

---

## **Hormona anti Mülleriana. Su influencia en la salud reproductiva en la mujer**

*Dra. Cecilia Zylbersztein*

*Laboratorio Ceusa-Laeb, pueyrredón 768 1° piso*

*ceciliazyl@yahoo.com.ar, cezylberstein@ceusa-laeb.com.ar*

La hormona anti Mülleriana (AMH) es la sustancia inhibidora de los conductos de Müller y fue descubierta por Jost y col en 1947 <sup>1</sup>. Es una glicoproteína dimérica compuesta por dos monómeros de 72 kDal unidos por puentes disulfuro, que pertenece a la superfamilia de factores de crecimiento transformante  $\beta$ , que incluye al TGF- $\beta$  y a las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), las inhibinas y activinas, todas ellas involucradas en los procesos de crecimiento y diferenciación celular <sup>2</sup>. AMH es un marcador gonadal específico que se expresa fuertemente en las células de Sertoli, desde la diferenciación testicular intraútero hasta la pubertad y,

en menor grado, en las células de la granulosa desde la semana 36 de gestación hasta la menopausia <sup>3,4</sup>.

Las concentraciones mayores se asocian a tumores de las células de Sertoli y de la granulosa ovárica. En la mujer, sus valores aumentan progresivamente desde la infancia hasta la adolescencia media con valores promedios de 4,7 ng/ml; luego decaen siendo indetectable en mujeres menopáusicas <sup>2,5</sup>.

La AMH actúa a través su receptor específico AMH-RII y otro inespecífico AMH-RI, reclutado por el primero con el que forman un heterotetrámero <sup>7</sup>. El

AMH-II es una proteína con 2 sitios de N-glicosilación, y tres dominios: extracelular, transmembrana e intracelular. Actúa a través de una serina/treonina quinasa por mecanismos de transfosforilación y su gen se localiza en el cromosoma 12. El receptor tipo I es compartido con otros miembros de la familia de TGF.

La AMH está presente en el ovario desde la etapa fetal interviniendo en el desarrollo folicular, por lo cual se tratarán de revisar los mecanismos regulatorios en los cuales está involucrada.

**Desarrollo folicular:** Durante la vida fetal, el ovario está poblado por células germinales, que luego de la migración y proliferación entran en la primera fase meiótica sin finalizar el proceso <sup>8,5</sup>. Las células germinales se rodean de células somáticas (pre-granulosa) formando los folículos primordiales alrededor de la semana 20 de gestación; cuando fallan en ser rodeadas, entran en apoptosis. Algunos folículos primordiales inician el crecimiento, pero la mayoría permanece en estado quiescente hasta ser estimulados por los factores iniciadores del reclutamiento. El ovocito rodeado por escasas células de “pregranulosa” aplanadas aumenta su tamaño, y las células de la granulosa que lo rodean adoptan un aspecto columnar, proliferan y comienza el proceso denominado de reclutamiento (que es independiente de la acción gonadotrófica). A través de la vida estos folículos primordiales se incorporan al pool de folículos en crecimiento, pero la mayoría se pierde por atresia (proceso apoptótico) si no son rescatados por la acción estimulante de FSH. El rescate y la selección, comienza después de la pubertad con la activación del eje hipotálamo-hipofisario y los ciclos menstruales, razón por la cual existe una disminución marcada de folículos primordiales desde el nacimiento hasta el desarrollo puberal <sup>9,5,8</sup>. Durante la etapa fetal existen en el ovario varios millones de folículos, al nacimiento entre uno y dos millones, y al comienzo de la pubertad entre 400000-500000 folículos primordiales de los cuales el 1% ovulará. La foliculogénesis comienza con el reclutamiento de una cohorte de folículos primordiales a la fase de crecimiento, continúa con la expansión del ovocito, proliferación de las células de la granulosa, formación de la teca y la cavidad antral. De la cohorte de folículos rescatados por la acción de

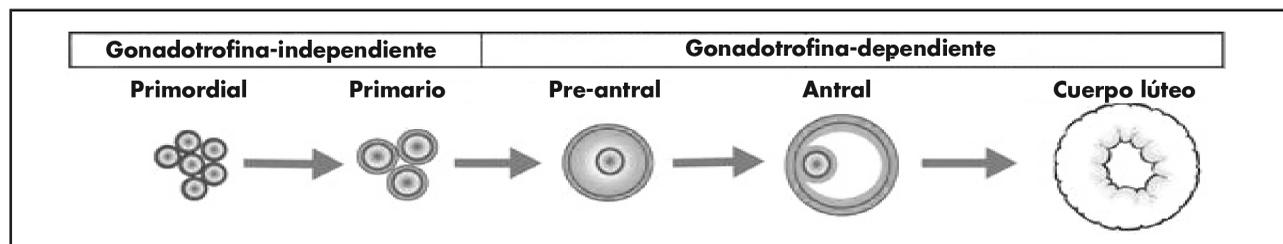
FSH, sólo uno es seleccionado como folículo dominante. La ovulación se produce por la acción estimulante de LH y los otros folículos de la cohorte <sup>10,11</sup> van a la atresia. Con la ovulación, se reanuda la meiosis del ovocito, que había quedado interrumpida en la etapa fetal. Este proceso continúa a través de la vida hasta que el pool de folículos primordiales se agota, desaparece el crecimiento folicular ovárico resultando la menopausia. El pasaje de folículo primordial a primario y alcanzar el estadio preantral se logra luego de varios meses, requiriendo 70 días adicionales para alcanzar 2 mm de diámetro (estadio antral medio) <sup>12</sup>.

El índice de folículos reclutados, depende del tamaño del stock de folículos primordiales que con la edad disminuyen exponencialmente <sup>13</sup>.

De acuerdo a Skinner <sup>14</sup>, el ensamble de los folículos primordiales y la subsiguiente transición a folículo primario es un proceso crítico en la biología del desarrollo ovárico, que afecta directamente el número de ovocitos disponible para la mujer a través de toda su vida reproductiva. La inapropiada coordinación de este proceso contribuye a las patologías ováricas tales como la falla ovárica prematura y la infertilidad. El ensamble del folículo primordial y su desarrollo está coordinado por factores parácrinos locales, factores de crecimiento autócrinos, y por la Progesterona (P4) producida localmente. Actúan el “stem cel factor”, de gran importancia durante la migración y proliferación de las células germinales, el factor inhibidor de la leucemia (LIF) y la Insulina <sup>15</sup>. También intervienen otros mecanismos potenciales de señalización como el kit ligando (KL), el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), que son secretados por las células de pre-granulosa y por el ovocito, teniendo un mutuo efecto estimulatorio sobre el ovocito y las células de la granulosa y también sobre el reclutamiento de las células de la teca.

Kezele P, Skinner MK <sup>16</sup> demostraron en el embrión, que la P4 reduce la apoptosis requerida para el ensamble de los folículos primordiales. Plantean que los altos niveles de esteroides maternos y fetales, previenen el ensamble prematuro de folículos primordiales y su

Figura 1: Foliculogénesis



transición a folículos primarios, controlando y preservando el desarrollo folicular temprano del embrión. Luego del nacimiento bajan significativamente los esteroides, liberando a los folículos primordiales para su ensamble y desarrollo posterior (Figura 2).

