mayores dosis de FSH (P < 0,001). La tasa de fertilización fue significativamente menor en el grupo de pacientes con valores bajos de AMH, independientemente de la técnica usada, FIV (P = 0,043) o ICSI (P = 0,006), (Tabla 8). Esto sugiere que los valores bajos de AMH no sólo predicen una menor cantidad de ovocitos captados, sino que también nos habla de la calidad ovocitaria, con tasas de fertilización menores a pesar de una buena calidad espermática (FIV) o la asistencia mecánica (ICSI). La calidad embrionaria no correlacionó significativamente con la AMH, sin embargo, el grupo de pacientes con valores mayores tuvieron un mayor número total de embriones para transferir y criopreservar por ciclo (P < 0,001), reflejando esta diferencia los mayores ovocitos captados y la mayor tasa de fertilización en este grupo (Tabla 8). El porcentaje de cancelación del ciclo fue también significativamente mayor en

Tabla 4. AMH como predictor de respuesta ovárica de un ciclo estimulado.²¹

Referencia	n	Estudio	Dia de	Predicción de	baja respue	sta				
			medición AMH	Correlación con ovocitos captados	ROC auc	Umbral (ng/ml)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Van Rooij et al (2002)	130	Prospectivo	3	0.57	0.86					
Seifer et al (2002)	107	Retrospectivo	3	0.522						
Hazout et al (2004)	109	Retrospectivo	3	0.38		<1.1				
Muttukrishna et al (2004)	69	Prospectivo	5 a 6	0.69		< 0.1	87.5	72,2		
Eldar-Geva et al (2005)	56	Prospectivo	3 a 4	0.48	0.75					
Tremellen et al (2005)	238	Prospectivo	3 a 5			<1.1	80	85	67	92
Muttukrishna et al (2005)	108	Retrospectivo	3	0.509		< 0.2	87	64		
Penarrubia et al (2005)	80	Prospectivo	3		0.67		40	91.7		
Ficicioglu et al (2006)	50	Prospectivo	3	0.564	0.92	< 0.25	90.0	90.9	96.8	76.9

ROC auc para predicción de embarazo; VPP: valor predictivo positivo: VPN: valor predictivo negativo

Tabla 5. Correlación entre valores séricos de AMH, edad y características de un ciclo estimulado²¹.

Variables (AMH)	r	P
Edad	- 0.44	0.02
Dosaje total FSH	- 0.52	0.01
Número folículos >16 mm	0.76	0.001
Sensibilidad folicular	0.72	0.001
Ovocitos captados	0,73	0,0001

Tabla 6. Desempeño de los valores séricos de AMH como predictores de baja respuesta ovárica ²¹.

Umbral AMH	Sensibilidad	Especificidad	Correctamente clasificados (%)
(ng/ml)	%	%	
0.5	85	82.3	81.2
0.75	80	93	87.5

Tabla 7. Características de pacientes con bajos y altos niveles séricos de AMH.²³

Características	Grupo Baja AMH (n = <i>54</i>)	Grupo Alta AMH (n = 72)	Valor P
AMH sérica (pmol/l)	≤14	<14	_
Edad en años (rango)	$36.6 \pm 0.6 (19-40)$	$34.3 \pm 0.8 (23-41)$	NS
Body Mass Index	26.6 ± 0.8	25.9 ± 0.6	NS
FSH dia 3 (UI/I)	6.7 ± 0.2	6.4 ± 0.2	NS
Conteo folículos antrales	4.3 ± 0.6	12.0 ± 1.0	< 0.001

Los valores representan la media. NS: estadisticamente no significativo

el grupo de pacientes con baja AMH al no tener embriones para transferir, mientras que el grupo con valores altos de AMH canceló en menor porcentaje, pero debido al síndrome de hiperestimulación ovárica (P = 0.001).^{21,22,23}

Analizando la transferencia en fresco, la tasa de embarazo clínico no ha demostrado ser significativamente diferente entre los grupos de alta y baja AMH (Tabla 9). Lo mismo ocurre al compactar la transferencia de embriones criopreservados. Sin embargo, el mayor número de ovocitos captados junto con una mayor tasa de fertilización demostró que las pacientes con valores mayores de AMH tenían mayor cantidad de embriones criopreservados para transferir en un futuro, y por lo tanto, una mayor tasa acumulativa de embarazo clínico por ciclo estimulado (P < 0.036), (Tabla 10). Este dato resulta sumamente interesante ya que para la paciente tanto en términos de costos como en lo personal lo más importante y engorroso de llevar a cabo es el estímulo ovulatorio inicial de un tratamiento. Las pacientes con valores mayores de AMH tienen, por lo menos, dos veces más posibilidad de conseguir un embarazo con el total de los embriones obtenidos comparadas con aquellas pacientes con valores bajos de AMH.²³

Finalmente se analiza el porcentaje de abortos de pacientes embarazadas en fresco observándose una mayor tasa de abortos en el grupo de menor AMH (P < 0.031). Esto podría sugerir una menor calidad embrionaria en este grupo de pacientes (Tabla 9).