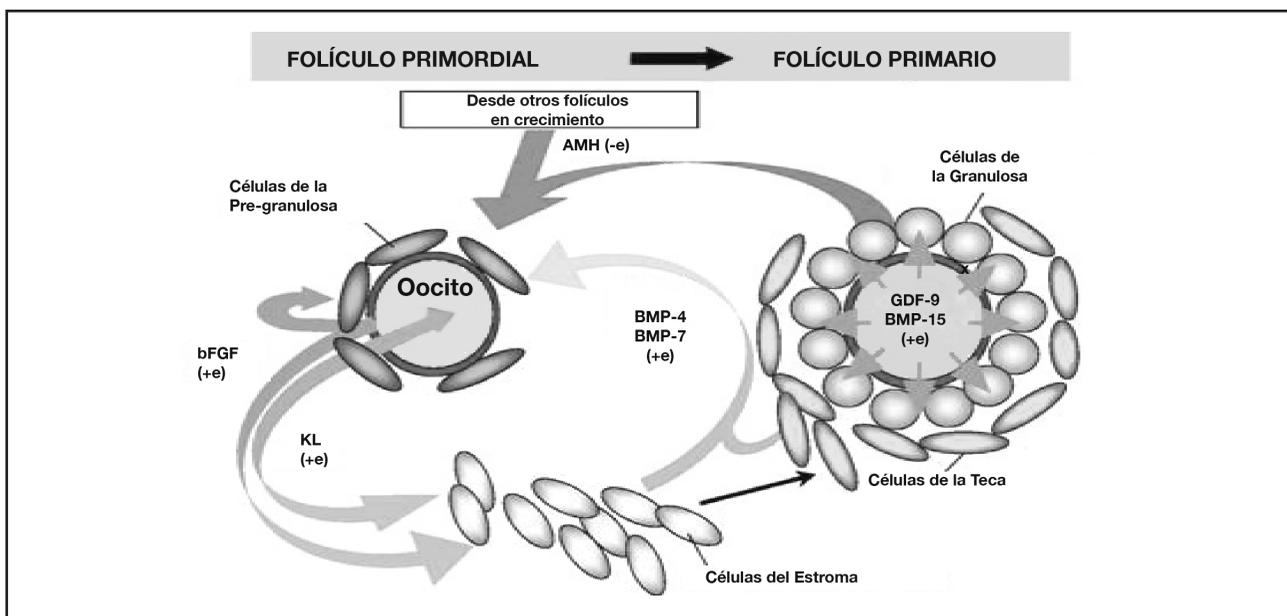
Para el normal reclutamiento y desarrollo folicular, existen evidencias de comunicación bi-direccional entre el ovocito y las células de la granulosa que lo rodean (derivadas del epitelio), y de las células de la granulosa con las células intersticiales de la teca (estroma /derivadas del mesénquima) <sup>14,17</sup>. Los factores de crecimiento pertenecientes a la superfamilia de los factores transformantes beta (TGF- $\beta$ ) son expresados por las células somáticas y los ovocitos en desarrollo, y actúan regulando la foliculogénesis normal. Dos de estos factores positivos son: las proteínas morfogenéticas óseas “bon morphogenetic proteins” BMP-4 y BMP-7 expresadas por el estroma ovárico, y/o las células de la teca que regulan la transición del folículo primordial a primario y promueven la sobrevivencia y la activación folicular. En contraste, existen evidencias que indican a AMH <sup>18</sup> como factor regulatorio negativo, producido por la células de la granulosa de folículos menores de 4 mm y hasta 6 mm. Por efecto parácrino disminuye el reclutamiento de los folículos primordiales y la respuesta a FSH de las células de la granulosa de los folículos primarios y preantrales, y su progresión. La Inhibina producida por las células de la granulosa de folículos antrales produce aumento de la producción de andrógenos inducido por LH, puede disminuir el crecimiento de los folículos circundantes, y en el cuerpo lúteo aumenta la producción de

P4. En síntesis, los estudios del desarrollo folicular tardío indican el rol positivo de los derivados de las células de la granulosa como activina, BMP-2, -5 y -6, los producidos por las células de la teca, BMP-2, -4 y -7 y del producido por el ovocito BMP-6 que promueve la división de las células de la granulosa, la sobrevivencia folicular previniendo la luteinización prematura y/o la atresia. Concomitantemente, activina, TGF-B y algunos BMP pueden ejercer una acción parácrina sobre las células de la teca, atenuando la producción androgénica dependiente de LH de los folículos pequeños y antrales medianos.

Se observó una gran promiscuidad entre los receptores a través de los cuales actúan los TGF $\beta$ , y entre las proteínas de unión extracelulares que sirven para modular la unión del ligando con su receptor. Quizás esta redundancia no debe sorprender ya que la foliculogénesis ovárica es esencial para asegurar la propagación de la especie.

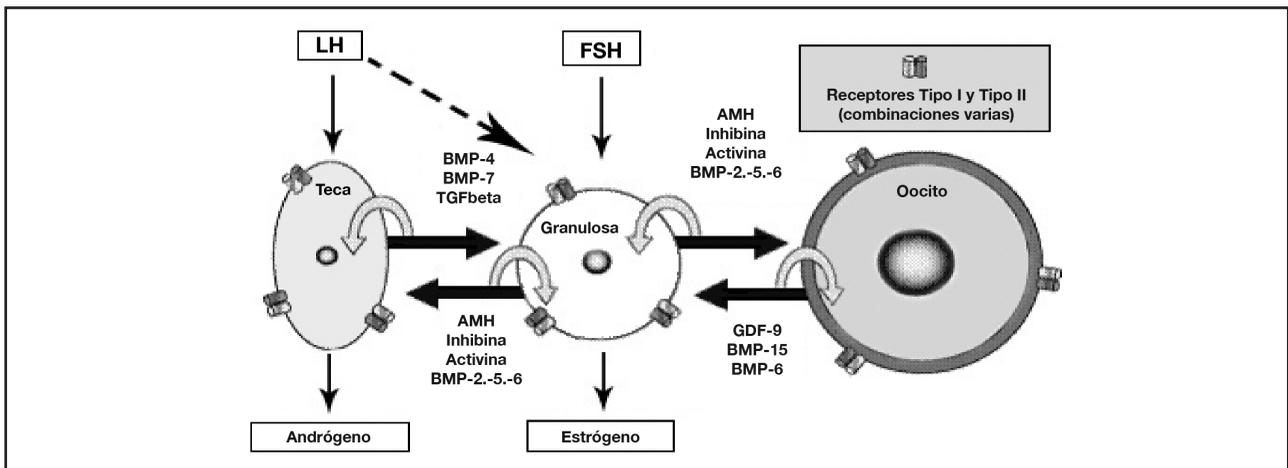
La selección del folículo dominante depende de la sensibilidad diferencial a FSH entre la cohorte de folículos antrales pequeños en crecimiento. Modificaciones intrafoliculares de GDF-9, AMH y algunos BMP pueden contribuir en el proceso de selección, modulando mecanismos de señales dependientes de FSH y de IGF en las células de la granulosa <sup>13</sup>. Según el estadio de desarrollo, cada folículo requiere diferente cantidad de FSH para continuar su crecimiento, definiendo su propio umbral para permitir la selección. La menor concentración de AMH alrededor del folículo, disminuye éste umbral, facilitando la continuación del crecimiento folicular y la ovulación (Figura 3).

**Figura 2:** Desarrollo folicular: Folículo primordial- folículo primario. Factores de crecimiento que los regulan. Adaptado de Knight PG & Glister C (17) Reproduction 2006.



**Figura 3:** Factores de crecimiento que se sintetizan y actúan interrelacionando la célula de la teca, la granulosa y el ovocito. Hormonas que las estimulan y que se sintetizan en las mismas.

Adaptado de Knight PG & Glister C (17) Reproduction. 2006

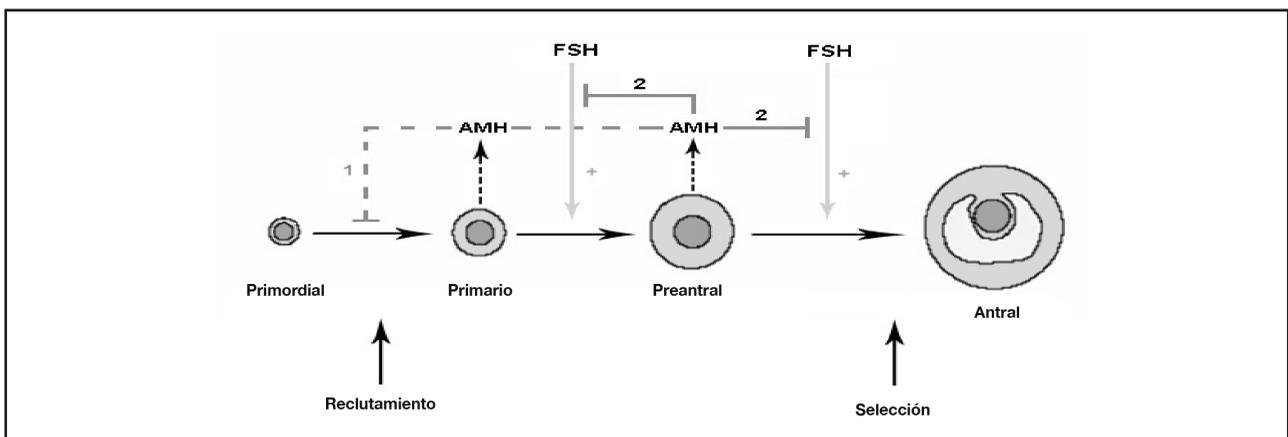


Durlinger y col<sup>18</sup> demostraron que la exposición de ovarios de rata neonatales a AMH disminuye a la mitad los folículos en crecimiento. Contrariamente, ratones con delección del gen AMH muestran un incremento del reclutamiento de folículos primordiales, resultando una disminución prematura de la reserva ovárica. La observación que AMH está ausente en folículos primordiales, pero detectable en células de la granulosa de folículos primarios hasta antrales pequeños, soporta el concepto que los folículos en crecimiento ejercen una influencia inhibitoria en el arresto de los folículos primordiales y que esta acción es producida por AMH. El patrón de expresión de los receptores RAMH II indica que la acción inhibitoria es ejercida a nivel de las células pre-granulosa/granulosa más que en el ovocito<sup>19</sup>. Por lo tanto la AMH inhibe la incorporación al “reclutamiento” de los folículos primordiales, interfiere con la acción estimuladora de FSH en la expresión de la aromatasas impidiendo la progresión del crecimiento de los

folículos de la cohorte, evitando la ovulación múltiple. De esta manera AMH en condiciones fisiológicas normales, interviene en el proceso de reclutamiento y en el de selección, siendo la encargada de preservar la reserva folicular y asegurar la monoovulación (Figura 4).

Para estudiar los mecanismos por los cuales los ovocitos primordiales quiescentes inician la foliculogénesis, y a qué nivel se produce la inhibición por AMH, Skinner 2007<sup>20</sup>, incubó ovarios de rata de 4 días, con o sin AMH y distintos factores de crecimiento, (bFGF), (KL) y (KGF). Luego de 10 días de cultivo, los ovarios se seccionaron y por tinción específica, evaluaron el porcentaje de folículos primordiales respecto de los folículos en desarrollo. Observaron que AMH disminuye la transición folicular al inhibir el efecto estimulante de KL, bFGF y de KGF y modificar expresión de 707 genes; disminuye la expresión de factores estimulantes e inhibe los inhibitorios ej. TGFb.

**Figura 4:** Intervención de la AMH en la foliculogénesis. Adaptado de Durlinger, A (15), Reproduction 2002



Por marcación histoquímica<sup>15</sup> observaron que AMH se encuentra sólo en las células de la granulosa de los folículos primarios y en transición de crecimiento hasta antrales pequeños. No así en folículos primordiales, antrales, en cuerpo lúteo, en células tecales ni en células del intersticio ovárico. La marcación de AMH en los folículos antrales en crecimiento es mayor cerca del antro y se va perdiendo hacia el exterior, indicando un gradiente funcional de las células de la granulosa que estaría regulado por factores locales<sup>8,15</sup>.

### AMH en función de la edad. Reserva ovárica

Normalmente para evaluar la reserva ovárica, se determinan en la fase folicular temprana los niveles de FSH, Inhibina B y E2. Inhibina B y E2 son producidos por los folículos antrales tempranos en respuesta a FSH, y contribuyen al feedback clásico del eje hipofisario-gonadal suprimiendo la secreción de FSH. Con la disminución del contenido folicular ovárico, los niveles de Inhibina B y E2 disminuyen y aumenta la secreción de FSH<sup>21</sup>. Estos cambios son dependientes uno del otro, y ocurren en las etapas relativamente tardías del proceso de envejecimiento reproductivo<sup>22</sup>. La cuantificación del número de folículos antrales determinados por ecografía sería el mejor predictor de la reserva ovárica<sup>23,24</sup> sin em-

bargo, sería necesaria una ecografía transvaginal de alta resolución en la fase folicular temprana. Por dicha razón proponen a la hormona antimülleriana (AMH) como marcador plasmático, que refleja al número de folículos que entran al pool de crecimiento y que no es controlado por las gonadotropinas.

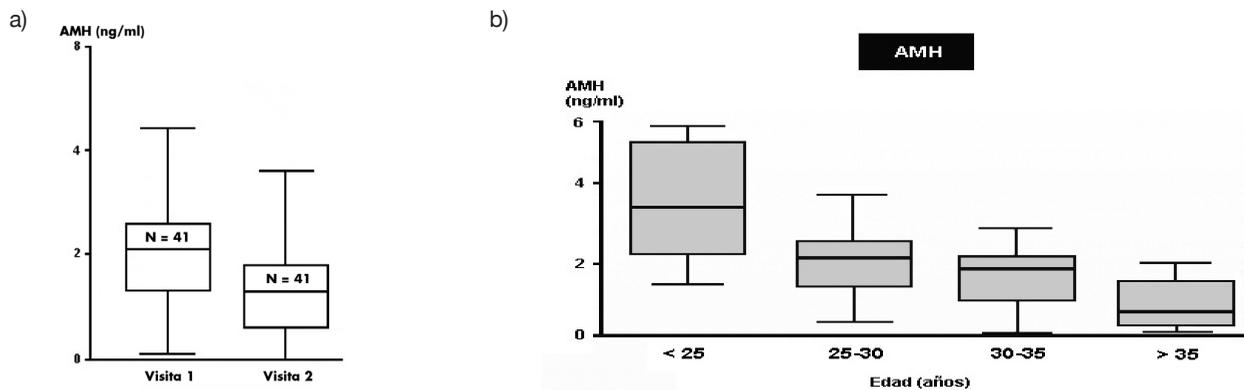
Las modificaciones en los niveles de AMH ocurren relativamente temprano en la secuencia de eventos asociados al envejecimiento ovárico en comparación con otros marcadores, aún en pacientes con ciclos menstruales regulares, lo cual le otorga una gran ventaja como herramienta diagnóstica. Esto fue demostrado por de Vet y col<sup>25</sup> quienes estudiaron a 41 mujeres sanas, premenopáusicas, normo-ovulatorias y 13 mujeres postmenopáusicas. Midieron los valores de AMH, inhibina B, FSH, E2 y el número de folículos antrales por ecografía en fase folicular temprana en dos ciclos menstruales separados por un intervalo de  $2,6 \pm 1,7$  años (Tabla 1).

Las pacientes menopáusicas tenían AMH no detectable. En las pacientes normo ovulatorias sólo AMH mostró diferencias significativas entre las dos evaluaciones. En el análisis de AMH por edades se observa una disminución significativa de AMH a partir de los 25 años, con una gran dispersión de valores en cada grupo (Figura 5).

**Tabla 1:** AMH, FSH, Inhibina-B, Estradiol y Recuento de Folículos Antrales en dos evaluaciones distanciadas entre  $2,6 \pm 1,7$  años. Datos tomados de (25)

	Visita I	Visita II	P
AMH (ng/ml)	2.1 (0.1-7.4)	1.3 (0.0-5.0)	<0.01
FSH (mU/ml)	6.0 (1.4-13.5)	5.8 (2.4-13.4)	0.29
Inhib-B (pg/ml)	112 (12-213)	110 (4-206)	0.92
Estradiol (pg/ml)	41 (17.4-110)	43 (19-169)	0.52
Nro fol. Antrales (NFA)	14 (6-28)	14 (2-24)	0.27

**Figura 5:** a) Variación de AMH en mujeres normales entre 2 visitas espaciadas por  $2,6 \pm 1,7$  años b) Variaciones de AMH con la edad en mujeres normales. Adaptado del trabajo de de Vet y col.(25) Fertility and Sterility, 2002.



Este estudio también demostró mayor correlación entre los valores de AMH y el número de folículos antrales que las otras hormonas. La disminución de AMH plasmática con la edad de las mujeres se evidencia antes de que aparezcan modificaciones en otras variables clínicas ya conocidas, indicando que esta hormona podría ser el mejor marcador de envejecimiento ovárico y transición a la menopausia.

En los años que preceden a la menopausia los ciclos pueden ser irregulares, disminuye la fertilidad y algunos autores consideran a éste período de transición con un intervalo fijo<sup>26,27</sup>, planteando que la mediana de edad de alcanzar la menopausia es de 51 años en el mundo occidental<sup>28</sup>. Sin embargo, mujeres con la misma edad tienen distinta reserva ovárica, por lo cual se considera a la edad cronológica como el peor indicador de la edad reproductiva y por consiguiente de reserva ovárica<sup>29</sup>.

Kwee J. y col<sup>30</sup> comparan la utilidad de los valores de AMH con la mayoría de los tests utilizados en evaluar la reserva ovárica a pacientes que iniciarán tratamiento de fertilización in vitro (FIV). Determinaron: AMH, FSH, Inhibina B, número de folículos antrales (NFA) y la medición del volumen ovárico en forma basal. Analizaron las respuestas al citrato de Clomifeno (CC), a la FSH exógena (FE) y evaluaron el número de folículos estimulados, número de ovocitos recuperados y logro de embarazo. Encuentran que la mejor predicción de reserva ovárica lo integra el modelo que simultáneamente incluye NFA, incremento de Inhibina-B y el volumen ovárico en respuesta a la FSH exógena. Consideran como variables de peor pronóstico a la AMH (cuando está baja), la respuesta al tratamiento con CC, FSH basal y NFA. Concluyen que la determinación de AMH es comparable con los otros tests, siendo más aplicable a la práctica general.

En el "Stages of Reproductive Aging Workshop" (STRAW) 2001<sup>31</sup> (primer guía de clasificación estandarizada para determinar la edad reproductiva de la mujer) se propone el valor de FSH > 40 mU/ml como el parámetro más satisfactorio en predecir la transición a la menopausia, aunque de menor valor predictivo que 60 o más días de amenorrea<sup>32</sup>. Posteriormente propusie-

ron a INHB y AMH como los parámetros bioquímicos más precoces para establecer el estatus reproductivo en la mujer<sup>33</sup>. Hale et al 2007<sup>34</sup> en base a los cambios en la longitud y frecuencia de los ciclos menstruales, clasifica a las pacientes en 4 grupos, MRA: edad reproductiva media, LRA: edad reproductiva tardía, EMT: transición a la menopausia temprana y LMT: transición a la menopausia tardía. Describe que, a medida que progresan los estadios de STRAW, aumentan los niveles de LH y FSH y E2, disminuye P4 en la fase lútea y disminuyen significativamente INHI-B y particularmente AMH.