Un trabajo retrospectivo realizado en el Hospital Universitario de Tokio este año demostró el valor de la AMH en el líquido folicular.26 Encontraron que los valores de la AMH en líquido folicular de pacientes que habían realizado una fertilización in vitro y cuyos ovocitos habían fertilizado eran estadísticamente mayores que los valores de las pacientes cuyos ovocitos no fertilizaron. No se pudo demostrar una correlación significativamente positiva con los valores de inhibina B intrafolicular entre los dos grupos (con y sin ovocitos fertilizados). Así, concluyen que la AMH parecería cumplir un rol más importante que la inhibina B o el estradiol en términos de desarrollo y fertilización ovocitaria. Sin embargo, contrariamente a los trabajos mencionados anteriormente, no han encontrado diferencia significativa con los valores séricos de AMH entre ambos grupos de pacientes.

A la fecha una de las principales causas por las cuales no se utiliza la AMH de rutina para predecir resultados en tratamientos de fertilidad puede ser la falta de estandarización de los laboratorios y ensayos utilizados para dosarla, así como también su

Tabla 8. Resultados de FIV entre los grupos con bajos y altos niveles de AMH.²³

Parámetros	Grupo Baja AMH (n=54)	Grupo Alta AMH (n=72)	Valor P
Número promedio de ovocitos captados	5.0 ± 0.5	11.9 ± 0.8	< 0.001
Total de gonadotrofina administrada (UI)	3420 ± 132	2207 ± 104	< 0.001
Pico estradiol (nmol/l)	3.9 ± 0.35	8.0 ± 0.5	< 0.001
Tasa Fertilización (%)			
ICSI	77/146 (52.7)	294/447 (65.8)	0.006
FIV	38/93 (40.9)	153/293 (52.2)	0.043
Calidad Embrionaria (ICSI + FIV) (%)			
Buena calidad (G1 y G2)	75/115 (65.2)	277/447 (62.0)	NS
Pobre calidad (G3 y G4)	40/115 (34.8)	170/447 (38.0)	NS
Número promedio de embriones formados por paciente	2,1	6.2	< 0.001
Número promedio de embriones congelados por paciente	0.6	2.4	< 0.001
Número de embriones usados para FET	14	55	
Número de embriones guardados para un futuro FET	18	119	

FET: transferencia de embriones congelados-descongelados

Tabla 9. Resultado de embarazo con transferencia en fresco entre los grupos de alta y baja AMH.²³

Parámetros	Grupo Baja AMH (n=54)	Grupo Alta AMH (n=72)	Valor <i>P</i>
Número de ciclos iniciados Número de pacientes con transferencia embrionaria (%)	54 39 (72.2)	72 69 (95.8)	 <0.001
Número promedio de embriones transferidos	1.3	1 2	NS
βHCG positiva/transferencia (%)	15/39 (38.4)	22/69 (31.0)	NS
Abortos (%)	5/15 (33.3)	1/22 (4.5)	0.031
Embarazo clínico/transferencia (%)	10/39 (25.6)	21/69 (30.4)	NS

Embarazo clínico: latido fetal positivo presente a las 8 semanas por ecografia

Tabla 10. Tasa de embarazo acumulativa (transferencias en fresco y de embriones criopreservados) entre los grupos de alta y baja AMH.²³

Parámetros	Grupo Baja AMH (n=54)	Grupo Alta AMH (n=72)	Valor P
βHCG positiva por ciclo iniciado de FIV (%)	17/54 (31.5)	36/72 (50.0)	NS
βHCG positiva por embri	17/48 (35.4)	36/106 (34.0)	NS
Abortos por ciclo transferido (%)	5/48 (10.4)	6/106 (5.7)	NS
Abortos por BHCG positiva (%)	5/17 (29.4)	6/36 (16.7)	NS
Embarazo clínico por ciclo iniciado(%)	12/54 (22.2)	30/72 (41.7)	0.036
Tasa Embarazo acumulativa por ciclo iniciado (%)	15/54 (27.8)	53/72 (73.6)	0.001

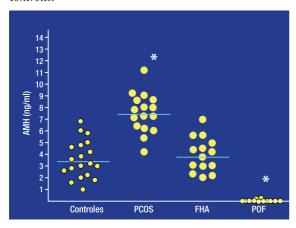
costo elevado. Todavía faltan datos concluyentes, teniendo en cuenta este factor, como para sacar conclusiones internacionales y poder estandarizar su uso, que como evaluamos anteriormente parece ser un excelente marcador de respuesta ovárica en un tratamiento de fertilización.

Hormona antimülleriana: marcador de patología ovárica

Como evaluamos anteriormente, la AMH cumple un rol importante en la dinámica folicular. Si bien todavía algo controvertidas y no del todo dilucidadas, sus funciones propuestas son la inhibición del reclutamiento inicial de los folículos primordiales a través de mecanismos paracrinos y la inhibición de la actividad de aromatasa en las células de la granulosa reduciendo la producción de estradiol. Ha sido demostrado que los niveles de AMH sérica decrecen a través del tiempo en mujeres jóvenes normo-ovuladoras, existiendo una relación entre los valores de la misma y el pool folicular. No sucede lo mismo con otros marcadores de reserva ovárica, posicionando a la AMH como un marcador más sensible de depleción ovárica. 4 Sobre la base de la relación entre el pool folicular y los valores de la AMH se ha propuesto que esta hormona podría aportar información adicional durante el diagnóstico de amenorreas secundarias y, por lo tanto, ser también un marcador de patología ovárica.^{4,3}

Las causas más comunes de amenorrea secundaria son la poliquistosis ovárica (PCO), la Falla Ovárica Precoz (FOP) y la amenorrea hipotalámica disfuncional. Tanto las gonadotrofinas como los niveles de estradiol pueden diferenciar amenorreas normogonadotróficas (PCO), hipogonadotróficas (amenorrea hipotalámica) e hipergonadotróficas (FOP), acercándonos a un diagnóstico más certero de la misma. Los niveles de andrógenos pueden estar elevados en las pacientes con PCO, no así en aquellas con POF o amenorrea hipotalámica. En un estudio reciente La Marca y col estudiaron pacientes con los tres tipos de amenorrea y su relación con los valores de AMH.4 Encontraron los valores de AMH sérica significativamente mayores en pacientes con PCO comparados con pacientes controles sin amenorrea (P < 0.05). En 10 de 12 pacientes con POF, los niveles séricos de AMH fueron indetectables. El valor medio de la AMH sérica no mostró diferencia significativa entre pacientes con amenorrea hipotalámica y los controles (Figura 4). También se encontró una correla-

Figura 4. Niveles de AMH en pacientes y controles. Los niveles medios plasmáticos de AMH fueron significativamente mayores en PCOS y menores en POF que en pacientes con amenorrea hipotalámica funcional (FHA) y controles.



ción positiva entre el número de folículos entre 2 a 6mm y los valores de AMH en pacientes control, pacientes con PCO y pacientes con amenorrea hipotalámica, pero no se ha demostrado correlación significativa entre valores de AMH sérica y conteo folicular en pacientes con FOP.

De lo evaluado anteriormente deducimos que el dosaje de AMH en amenorreas secundarias podría aportar más datos, pero en la práctica clínica no ofrece mayores ventajas para su diagnóstico. Sin embargo, su medición podría diferenciar aquellas pacientes amenorréicas con baja o alta reserva ovárica.

La PCO es la causa más frecuente de infertilidad anovulatoria y afecta a casi el 5-20% de las pacientes en edad reproductiva. El mecanismo de selección folicular en estas pacientes se encuentra alterado resultando en una acumulación de folículos antrales y antrales pequeños que contribuyen a una mayor producción de AMH. Como la AMH inhibe la acción de la FSH sobre los folículos, parece que valores aumentados de AMH en pacientes con PCO contribuyen a una foliculogénesis alterada sin formación del folículo dominante y por ende anovulación.³ La AMH también inhibe la actividad de la aromatasa sugiriendo entonces que esta hormona contribuye a la severidad del PCO.

Varios estudios han demostrado que los valores de AMH sérica y folicular se encuentran aumentados en pacientes con PCO cuando se comparan con pacientes sin la patología y normo-ovuladoras.^{3, 4, 27-30} Estos valores parecen estar hasta 3 veces incrementados.^{3, 4} El hecho de que el incremento de AMH sea también en el líquido folicular sugiere que su aumento no es sólo por el mayor número de folículos, sino también por el aumento de la producción de AMH por folículo.³

En 2005 Eldar-Geva y col demostraron que pacientes con PCO con y sin hiperandrogenismo mostraban niveles diferentes de AMH sérica.²⁹ Las pacientes con PCO tenían valores mayores de AMH con respecto al grupo control, pero las pacientes con PCO e hiperandrogenismo mostraron valores aún más elevados (Tabla 11).