Lutchman Singh K y col<sup>35</sup> proponen las determinaciones en suero basales y post estimulación ovárica de AMH, FSH, Inhibina-B y E2 y el número de folículos antrales para la evaluación de la reserva ovárica de mujeres jóvenes tratadas con cancer de mama.

### AMH en el embarazo

La Marca A y Volpe A<sup>36</sup> comparan los niveles de AMH de mujeres normales no gestantes con pacientes en los tres trimestres de embarazo y en el puerperio. Durante la fase folicular del primer grupo AMH: 1.9+/-0.5 ng/ml. En los tres trimestres y en el puerperio los niveles de AMH fueron: 2.1 +/- 0.56, 2.4 +/- 0.64, 1.95 +/- 0.6 y 2.05 +/- 0.55 ng/ml respectivamente. No encontraron diferencias significativas entre los períodos y postulan que está conservada la actividad ovárica no cíclica y, además, que FSH no jugaría un rol directo sobre la síntesis y secreción de AMH.

### Contenido de AMH en líquido folicular, comparación con valores plasmáticos

Claus y colaboradores<sup>37</sup> utilizaron material ovárico de pacientes operadas por cáncer y de pacientes tratadas por FIV. Compararon el contenido hormonal del líquido folicular de folículos de 3-8 mm de diámetro (hasta antrales pequeños) con el de folículos preovulatorios y los valores en suero. Observaron que la concentración de AMH en los folículos antrales pequeños fue tres órdenes de magnitud más elevados que en los preovulatorios; los resultados se resumen en la Tabla 2

**Tabla 2:** Comparación del contenido hormonal del fluido folicular de folículos pequeños (antrales pequeños) con el de folículos preovulatorios. Datos tomados del trabajo de Claus y col (37) 2006 J Clin Endocrinol Metab V.91,

	Fol.antrales pequeños	Fol. preovulatorios
N	35	32
Estradiol (ng/ml)	15 ± 5.18	629.4 ± 57.2
Progesterona (ng/ml)	97 ± 28.6	25849.0 ± 1603.7
AMH (ng/ml)	790 ± 95	1.17 ± 0.14
Inhibina-B (ng/ml)	71.4 ± 9.7	31.9 ± 4.1
Inhibina-A (ng/ml)	3.4 ± 1.0	57.2 ± 5.3

La alta expresión de AMH en las células de la granulosa de los folículos antrales pequeños, se traduce en altas concentraciones de AMH en su fluido folicular. Los valores altos de AMH en suero están relacionados con el número de folículos antrales pequeños. Sugieren que FSH regula negativamente la expresión de AMH por la correlación negativa entre E2 y AMH, y postulan que el micro-ambiente folicular determina las modificaciones en el desarrollo antral.

#### **Estabilidad de AMH durante el ciclo menstrual**<sup>38,39</sup>

Determinaron LH, FSH, E2 y AMH en distintos momentos del ciclo menstrual, y observaron que los valores de AMH a lo largo del ciclo menstrual no presentaron fluctuaciones significativas en contraste con los niveles de LH, FSH y Estradiol. Las fluctuaciones espontáneas de AMH fueron leves, indicando la posibilidad de utilizarla como marcador de reserva ovárica independientemente del día del ciclo menstrual, pero Wunder DM<sup>40</sup> encuentra en mujeres normales, que AMH se modifica a lo largo del ciclo menstrual, con valores más elevados en la fase folicular tardía que en el pico ovulatorio y la fase lútea. Hehenkamp-Themmen AP<sup>41</sup> describen que los niveles de AMH permanecen relativamente estables a través del ciclo menstrual, y tienen mayor valor predictivo de reserva folicular que el recuento del número de folículos antrales y que los valores de FSH o INHB<sup>42</sup>.

#### **Influencia de los anticonceptivos sobre AMH y en la evaluación de la reserva ovárica:**

El uso de anticonceptivos orales, en mujeres normales luego de 3 meses de tratamiento<sup>43</sup>, evaluadas en la fase folicular temprana, no modifica los valores de AMH, como tampoco luego de 6 meses<sup>44</sup>, en mujeres normales ni en las pacientes con poliquistosis ovárica (PCO). De tal manera que, si bien los anticonceptivos pueden enmascarar el diagnóstico de PCO por modificar los parámetros andrológicos, al no modificarse la AMH y mantenerse igualmente elevada respecto del grupo normal, permite la caracterización de las mismas sin necesidad de modificar el tratamiento, (AMH Basales: PCO+/-DS; 5.49+/-2.26 y Normales 1.93+/-0.51 ng/ml; p=0.001).

Sin embargo, fueron distintos los resultados encontrados por Arbo E<sup>45</sup> y col. Ellos estudiaron el efecto sobre la disminución de FSH de los anticonceptivos orales (ACO), suministrados en fase lútea en un solo ciclo en mujeres normales. Evaluaron en el día 3 del ciclo AMH, FSH, E2 y características foliculares por ecografía. Suministraron ACO el día 20 de dicho ciclo (fase lútea tardía) y reevaluaron el día 3 del ciclo siguiente. FSH y E2 disminuyeron significativamente, no así el

número de folículos antrales, aunque disminuyeron su tamaño (4.4+1.7 mm vs. 3.5+1.2 mm p< 0.001). También se modificaron los niveles de AMH (ng/ml) 3.02 (1.21-6.39), post ACO 2.22 (0.9-3.11) P=0.04. Postulan que el corto aporte de ACO en la fase lútea causa la supresión de FSH en su transición intercíclica, determinando una cohorte folicular arrestada, más homogénea, que produce menor cantidad de AMH.

#### **AMH su aplicación en fertilización asistida**

AMH, en contraste con Inhibina B y E2, su producción es presuntamente independiente de FSH. La concentración periférica de AMH en el día 3 del ciclo tiene la mayor sensibilidad del estatus folicular ovárico, fuerte relación con el número de folículos antrales y, en base a su comprobada reproducibilidad intercíclica comparada con inhibina, Estradiol y FSH, es usada como predictora de respuesta a la estimulación ovárica.

A pacientes<sup>42</sup> con estimulación ovárica, les determinaron AMH, INIB-B, E2, P4, Androstenodiona, Testosterona, recuento del número de folículos ≤ de 12 mm (antrales pequeños), el número de folículos ≥ 12 mm previa y post descarga ovulatoria con hCG por 4 días y 4 veces. Observan que AMH disminuye concomitantemente con el recuento de folículos ≤ 12 mm, mientras que aumenta el recuento de folículos ≥ 12 mm, E2, Inhibina B y el resto de los parámetros bioquímicos. Con la estimulación ovárica, AMH disminuye con la maduración folicular múltiple, reflejando su escasa expresión por los folículos mayores de ≥ de 12 mm.

Se determinó<sup>46</sup> AMH durante distintas fases del ciclo menstrual y su correlación con la respuesta a la estimulación ovárica en los tratamientos para ICSI, observando una estrecha correlación entre los valores de AMH determinados en la fase lútea media, la fase folicular temprana (día 3 del ciclo) y el período ovulatorio con el número de folículos recuperados. Las determinaciones de AMH en la fase folicular temprana y la lútea media ofrecieron mejor valor pronóstico de embarazo clínico. Si bien la concentración de AMH correlaciona con el número de ovocitos producidos, la consideran mejor parámetro en predecir posible embarazo y nacimiento<sup>47</sup>.

Para evaluar la relación entre AMH, inhibina B y el número de folículos antrales (NFA) con la respuesta ovárica en reproducción asistida<sup>48</sup>, tomaron las muestras basales el día 3 del ciclo a pacientes estimuladas con FSHr. Encontraron correlación negativa de NFA con la edad de las pacientes. La diferencia de Inhibina B del día 4 – día 3 resultó el mejor predictor del número de folículos recuperados, seguido por AMH y NFA. El número de folículos fertilizados se asoció fuertemente al valor basal

de AMH e Inhibina B. AMH con un “cutoff de 0.2 ng/ml” presentó la mejor sensibilidad (87%) y especificidad (64%) en predecir peor respuesta. El NFA fue buen predictor de embarazo clínico y del número de folículos recuperados. Sostienen que la utilización de todos los parámetros permite mejorar la predicción de respuesta al tratamiento.