Tabla 11. Grupo A: PCO con hiperandrogenismo. Grupo B: PCO sin hiperandrogenismo. Grupo C: controles normales.²⁹

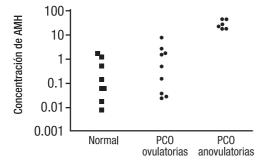
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Valor P A vs C	B vs C	A vs B
Día 0						
AMH	51.7 ± 30.8	29.1 ± 16.8	11.2 ± 5.5	< 0.0002	< 0.01	< 0.05
nº folículos < 10 mm	29.2 ± 12.7	26.4 ± 9.2	10.5 ± 5.2	< 0.002	< 0.001	NS
androstenediona	11.5 ± 5.2	5.6 ± 2.7	5.5 ± 2.0	< 0.02	NS	< 0.05
Día administración HCG						
AMH	30.4 ± 21.7	9.6 ± 5.4	3.0 ± 2.7	< 0.0001	< 0.005	< 0.001
nº folículos < 10 mm	23.8 ± 10	21.5 ± 8.7	8.3 ± 6.0	< 0.001	< 0.05	NS
estradiol	8064 ± 3281	9118 ± 4473	9330 ± 4028	NS	NS	NS
androstenediona	20.3 ± 8.3	15.1 ± 5.9	16.6 ± 8.0	NS	NS	NS
relación androstenediona /estradiol	2.75 ± 1.39	1.68 ± 0.33	1.73 ± 0.81	< 0.05	NS	< 0.05
nº ovocitos	19.2 ± 8.5	21.0 ± 2.3	15.3 ± 6.6	NS	< 0.001	NS
dosis total FSH	2196 ± 819	2704 ± 626	3277 ± 904	< 0.001	< 0.05	NS
nº ovocitos/ dosis total FSH	9.5 ± 6.6	8.2 ± 2.5	5.1 ± 2.5	< 0.01	< 0.05	NS
embarazo clínico/ ET	5/15	4/10	12/22	NS*		

Los valores son presentados como media \pm SD. Día 0 luego de la supresión hipofisaria con agonista GnRH, antes de la administración de la gonadotrofina NS*= no significativa; ET= transferencia embrionaria; NS entre los 3 grupos.

El número de folículos antrales pequeños fue similar en ambos grupos de pacientes con PCO, sin demostrar diferencia si tenían o no hiperandrogenismo. Esto sugiere que la producción tanto androgénica como de AMH aumenta en cada folículo independiente formando parte de un mecanismo de *feedback* positivo entre la AMH y los andrógenos ováricos.²⁹

Un interesante estudio recientemente publicado comparó la producción de AMH en cultivos de células de la granulosa provenientes de ovarios normales, ovarios con PCO que ovulaban y ovarios con PCO anovulatorias. Se demostró una mayor producción de AMH en los cultivos de pacientes con PCO ovuladoras comparados con los de ovarios normales. Aún mayores fueron los valores de AMH de los cultivos de ovarios anovuladores.²⁸ El valor medio de AMH en este grupo fue 16 veces mayor que el nivel más elevado en ovarios normales y 75 veces mayor que el valor medio normal.²⁸ La producción de AMH demostró ser diferente en los tres grupos. Esta diferencia fue significativa (P < 0,001), (Figura 5). Es interesante notar que este trabajo se asemeja al de Eldar-Geva y col. Las pacientes con PCO que ovulan suelen tener valores normales de andrógenos o sólo levemente aumentados. Su contraparte anovulatoria presenta siempre un mayor hiperandrogenismo. Vemos entonces cómo los resultados son iguales para pacientes con hiperandrogenismo y pacientes con PCO anovuladoras. El hiperandrogenismo explicaría

Figura 5. Concentraciones séricas de AMH en cultivos de células de la granulosa de ovarios normales, ovarios ovuladores y no ovuladores (P < 0,001).⁴



no sólo el incremento en la producción de AMH en pacientes con PCO, sino también la razón por la cual encontramos valores mayores en pacientes con PCO anovuladoras que en ovuladoras con la misma patología. Quizá este dato nos permita diferenciar estas pacientes y establecer entonces un pronóstico.

La FOP representa un desafío importante para los especialistas en fertilidad. Cuando la actividad del ovario cesa en pacientes menores de 40 años, las chances de embarazo con óvulos propios no son escasas, sino nulas. Sin embargo, existe un pequeño porcentaje de pacientes con FOP que embarazan espontáneamente. Sería muy beneficioso poder identificar a estas pacientes. Este subgrupo de pacientes tienen cierto grado de desarrollo folicular demostrado por ecografía o por biopsia de ovario.³¹ La AMH podría identificar a estas pacientes logrando establecer un pronóstico de su potencial reproductivo.³²

Méduri y col³² analizaron un grupo de pacientes con POF con el objetivo de encontrar una relación entre los valores de la AMH y la histología ovárica, y de establecer el patrón de inmuno-expresión de AMH en ovarios de pacientes con POF. En este estudio todas las pacientes fueron sometidas a una biopsia de ovario junto con el dosaje de AMH. Encontraron que el número de pacientes con AMH indetectable fue mayor en biopsias de ovario con ausencia de folículos. La AMH se encontró en valores altos en mayor proporción de pacientes con biopsias con 15 folículos o más (Figura 6).

En cuanto a la inmunoexpresión de la AMH en ovarios de pacientes con FOP, se encontró mayor marcación en aquellas pacientes con mayor número de folículos en la biopsia ovárica (Tabla 12).

Con estos datos podemos concluir que la AMH podría ser una herramienta útil para discriminar aquellas pacientes con FOP que presentan cierto grado de desarrollo folicular de las que tienen nula o muy escasa actividad folicular. Sin embargo, quedan todavía interrogantes sobre el tema. Hacen falta mayor número de estudios para sacar conclusiones precisas.

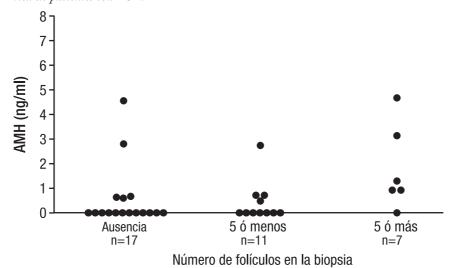


Figura 6. Distribución de pacientes según la reserva ovárica establecida por biopsia ovárica de pacientes con FOP.³⁶

Tabla 12. La inmunoexpresión de la AMH fue significativamente mayor en el grupo de 15 o más folículos comparado con el grupo de folículos ausentes o 5 o menos folículos. P = 0.004. P = 0.001.

Biopsia ovárica	AMH sérica detectable	Nivel AMH (media ± SD)	Presencia de AMH inmunostaining?
Ausencia de folículos n=16	18.7	0.42 ± 0.65	0/16 (0%)
5 ó < folículos n= 6	33.3	0.33 ± 0.21	2/6 (33%)
15 ó + folículos n =5	100*	2.16 ± 1.66**	5/5 (100%)***

Niveles séricos de hormona antimulleriana y AMH inmunostaining? acorde al fenotipo ovárico en 27 pacientes POF

Hormona antimülleriana: reserva testicular

La función y reserva testicular con sus hormonas intervinientes parecen no tener tanta popularidad como su contraparte femenina, la reserva ovárica. Hemos analizado la función de la AMH y su relación con la reserva ovárica, sus principales implicancias clínicas en fertilidad y su relación con patologías frecuentemente diagnosticadas frente a una pareja estéril como la PCO y POF.

La evaluación de la función testicular ha sido clásicamente el dosaje de la testosterona sérica, ya sea en condiciones basales durante los primeros meses de vida o luego del inicio de la pubertad. Sin embargo, el dosaje de andrógenos sólo permite evaluar la función de las células de Leydig, sin

brindar información alguna sobre la actividad del tubo seminífero. Esta última puede ser estudiada de forma indirecta mediante el dosaje de FSH: niveles elevados de FSH pueden indicar una falla de función tubular utilizando su valor como criterio para diferenciar azoospermias obstructivas de las no obstructivas.³³ La inhibina, producida principalmente por las células de Sértoli, inhibe la secreción hipofisaria de FSH. Un aumento anormal de la FSH sérica es entonces interpretado como una caída de la producción testicular de inhibina. De esta manera los niveles circulantes de inhibina B pueden diferenciar una espermatogénesis normal de una anormal.^{33,34} Representando también a la función sertoliana y a la espermatogénesis, se hace

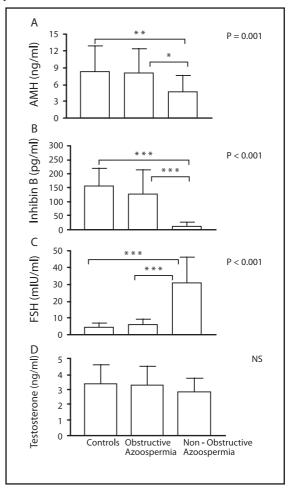
presente la AMH. Ésta es secretada por las células de Sértoli. Estudios recientes han demostrado la importancia de las concentraciones seminales de AMH como marcador de espermatogénesis, pero sus concentraciones en sangre no han sido lo suficientemente investigadas en adultos para la evaluación de desórdenes en la espermatogénesis.³³

Como ya sabemos, la AMH ejerce su función en la vida fetal, período en el cual los niveles plasmáticos son elevados. Aunque no se conoce la función específica de la AMH luego del nacimiento, el testículo sigue secretándola hasta el inicio de la pubertad. Es producida únicamente por las células de Sértoli, lo cual le confiere un gran valor, como hemos mencionado, como marcador sérico en el estudio de la función sertoliana. En el varón la AMH sérica es alta en los dos primeros trimestres de la vida intrauterina, luego disminuye en el nacimiento permaneciendo baja durante los primeros 10 a 15 días de vida, pero se incrementa nuevamente para mantenerse elevada durante la infancia hasta el inicio de la pubertad.³⁵ Al llegar a la pubertad, los valores de AMH descienden gradualmente por un mecanismo de feedback negativo por parte de la testosterona que comienza a aumentar.³⁶ Por lo tanto, la utilidad del dosaje de AMH disminuye y la interpretación de los resultados se hace más difícil.