Franchin, Fridman & Taieb <sup>49</sup> 2007 querían comprobar la aptitud individual de cada folículo en producir AMH y si ésta refleja su capacidad funcional de lograr embarazo. Compararon en ciclos foliculares monodominantes, la relación de AMH sérica y del fluido folicular (FF) con el destino del ovocito en la fertilización in vitro de lograr embarazo. Determinaron AMH en suero el día 3 del ciclo, el día de descarga con hCG y en el FF del ovocito recuperado. Clasificaron a los grupos de acuerdo a los niveles de AMH, Grupo < 1.0 ng/ml, 1.1-2.0 ng/ml y > 2.0 ng/ml a ambas evaluaciones de suero. También los FF fueron clasificados en tres niveles de AMH. Observaron que era mayor el tiempo requerido para lograr la maduración folicular (>16 mm de diámetro) cuanto más alto era el nivel de AMH del día 3 del ciclo. Correlacionaron positivamente los valores de AMH del día 3 con el de la descarga de hCG, reafirmando las observaciones de la estabilidad de AMH <sup>38,39</sup> en el ciclo y la presunta independencia de FSH. No encontraron correlación entre las concentraciones de AMH en el FF y las plasmáticas, y el éxito de embarazo clínico fue mayor cuanto mayor era el contenido de AMH del FF. Los índices de fertilización y la morfología embrionaria correlacionaron con los valores de AMH tanto en suero como en el FF y en el FF AMH relacionó negativamente con Progesterona y el Estradiol.

Lekamge DN & Tremellen KP <sup>50</sup> 2007 observan que las pacientes en los tratamientos de FIV con menos AMH y número de folículos antrales (NFA), tienen menor índice de fertilización, generan menos embriones y menos embarazos comparadas con las que tienen más alta AMH/NFA .

Con el objeto de evaluar si el valor de AMH determinado en cualquier día del ciclo menstrual, puede predecir la respuesta ovárica en mujeres en tratamiento de reproducción asistida ICSI/FIV), La Marca A & VolpeA 2007<sup>51</sup> tomaron muestras en distintos momentos de ciclo menstrual, evidenciando ausencia de fluctuaciones. Observaron que AMH<0.4 ng/ml (en el cuartil bajo) correspondió a mujeres de mayor edad, que requirieron mayores concentraciones de FSHr que las de AMH>7.0ng/ml (del cuartil superior). Todos los ciclos cancelados por falta de respuesta correspondieron a mujeres del cuartil bajo, en cambio las canceladas por riesgo de hiper-estimulación ovárica, correspondieron al cuartil alto. Encontraron una fuerte correlación entre los valores de AMH y la respuesta al tratamiento

gonadotrófico, y consideran que es la primera vez que en la clínica disponen de un marcador sérico de respuesta, que pueda ser tomado en cualquier momento del ciclo menstrual.

### AMH y falla ovárica prematura

La falla ovárica prematura (FOP) es generalmente irreversible, sin embargo se han reportado pacientes con devenida desarrollo folicular. Estudiaron biopsias <sup>52</sup> de ovario de pacientes con FOP con marcación inmunohistoquímica de AMH y medición simultánea de AMH plasmática al momento de la biopsia. Encontraron que la AMH plasmática era significativamente más alta con 15 o más folículos marcados y no detectable en el 77% de las pacientes con 0-5 folículos. El estudio reveló que las pacientes FOP pueden tener normal desarrollo folicular hasta los folículos preantrales con marcado defecto en los folículos antrales, resultando la AMH plasmática un buen marcador de presencia folicular.

### AMH en amenorrea Hipotalámica

Con la validación de los métodos de medición folicular ecográfica se demostró que los folículos de entre 2-5 mm (no seleccionables - hasta antrales pequeños) son observados en todos los estadios del ciclo menstrual, mientras que los de 6-9 mm (seleccionables) aparecen sólo en la fase folicular temprana (FFT). Tomando al tamaño folicular de 5 mm como límite entre los folículos “seleccionables”, datos también documentados por los trabajos de <sup>53</sup> (Pigny 2003) con arresto folicular en PCO. S.Jonard & D.Dewailly 2005 <sup>54</sup> estudiaron pacientes con amenorrea hipotalámica funcional (AHF), evaluando los marcadores ováricos con el déficit de FSH comparados con un grupo normal (GC). No encontraron diferencias en el número de ovocitos de 2-5mm pero sí disminuido el número de folículos de 6-9 mm paralelamente a menor superficie ovárica y menor BMI, pero los valores de AMH eran superiores en las AHF. Concluyen que el marcador que mejor refleja la insuficiencia de FSH es la posibilidad de determinar los folículos de 6-9 mm, que dependen del aumento de FSH intercíclico en mujeres normales. Resultó interesante el hallazgo que algunas pacientes con FSH normal, tengan bajos niveles de Inhibina B, a pesar de un número normal de folículos de 6-9 mm; esto sugiere que las funciones de crecimiento en dichos folículos están disociadas. Se considera que el umbral de FSH para inducir el crecimiento es menor que para la diferenciación. De acuerdo a dicha teoría existe una pérdida parcial de la actividad de FSH a nivel folicular, que no se refleja apropiadamente por su medición rutinaria en suero. Los niveles de AMH eran superiores que en el grupo control, a pesar de no haber diferencias en los folículos de 2-5 mm e independiente de los nive-

les de FSH en contraste con los controles. Posiblemente la mayor relación AMH/2-5mm que en el grupo control se deba a folículos no detectados por ecografía.

### AMH y PCO

El síndrome de ovario poliquístico (PCO) es una de las causas más comunes de anovulación, infertilidad e hiperandrogenismo, alteraciones del metabolismo de la glucosa (resistencia a la Insulina), con implicancias de riesgo en la salud a largo plazo, como el desarrollo de diabetes tipo II. A pesar de las múltiples investigaciones realizadas, todavía no están dilucidadas las causas y mecanismos que lo provocan. Considerando que la AMH se encuentra involucrada en el reclutamiento folicular inicial y cíclico, es de sumo interés investigar su rol en éstas disfunciones.

El hiperandrogenismo intra-ovárico es el responsable de estimular el desarrollo folicular temprano, determina un exceso de 2 a 3 veces el número de folículos de 2-5 mm. Este exceso folicular produce un incremento en los niveles de AMH que puede ejercer a) un efecto inhibitorio sobre la aromatasa inducida por FSH y b) un deterioro de la acción de FSH y/o una acción prematura de LH sobre los folículos seleccionados en reclutamiento y mayor producción de andrógenos<sup>12, 55</sup>.

El mayor aspecto de anomalía en pacientes PCO es la mayor proporción de folículos primarios (crecimiento temprano)<sup>53</sup> que en ovarios normales<sup>2</sup> y aún no se conocen las causas de estos cambios. Webber LJ y col<sup>56</sup> sostienen que se deben a alteraciones intrínsecas en el desarrollo folicular temprano. Encontraron en los cortes de biopsias de ovarios de mujeres PCO anovulatorias, seis veces más folículos pequeños en crecimiento, desde primordiales en transición, primarios y preantrales pequeños que los ovarios normales. Las pacientes PCO ovulatorias y no ovulatorias tienen incremento del crecimiento de folículos primarios respecto a las normales y un decrecimiento recíproco en la proporción de los folículos primordiales. Sugieren que el incremento de folículos preantrales pequeños pueda resultar de un incremento en la población de células germinales ováricas fetales o un menor índice de pérdida ovocitaria durante la gestación tardía, infancia y pubertad, como también por un crecimiento folicular más lento.

El mismo grupo de trabajo<sup>19</sup> utilizando inmuno-histoquímica con microscopía de alta resolución, describe que el aspecto del ovario de PCO se asemeja al encontrado en ratas sin AMH, y describieron por primera vez, marcación de AMH en los folículos primordiales. Dicha marcación era significativamente menor en los folículos primordiales y en los folículos en transición de los ovarios de mujeres anovulatorias que en las ovulatorias, ya sean normales o PCO. Los folículos primordiales

AMH negativos tenían menor cantidad de células de la pregranulosa que los normales. Por la asociación entre el número de células de la granulosa de los folículos con la marcación de AMH, sugieren que la expresión de AMH está asociada a la mitosis de dichas células. Concluyen que la deficiencia de AMH en los folículos primordiales y en transición contribuye al desorden del desarrollo folicular temprano en la población de mujeres con PCO, desconociéndose aún la causa primaria.

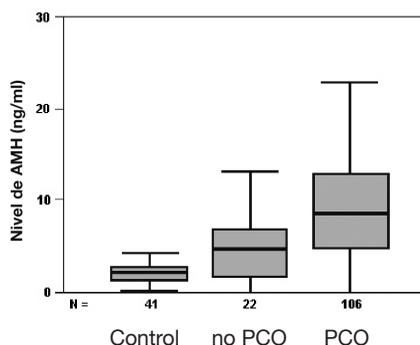
Si embargo, las pacientes PCO (definidas por ecografía por al menos 8 folículos entre 3-8 mm de diámetro, en un plano, en un ovario, según el criterio de Róterdam)<sup>57</sup> disminuyen sus valores de AMH con la edad<sup>55</sup>, al igual que las mujeres normales, pero siempre con niveles 2-3 veces más elevados comparadas con su grupo etáreo. AMH permanece elevada hasta los 40 años y correlaciona con el número de folículos antrales, se preserva la edad reproductiva hasta edades mayores en que llegan a regular sus ciclos menstruales<sup>55</sup>.