La implicancia clínica de la AMH en el hombre puede tener cabida al igual que la inhibina B para predecir el resultado de un TESE (*Testicular Sperm Extraction*) o biopsia testicular.^{33,36,37}

Los pacientes con azoospermia pueden dividirse en aquellos con azoospermia obstructiva con valores normales de FSH, de aquellos con azoospermia no obstructiva o secretora con valores elevados de FSH. Sin embargo, valores de FSH elevados no siempre indican la ausencia de espermatozoides en el testículo, cambiando drásticamente el pronóstico reproductivo de la pareja. Shanthi y col realizan un estudio en el cual investigan si los valores de AMH e inhibina B en pacientes con azoospermia no obstructiva están alterados con respecto a los valores en azoospermias obstructivas y un grupo control.33 Estudian también la relación entre FSH, AMH, inhibina B y testosterona. Los valores de AMH sérica resultaron significativamente menores en pacientes con azoospermia no obstructiva comparados con pacientes normales (P = 0.01) y pacientes con azoospermia obstructiva (P > 0.05), (Figura 7). Lo mismo se demostró con los valores de inhibina B. Pacientes sin azoospermia o controles tuvieron valores 10 veces mayores de inhibina B comparados con aquellos con azoospermia no obstructiva (P < 0,001). Pacientes con azoospermia obstructiva, a su vez, tuvieron valores mayores de inhibina B que los no obstructivos (P < 0.001) y valores similares al grupo control (Figura 7). Sin embargo, otros estudios no han demostrado esta diferencia significativa.³⁷ Los valores de FSH fueron lógicamente menores en los pacientes del grupo control respecto a los pacientes con azoospermia no obstructiva, así como también se demostraron valores significativamente mayores de FSH en el

Figura 7. Valores medios de AMH(A), inhibina B(B), FSH (C) y testosterona (D) en controles, azoospermia obstructiva y no obstructiva. ***P < 0.001, **P < 0.01, *P < 0.05. 33



Etiologia Azoospermia (n=67) Concentración Concentración Inhibina B (ng/l) AMH (pmol/l) Tratamiento esterilizante (n=11) 75.20 (±75.96) 52.26 (±61.54) Genética (n=11) 54.87 (±44.52) 11.97 (±23.96) Idiopática (n=29) 66.13 (±92.89) 4.80 (+9.84) Obstructiva (n=16) 41.59 (±39.86) 1.82 (±2.25)

Tabla 13. Concentraciones de AMH e inhibina B según la etiología de la azoospermia.³⁷

grupo de los no obstructivos con respecto a los obstructivos (P < 0.001), (Figura 7). Los valores de testosterona no variaron entre los tres grupos (Figura 7). Hay, por lo tanto, una correlación significativamente negativa entre los valores de FSH e inhibina B y la AMH (P < 0.001). La relación entre la AMH y la inhibina B es significativamente positiva (P < 0.001).

De lo anteriormente demostrado deducimos entonces que valores elevados de AMH e inhibina B probablemente se relacionen con azoospermias obstructivas, pudiendo encontrar espermatozoides en una biopsia testicular. Pero, ¿qué sucede cuando se analizan sólo los casos de azoospermia no obstructiva? Estos son los casos más complicados de manejar. La literatura indica que aproximadamente en un 50% de los casos de azoospermias no obstructivas se encuentran espermatozoides como para realizar un ICSI en la biopsia testicular.³⁸ Sería de gran valor encontrar un marcador testicular que pronostique la presencia o no de espermatozoides en los testículos de estos pacientes antes de realizar la biopsia testicular, teniendo en cuenta el impacto tanto emocional como económico en una pareja ante un resultado negativo luego de haber realizado un estímulo y una captación ovocitaria. Se ha propuesto a la AMH como este marcador, pero todavía no puede considerarse como tal. La AMH parece no ser significativa como predictora de éxito en TESE en pacientes con azoospermia no obstructiva (Tabla 13).36,37

Hormona antimülleriana: marcador de tumores de las células de la granulosa (GETt)

Como la expresión de AMH se limita solo a las células granulosas del ovario, se ha propuesto como marcador del tumor de dichas células. Los niveles séricos de la hormona aumentan un 76-93% en las pacientes con estos tumores.³⁹

En el seguimiento posterior a la resección del tumor primario el aumento de la AMH puede observarse inclusive 16 meses previos a la aparición de la recurrencia del mismo. La AMH parecería ser mejor marcador de recurrencia de GCT que la inhibina A y el estradiol. La producción de estradiol por los GCT es muy variable y la inhibina A puede aumentar en diferentes tipos de tumores, mientras que la AMH sólo se encuentra elevada en los tumores de las células de la granulosa. La producción de estradiol por los GCT es muy variable y la inhibina A puede aumentar en diferentes tipos de tumores, mientras que la AMH sólo se encuentra elevada en los tumores de las células de la granulosa.

Conclusión

Establecer el potencial reproductivo de la mujer que nos consulta por infertilidad es un factor importantísimo para poder brindarle un pronóstico adecuado.

Desde hace una década a la fecha se han publicado estudios prospectivos y retrospectivos analizando la utilidad de la AMH como marcador de reserva ovárica intentando encontrar en ella un método fácil y seguro para predecir este potencial.

Investigadores de los cuatro continentes han examinado una extensa variedad de pacientes a través de estudios con diferentes diseños sacando varias conclusiones. La mayoría de los estudios publicados a la fecha coinciden en que la AMH es un buen marcador de reserva ovárica. Los puntos de corte para indicar valores aumentados o disminuidos de AMH dependieron de la proteína utilizada en los diferentes ensayos clínicos. Sería importante poder establecer valores absolutos utilizando para su dosaje un compuesto internacionalmente aceptado, pero aún este compuesto no está disponible.

Varios estudios consideran a la AMH como un buen predictor de respuesta ante tratamientos de fertilización *in vitro*. La han relacionado con calidad y número de ovocitos captados y en algunos casos también como predictor de embarazo por ciclo estimulado. Como el logro de embarazo depende de factores adicionales tales como el factor masculino o endometrial, es poco probable que un solo factor como la AMH sea suficiente para predecir este resultado. Sin embargo, los estudios allí apuntan e intentan encontrarlo.

Las ventajas de la AMH sobre otros marcadores de reserva ovárica incluyen: 1) su cambio precoz con la edad; 2) su menor ciclicidad; y 3) la posibilidad de dosarla en cualquier momento del ciclo menstrual.

Su utilidad para diagnosticar alteraciones de la foliculogénesis como la poliquistosis ovárica o la falla ovárica precoz también ha sido analizada, pero todavía no pueden sacarse conclusiones precisas de su verdadero beneficio.

Quedan todavía varios interrogantes por resolver. Con el rápido avance en investigación clínica quizá en un futuro no muy lejano ellos sean dilucidados, pero quizá surjan otros. Es un desafío para el médico especialista en reproducción encontrar respuestas y sacar más conclusiones.

En cuanto a su utilidad como marcador de reserva testicular, si bien tiene aplicaciones clínicas, hacen falta estudios con mayor número de pacientes que revelen la justificación periódica de su uso.

Referencias

- 1. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, et al. Basal level on anti-müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. Hum Reprod 2006;21(8):2002-2006.
- 2. Van Rooij I, Den Tonkelaar I, Broekman F, Looman C, et al. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. Menopause 2004;11(6):601-606.
- Visser JA, Jong F, Laven J, Themmen A. Anti-müllerian hormone: a new marker for ovarian function. Reproduction 2006;131:1-9.
- La Marca A. Serum anti-müllerian hormone levels in women with secondary amenorrhea. Fertil Steril 2006;85(5):1547-1549.
- Themmen APN. Anti-müllerian hormone: It's role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. J Natl Cancer Inst 2005;34:18-21.
- Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, et al. Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population based cohort of women. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:4025-4030.

- 7. Visser JA, Themmen APN. Anti-müllerian hormone and folliculogenesis. Mol Cell Endocrinol 2005;234:81-86.
- La Marca A, Stabile G, Carducci A, Volpe A. Serum anti-müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. Hum Reprod 2006;21(12):3103-3107.
- Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN. Regulation of ovarian function: the role of anti-müllerian hormone. Reproduction 2002a;124:601-609.
- Durlinger ALL, Kramer P, Karels B, Jong FH, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-müllerian hormone in the mouse ovary. Endocrinol 1999; 140:5789-5796.
- 11. Durlinger ALL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, et al. Anti-müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. Endocrinol 2001;142:4891-4899.
- 12. Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen APN, et al. Anti-müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. Hum Reprod 2006; 21(9):2223-2227.
- 13. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, et al. Expression of anti-müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:3836-3844.
- 14. Durlinger ALL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Themmen APN. Anti-müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. Endocrinol 2002b;143:1076-1084.
- 15. La Marca A, Volpe A. Anti-müllerian hormone in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? Clin Endocrinol 2006;64: 603-610.
- 16. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, et al. Statistically significant changes of anti-müllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. Fertil Steril 2007;87(4):1-7.
- 17. Cook CL, Siow Y, Taylor S and Fallat ME. Serum Müllerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. Fertil Steril 2000;73:859-861.
- Hehenkamp W, Looman C, Themmen APN, Jong F, Velde ER, et al. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:4057-4063.
- De Vet A, Laven JS, Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Anti-müllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. Fertil Steril 2002;77:357-362.
- 20. Franchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, et al. 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.
- 21. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, et al. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. Hum Reprod 2007;22(3): 766-771.