Laven y col.<sup>58</sup> 2004 evaluaron AMH en 128 mujeres infértiles comparadas con 41 mujeres premenopáusicas normo-ovulatorias. De las 128, 106 presentaron PCO y 22 eran anovulatorias normogonadotróficas. Observaron que las concentraciones de AMH fueron mayores en el grupo PCO respecto de los otros ( $p < 0.001$ ) y con diferencias significativas entre ellos correlacionando al número de folículos pequeños (Figura 6).

Piltonen y col también observaron<sup>55</sup> que en pacientes normales y en PCO, la AMH correlaciona positivamente con Androstenediona, Testosterona y negativamente con FSH y la edad. El tratamiento con metformina, al tiempo de mejorar los parámetros metabólicos disminuyen significativamente AMH y el número de folículos antrales en ambos grupos.

Se evaluó<sup>61</sup> cómo influía AMH y el descenso

**Figura 6:** Comparación de los niveles de AMH. Modificado de Laven J.S. y col. (58)



En mujeres fértiles (control) con pacientes anovulatorias normogonadotróficas (no PCO) y un grupo PCO

del peso en los parámetros metabólicos y en la disminución de los andrógenos<sup>59</sup> en pacientes PCO. Observaron que el grupo en el cual el descenso de peso restableció los ciclos menstruales y mejoraron los parámetros de resistencia a la insulina tenían valores basales más bajos de AMH. Postularon que AMH es un potencial predictor clínico del mejoramiento menstrual, con el descenso de peso de las pacientes.

Resultan muy interesantes los estudios *in vitro* de Pellatt LI (2007)<sup>60</sup>. Analizan la producción de AMH al medio de cultivo por células individuales aisladas de folículos de mujeres normales (GC), de PCO ovulatorias (PCOov) y PCO no ovulatorias (PCO no ov). Comparan la producción de AMH por células aisladas de folículos ováricos de distinto tamaño. Analizaron la producción de células de la granulosa (CG), teca y fluido folicular (FF) que aislaron de folículos intactos. Cultivaron las células por 48 hrs. +/- LH y FSH y determinaron la concentración de AMH en el FF y en el medio de cultivo celular (MC).

La AMH del FF: 42 a 2240 ng/ml, en el MC de las CG normales: 0.025-1.7 ng/m, correspondiendo las concentraciones más altas de AMH a las provenientes de folículos de menor tamaño. AMH fue baja o no detectable en FF en cultivo de CG de folículos con más de 9 mm, en las células luteinizadas, de la teca o del estroma. La producción de AMH por las células de la granulosa fue cuatro veces más alta en el grupo (PCO ov): 1.56 (0.025-7)ng/ml y 75 veces más alta en(PCO no ov): 21.4(17.2-43.0) ng/ml que en las de ovarios normales 0.37(0.025-1.7). La LH y FSH no afectaron la producción de AMH por las CG de los normales, pero sí en las células tomadas de PCO. FSH disminuyó significativamente AMH, en contraste LH la estimuló. La AMH producida por las células tomadas luego del estímulo con hCG, resultó no detectable (pacientes de FIV). Esto refuerza la importancia de la supresión de AMH de los folículos mayores de 9 mm como requerimiento importante para permitir la selección del folículo dominante. La producción de AMH por las CG de (PCO no ov) fue 75 veces mayor comparada con los ovarios normales. Este incremento puede contribuir a la falla en el crecimiento folicular y la anovulación observada en el síndrome de ovario poliquístico (PCO).

La AMH plasmática en mujeres normales está en el rango de 1.2 y 2.4 ng/ml, mientras que en el líquido folicular la AMH se encuentra entre 100 y 1000 veces más alta, demostrando la producción local de las células de la granulosa y su acumulación en el fluido folicular.

Las pacientes con PCO tienen AMH plasmática 2 y 3 veces más elevada respecto que las mujeres normales y con mayor contenido folicular en los ovarios<sup>53,12,55,56,58</sup>, puede suponerse que el aumento de AMH en

estos grupos se debe no sólo al mayor número de folículos sino a una mayor producción por célula, siendo aún mayor en el grupo PCO no ovulatorias. Este trabajo<sup>60</sup> se contrapone con los resultados de Pigny – Dewailley 2006<sup>61</sup> en el que correlacionan AMH con el número de folículos pequeños y encuentran la misma pendiente de correlación en el grupo control que en PCO; ellos postulan que cada folículo produce la misma cantidad de AMH, provenga de un ovario normal o con PCO. Dicho trabajo se basa en datos ecográficos, pudiendo ser una de las causas de la diferencia al considerar sólo folículos de 2-5 mm y no a los de 6 a 9 mm, y tampoco separan los grupos con amenorrea oligomenorrea de los que tienen ciclos regulares. Otra posible diferencia, es que los folículos matchados por tamaño en PCO pudieran contener menor contenido de células de la granulosa que los provenientes de ovarios normales, de tal manera que el incremento por célula puede estar parcialmente viciado<sup>60</sup>.

Se desconoce la causa del incremento de la producción de AMH; los estudios clínicos proponen a los andrógenos como posibles responsables ya que existe correlación entre el nivel androgénico y AMH, especialmente en pacientes PCO<sup>12,53,55,58</sup>. Pacientes en tratamiento de FIV tienen niveles más elevados de AMH cuando tienen hiperandrogenismo y PCO comparadas con las que tienen PCO con andrógenos normales. Los andrógenos suelen estar más elevados en las PCO no ovulatorias que en las ovulatorias. Recientemente se describieron a los receptores androgénicos (RA) en folículos en transición a primarios, indicando su influencia temprana en el desarrollo folicular<sup>62</sup> (Rice & Mason HS, 2007) (anterior a la presencia de receptores para FSH).

Se sabe que FSH tiene un efecto inhibitorio de AMH en células de la granulosa de rata, situación discutida en humano<sup>53,63</sup>, encuentran asociación negativa entre AMH y FSH. Pellatt L.<sup>60</sup> no observan efecto de FSH sobre los ovarios normales pero encuentran inhibición en las células de PCO. Lo explican por la conocida hipersensibilidad de ésta células a FSH con la inducción de ovulación produciendo E2, debiendo controlar este grupo de la hiperestimulación ovárica.

Se intenta especular que FSH en estos tratamientos de inducción de ovulación, podría producir una inhibición local de AMH como uno de sus mecanismos de acción.

A propósito de esto y considerando que en PCO el exceso de AMH estaría involucrada en el arresto folicular, inhibiendo el efecto de FSH sobre la expresión de la aromatasa, Dewailly y col 2007<sup>64</sup> decidieron monitorear el efecto de la administración de dosis mínimas de FSHr en un ciclo de estimulación. Observaron que en PCO anovulatorias, los incrementos leves de FSH exógena, reducen el exceso de AMH, liberando la ex-

presión de la aromatasas de los folículos seleccionados, permitiendo la emergencia del folículo dominante. Con otro protocolo de estudio <sup>65</sup> evaluaron la respuesta a una dosis única aguda de FSH en un grupo control con ciclos menstruales normales y un grupo con ovarios poliquísticos PCO. Determinaron AMH cada 4 horas y por las 24 horas del estudio. Los valores de AMH basales del grupo PCO y el grupo normal eran: 7-8 y 2.1 ng/ml respectivamente. Observaron que la exposición única y aguda a FSH, no indujo modificaciones en los niveles de AMH de ninguno de los grupos, aunque se comprobaron diferencias significativas en las respuesta de E2.

Con respecto al efecto de LH <sup>60</sup> sobre las células de la granulosa en cultivo, las células de ovarios normales respondieron escasamente a LH, mientras que los grupos PCO incrementaron 4 veces la producción de AMH. Se propone que las células de la granulosa de PCO adquieren más anticipadamente la capacidad de respuesta a LH que los ovarios normales. Algunas mujeres con PCO tienen valores elevados de LH y esto podría determinar incrementos de la producción de AMH.

La sobreproducción de AMH puede tener importantes implicancias sobre los mecanismos de anovulación de pacientes PCO y, considerando el hallazgo de receptores tipo II de AMH (AMHR II) en células de la granulosa y células de la teca, determina que los estudios de las acciones de AMH sobre el ovario humano adquieran mayor impulso<sup>62</sup>.

Anteriormente <sup>56</sup> consideraban que los dos mayores responsables del arresto folicular eran el hiperandrogenismo y la hiperinsulinemia, y a el exceso folicular de 2-5 mm como posible variable independiente. El reciente análisis multivariado de Dewailly D, 2007 <sup>66</sup> aplicado retrospectivamente sobre 457 pacientes PCO y 188 pacientes controles agrupadas por edades, llevaron a estos autores a postular que el exceso de folículos de 2-5 mm constituye una variable independiente y fundamental en el arresto folicular en PCO, con un efecto fisiológico exagerado sobre la finalización del crecimiento folicular.

### AMH. Componente hereditario

Se observó que las hijas de pacientes con PCO, pueden nacer con déficit de crecimiento u otras complicaciones de las alteraciones metabólicas de la madre <sup>12</sup> y que podían, durante su maduración sexual, también desarrollar dicha patología. Sir-Petermann T & Cassorla 2006 <sup>67</sup> demostraron que las hijas de pacientes con PCO, en la infancia temprana (2 y 3 meses) y (4 a 7 años), tienen mayores niveles de AMH que los controles respectivos. Para verificar si estas niñas pudieran tener en la pubertad una alteración en su desarrollo folicular, Crisoto N, 2007 <sup>68</sup> estudiaron 18 hijas de PCO y 33 de mujeres controles entre 8 y 16 años. Ambos grupos eran comparables en BMI y en los estadios de Tanner. Las hijas

de PCO tenían elevados los andrógenos libres, T, AMH e Insulina post 2 hs glucosa, y en ambos grupos la AMH correlacionó con la Insulina post 2 hs gluc. Verificaron que en la pubertad las hijas de pacientes PCO ya tienen incrementados los niveles de AMH y la masa folicular.

### PCO y respuesta al drilling

Años atrás, las pacientes con PCO eran sometidas a resecciones ováricas, con el objeto de lograr una descompresión folicular y posibilitar el embarazo. Conociendo la influencia de AMH en la inhibición del crecimiento multifolicular, inhibiendo la expresión de FSH y también la inhibición de la aromatasas, se está recurriendo al "drilling" laparoscópico en algunas pacientes PCO multisintomáticas. Weerakiet y col 2007 <sup>69</sup> estudiaron la respuesta al tratamiento de pacientes PCO al "drilling" (grupo LOD). Los valores de AMH (4.6 +/- 3.16 ng/ml) resultaron menores que en el grupo PCO sin tratar (5.99 +/- 3.36 ng/ml), aunque sin diferencias significativas. FSH del día 3 fue significativamente más alto y el número de folículos antrales (NFA) más bajo en el LOD que en el grupo PCO. El grupo PCO presentó valores significativamente más altos de AMH, NFA, volumen ovárico y valores menores de FSH en el día 3 del ciclo que el grupo control. En resumen, ambos grupos PCO, con o sin LOD, presentaron mayor reserva ovárica que el grupo control con edades similares y ciclos menstruales normales.

### AMH. Nuestra experiencia

Estudiamos 614 pacientes previo ingreso a programas de reproducción asistida (Sequera AM & Zylbersztein C 2007) <sup>70</sup> evaluando la utilidad de AMH e INH B como marcadores pronóstico de respuesta a la estimulación ovárica. A 85 pacientes que recibieron tratamiento las subdividimos de acuerdo a los valores de AMH en: Grupo (G) I (n 22): AMH < 0.20 ng/ml, G II (n 37): con AMH entre 0.20-3.0 ng/ml y G III (n 26): con AMH > 3.0 ng/ml. Se incluyó un grupo control (GC) con ciclos regulares y fertilidad comprobada. Se midieron en suero (2-4° día del Ciclo) LH, FSH, E2, INH B y AMH. Encontramos que en el grupo de AMH baja, ninguna paciente logró embarazo. De 21 pacientes del grupo II (AMH 0.2-3.0 ng/ml) que realizaron tratamiento se embarazaron 8 pacientes, dos de las cuales presentaban INH B bajas en el ciclo estudiado. No se encontraron diferencias de edad en las pacientes que lograron embarazo. En el grupo con AMH > 3.0 ng/ml se confirmó diagnóstico de PCO en 24 pacientes; todas presentaron AMH elevadas respecto de su grupo etéreo <sup>25</sup> y logró embarazo una paciente de las tres que hicieron tratamiento (todas ellas con alto número de ovocitos). Conclusiones: la mayor tasa de embarazo estuvo asociada al G II con AMH normal, sin diferencias significativas en la edad

de las pacientes 35 a 40 años. La INH B estuvo elevada en PCO, pero su aumento fue menor que el de AMH, coincidiendo con la bibliografía<sup>30,71</sup>. Consideramos que baja concentración de INH-B en una sola determinación, no significa imposibilidad de logro de embarazo, de acuerdo a nuestros resultados. Considerando las variaciones intercíclicas de INH-B asociadas a FSH, no así las de AMH, recomendamos la asociación de ambas determinaciones para la caracterización de la reserva ovárica de una paciente. AMH fue un buen marcador de reserva ovárica, tanto para pacientes donde se sospecha una reserva disminuida, como para aquellas que tienen valores altos de AMH, respecto de su edad. En base a que un valor elevado de AMH está asociado a un exceso de folículos en crecimiento, debería ser tenido en cuenta cuando se realiza la estimulación, para evitar la hiperestimulación ovárica<sup>72,73,74</sup>. La combinación de AMH e Inhibina-B en el día 3 del ciclo, ofrece información sobre la salud, edad y reserva ovárica. La FSH medida en el día 3 del ciclo, es un marcador indirecto de reserva ovárica, está regulada por Inhibina-B y resulta poco sensible como marcador de respuesta a la estimulación ovárica. AMH, producida por las células de la granulosa de los folículos antrales pequeños, resulta ser el marcador bioquímico más sensible de reserva ovárica y de respuesta a los tratamientos de FIV y predictor de embarazo. Permite caracterizar a las pacientes con PCO para ajustar el tratamiento y evitar las complicaciones de la hiperestimulación.

### AMH como Marcador tumoral

Los tumores de células de la granulosa constituyen el 2 % aproximadamente de todos los tumores ováricos, son neoplasias del estroma de los cordones sexuales. La mayoría están encapsulados, permitiendo su resección al ser detectados en estadio I y en mujeres añosas tienen buen pronóstico. Sin embargo, el tumor de las células de la granulosa juvenil, difiere clínica e histológicamente de los tumores adultos, suele detectarse en estadios más tardíos, tiene mayor tasa de recurrencia y peor pronóstico. Estos tumores producen AMH y su determinación es utilizada como marcador tumoral. Long-Rey 2000<sup>75</sup> utilizaron AMH para la detección y seguimiento de 39 pacientes. Su estudio presentó una sensibilidad de 93% (95% IC), con 7 % de falsos negativos y una especificidad de 96% (80-100% IC) con 4% de falsos positivos en la detección tumoral. Algunas pacientes previo tratamiento tenían AMH con valores de mayores de 30 ng/ml, que se hacían no detectables post tratamiento, ya sea quirúrgico o quimioterápico. El seguimiento con AMH permitió detectar las recidivas o persistencia de enfermedad, para el posterior tratamiento apropiado<sup>2,3</sup>. Esto es de suma importancia, teniendo en cuenta que este tipo de neoplasias se caracteriza por

presentar una alta incidencia de recurrencias, incluso 10 a 20 años luego de la cirugía inicial.

Teniendo en cuenta que la expresión de la AMH no se encuentra uniformemente elevada en todos los tumores de los cordones sexuales, el valor preoperatorio en cada paciente es esencial para su utilización como marcador tumoral. En las pacientes con AMH inicialmente elevada, tratadas con ooforectomía bilateral, con valores no detectables durante el postoperatorio pero que aumentan durante el seguimiento, debe sospecharse una recurrencia de la enfermedad. En contraste, el aumento de AMH a valores normales durante el postoperatorio de una paciente tratada mediante ooforectomía unilateral, puede representar tanto la recurrencia tumoral como el funcionamiento normal del ovario remanente. No obstante, el aumento sostenido de AMH es altamente predictivo de recurrencia o persistencia tumoral. No existe consenso acerca de la periodicidad del dosaje hormonal. Diversos autores sugieren monitorear las concentraciones de AMH durante el preoperatorio y cada 6 meses luego de la cirugía en pacientes en estadios I. Determinaciones más frecuentes se sugieren en los casos de tumores juveniles avanzados por su mayor agresividad<sup>3</sup>.

### AMH, acción anti tumoral

AMH puede inducir la apoptosis y el arresto del crecimiento en líneas de cáncer ovárico y cervical. (Origen embriológico: epitelio celómico, el mismo que involuciona por AMH en el hombre). En función del efecto fisiológico inhibitorio que tiene AMH sobre los ductos Mülllerianos del epitelio ovárico<sup>76</sup>, se propuso su utilización para la inhibición del cáncer epitelial ovárico in vivo e in vitro. Estas observaciones podrían ser la base de futuras investigaciones del uso de AMH como neo-adyuvante o, más probablemente, como adyuvante, en la terapia del cáncer de ovario (La Marca A, Volpe A 2007)<sup>77</sup>.

Se encontraron líneas celulares de cáncer de mama, ovario, próstata, etc., que expresan el receptor tipo AMHR II y responden a inhibición del crecimiento con AMH<sup>78</sup>. Existe una variedad de mecanismos de transducción que están asociados a la inhibición del crecimiento por AMH (induciendo el arresto en G1 y la apoptosis).

El conocimiento de los factores involucrados, permitirá determinar las estrategias para el uso de AMH recombinante como coadyuvante en los tratamientos oncológicos.

**En Resumen:** AMH resulta ser el marcador bioquímico más sensible de reserva ovárica y de respuesta a los tratamientos de reproducción asistida.