- 22. Nakhuda GS, Sauer MB, Wang JG, Ferin M, Lobo RA. Müllerian inhibiting substance is an accurate marker of ovarian response in women of advanced reproductive age undergoing IVF. Reprod Biomed Online 2007;14(4): 450-454.
- 23. Dharmawijaya N, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist R, et al. Anti-müllerian hormone as a predictor of IVF outcome. Reprod Biomed Online 2007;14(5):602-610.
- 24. Feyerreisen E, Mendez DH, Taeib J. Anti- Müllerian hormone: clinical insights into a promising biomarker of the ovarian follicular status. Reprod Biomed Online 2006;12(6):695-703.
- Silberstein T, MacLaughlin DT, Shai I, Trimarchi JR, Lambert-Messerlian G, Seifer DB, Keefe DL, Blazar AS. Múllerian inhibitory substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology. Hum Reprod 2006;21:159-163
- 26. Chie Takahashi MD, Atsuya Fujito MD, Masahiro K, Rie S, Hiroe I, Keiichi I. Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. Fertil Steril 2008;89(3):586-591.
- 27. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen APN, De Jong FH. Anti-müllerian hormone concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:318-323.
- 28. Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. Granulosa Cell Production of Antimüllerian hormone is increased in Polysyctic Ovaries. J Clin Endocrinol Metab 2005;92:240-245.
- 29. Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Gal M, Ben-Chetrit A, Algur N, Zylber-Haran E, Brooks B, Huerta M, Spitz IM. Serum Anti-müllerian hormone levels during controlled ovarian hyperestimulation in women with Polysyctic Ovaries with and without hyperandrogenism. Hum Reprod 2005;20:1814-1819.
- 30. David B. Seifer D, MacLaughlin D. Mullerian. Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. Fertil. Steril 2007;88(3):539-546.
- 31. Massin N, Gougeon A, Meduri G, Thibaud E, Laborde K, Constancis E, Vacher-Lavenu MC, Paniel B, Zorn JR. Significance of ovarian histology in the management of patients presenting a premature ovarian failure. Hum Reprod 2004;19:2555-2560.

- 32. Méduri G, Massin N, Guibourdenche J, Bachelot A, Fiori O, Kuttenn F, Misrahi M, Touraine P. Serum-Anti-Müllerian hormone expression in women with premature ovarian failure. Hum Reprod 2007;22:117-123.
- 33. Shanthi M, Muttukrihna Ph D, Halisa Yussoff MS, Manjula Naidu M, Jayanta Barua F, Kirana M, Harris Suharjono M. Serum anti-müllerian hormone and inhibin B in disorders of spermatogenesis. Fertil Steril 2007;88:516-518.
- Adampoulos D, Kapolla N, Nicopoulou S, Pappa A, Koukkou E, Gregoriou A. Assessment of sertoli cell functional reserve and its relationship to sperm parameters. Int J Androl 2003;26:215-225.
- 35. Rey R. Evaluación de la función testicular en el varón prepuber: utilización del dosaje de hormona antimülleriana sérica. Arch Argent Pediatr 2000;98:315-324.
- 36. Taymour M, Medhat K, Guirgis Abdel M, Taha Abdel N, Wael Z, Shedeed A, Dina E, Hosman H. Seminal plasma anti-Müllerian hormone level correlates with semen parameters but does not predict success of testicular sperm extraction. Asian J Androl 2007;9(2):265-270.
- 37. Duvilla E, Lejeune H, Trombert-Paviot B, Gentil-Perret A, Tostain J, et al. Significance of inhibin B and anti-Müllerian hormone in seminal plasma: a preliminary study. Fertil Steril 2008;89(2):444-448.
- 38. Tournaye H, Verheyen G, Nagy P, Ubaldi F, Goossens A, Silber S, et al. Are there any predictive factors successful testicular sperm recovery in azoospermic patients? Hum Reprod 1997;12:80-86.
- Lane A, Lee M, Fuller A, Kehas D, Donahoe P, et al. Diagnostic utility of Müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. Gynecol Oncol 1999;73:51-55.
- 40. Long W, Ranchin V, Pautier P, Belville C, Denizot P, et al. Detection of minimal levels of serum anti-müllerian hormone during follow up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. Endocrinol Metab 2000;85:540-544.
- 41. Healy D, Burger H, Mamers P, Jobling T, Bangah M, et al. Elevated serum inhibin concentrations in postmenopausal women with ovarian tumors. N Engl J Med 1993;329:1539-1542.