Considerando que la concentración de AMH plasmática correlaciona con el número de folículos en crecimiento, y que el mismo está aumentado en pacientes con PCO, su valoración en suero en cualquier día del ciclo, ayudaría a la caracterización de pacientes con poliquistosis ovárica (PCO)

La determinación de AMH permite la evaluación de la reserva ovárica de:

- a) Pacientes jóvenes tratadas por cáncer en la infancia y otras neoplasias tratadas
- b) Pacientes con falla ovárica prematura o con anticuerpos anti ováricos
- c) Pacientes normales o PCO en tratamiento con anticonceptivos

Permite la detección y el seguimiento de las pacientes con tumores de las células de la granulosa.

**Comentarios:** A pesar de todas las investigaciones realizadas, quedan numerosos interrogantes sobre los mecanismos de acción de AMH en las distintas etapas de la foliculogénesis normal y patológica. Existen discrepancias entre los distintos autores, de acuerdo al modelo de estudio utilizado, sobre los aspectos fisiológicos en los cuales interviene. Con la sensibilización de las técnicas se describió escasa marcación de AMH a nivel de los folículos en transición y primordiales, y disminución de la misma en ovarios con PCO. Anteriormente su presencia se asociaba sólo a partir de los folículos primarios hasta los antrales pequeños (en crecimiento). Las investigaciones sobre: a) la demostración de la presencia de los receptores AMHRII, por técnicas de biología molecular, en otras estirpes celulares, como las células de la teca; b) la detección del receptor para andrógenos en las primeras etapas de la foliculogénesis (folículos en transición) previa expresión del receptor de FSH; c) los estudios de interrelación de hormonas, factores de crecimiento y sus receptores, producidos y actuando a nivel folicular y de las células intersticiales; abren un inmenso campo de estudio que permitirá dilucidar los mecanismos intrínsecos fisiológicos normales, en los que está involucrada ésta hormona, para poder comprender y eventualmente tratar las distintas patologías.

## Bibliografía

1. Josso N, Picardi JY, Rey R, di Clement N. Testicular anti-Müllerian hormone: history, genetics, regulation and clinical applications. *Pediatr Endocr Rev* 2006;Jun 3(4):347-58
2. La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol* 2006;64:603-10
3. Lane AH, Lee MM, Fuller AF Jr, Kehas DJ, Donahoe PK, Macloughlin DT. Diagnostic utility of müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol* 1999;73:51-5
4. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Cate RL, Skakkerbaer NE. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal devel-

opment: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocr Metab* 1999;84:3836-44

5. McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev* 2000;21:200-14
6. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992;7:1342-6
7. Massague J, Wotton D. Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. *EMBO Journal* 2000;19:1745-54
8. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006 Jan;131(1):1-9
9. Themmen, AP. Anti-Müllerian Hormone: Its Role in Follicular Growth Initiation and Survival and as an Ovari-Reser Marker. *J Natl Cancer Inst* 2005;34:18-21
10. Geogon A Regulation of follicular development in primates: facts and hipótesis. *Endocr Rev* 1996;17:121-55
11. MaGree & Hueh Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Reviews* 2000.21 200-214
12. Sophie J, Dewailly D. The follicular excess in polycyst ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod* 2004;10:107-17
13. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992;7:1342-6
14. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Human Reprod* 2005;11:461-71
15. Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 2002;124:601-9
16. Kezele P, Skinner MK. Regulation of ovarian primordial follicle assembly and development by estrogen and progesterone: endocrine model of follicle assembly. *Endocrinol* 2003;144(8):3329-37
17. Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006 Aug;132(2):191-206
18. Durlinger ALL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen APN. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinol* 1999;143,1076-84
19. Stubbs SA, Hardy K Da Silve-Buttkus P, Stark J, Webber LJ, Flangan AM, Themmen AP, Visser JA, Groome NP, Franks S. Anti-müllerian hormone protein expression is reduced during the initial stages of follicle development in human polycystic ovaries *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Oct;90(10):5536-43

20. Nisson W, Rogers N, Skinner MK. Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction* 2007;134(2):209-21
21. Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Sheely JM, Green A, Smith A, Dennerstein L, Morse C. The endocrinology of menopausal transition: a cross-sectional study of a population-based sample. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3537-45
22. Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Groome N, Guthrie JR, Green A, Dennerstein L. Prospectively measured levels of serum FSH, E2, and dimeric onhobins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4025-30
23. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbma JD, Looman CW, te Vete ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999;72:845-51
24. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, de Jong FH, te Vete ER. The number of antral follicles in counts by transvaginal ultrasonography are related to age in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod* 2003;18:700-6
25. de Vet A, Laven JSE, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BCJM. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62
26. Den Tonkelaar I, te Velde ER, Looman CW. Menstrual cycle length preceding menopause in relation to age at menopause. *Maturitas* 1998;29:115-23
27. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod* 2002;8:141-54
28. Faddy MJ, Gosden A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992;7:1342-6
29. Te Velde ER, Scheffer GL, Dorland M, Broekmans FJ, Fauser BC. Developmental and endocrine aspects of normal ovarian aging. *Mol Cell Endocrinol* 1998;145:67-73
30. Kwee J, Schats R, Mc Donnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2007 Oct 6
31. Soules MR, Sherman S, Parrott E, Rebar R, Santoro N, Utian W, Woods N. Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). *J Womens Health Gen Based Med* 2001;10:843-8
32. Randolph JF, Crawford SJ, Dennerstein L. The Value of Follicle-Stimulating Hormone Concentration and Clinical Findings as Markers of the Late Menopause Transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3034-40
33. Harlow SD, Cain K, Crawford S, Dennerstein L, Little R, Mitchell ES, Nan B, Randolph JF Jr, Taffe J, Yosef M. Evaluation of four proposed bleeding criteria for the onset of late menopausal transition. *J Clin Endocrine Metab* 2006;91:3432-8
34. Hale GE, Zao X, Hughes CL, Burger HG, Robertson DM, Fraser IS. Endocrine features of menstrual cycles in middle and late reproductive age and the menopausal transition classified according to the Staging of Reproductive Aging Workshop (STRAW) staging system. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3060-7
35. Lutchman Singh K, Muttukrishna S, Stein RC, McGarrigle HH, Patel A, Parkh B, Groome NP, Davies MC, Chatterjee R. Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer. *Br J Cancer* 2007;96(12):1808-16
36. La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Hum Reprod* 2005; 20 (6):1569-72
37. Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and Regulation of Anti-Müllerian Hormone, Inhibin-A, and Inhibin-B Secretion: Analysis of Small Antral and Preovulatory Human Follicles' Fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4064-9
38. Hehenkamp WJK, Looman CWB, Themmen APN, De Jong FH, te Velde ER, Frank JM. Anti-Müllerian Hormone Levels in the Spontaneous Menstrual Cycle Do Not Show Substantial Fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057-63
39. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut D, Gevy CH, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007;22:1837-40
40. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhäuser MH. Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril* 2007 Jun 29
41. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057-63
42. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2003;18:328-32
43. Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2007 (Epub ahead of print)
44. Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. Anti-

- Müllerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;134(2):196-201
45. Arbo E, Vetori DV, Jiménez MF, Freitas FM, Lemos N, Cunha-Filho JS. Serum anti-müllerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills. *Human Reprod* 2007 nov 2; en pub
  46. Elgindy EA, El-Haieg DO, El-Sebaey A. Anti-Müllerian hormone: correlation of early follicular, ovulatory and midluteal levels with ovarian response and cycle outcome in intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil Steril* 2007 Jul 19 (Epub ahead of print )
  47. Nelson SM, Yates RW, Fleming R. Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles-implications for individualization of therapy. *Hum Reprod* 2007 Sep;22(9):2414-21
  48. Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and anti-Müllerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? *BJOG* 2004 Nov;111(11):1248-53
  49. Fanchin R, Mendez Lozano DH, Frydman N, Gougeon A, di Clemente N, Frydman R, Taieb J. Anti-Müllerian hormone concentrations in the follicular fluid of the preovulatory follicle are predictive of the implantation potential of the ensuing embryo obtained by in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 May;92(5):1796-802
  50. Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP. Anti-Müllerian hormone as a predictor of IVF outcome. *Reprod Biomed Onli* 2007 May;14(5):602-10
  51. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, Volpe A. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive. *Hum Reprod* 2007 Mar;22(3):766-71
  52. Méduri G, Massin N, Guibourdenche J, Bachelot A, Fiori O, Kuttann F, Misrahi M, Touraine P. Serum anti-Müllerian hormone expression in women with premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2007 Jan;22(1):117-23
  53. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S, Dewailly D. Elevated serum level of anti-müllerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 Dec;88(12):5957-62
  54. Jonard S, Pigny P, Jacquesson L, Demerle-Roux C, Robert Y, Dewailly D. The ovarian markers of the FSH insufficiency in functional hypothalamic amenorrhea. *Hum Reprod* 2005;20:101-7
  55. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, Perheentupa A, Ruokonen A, Tapanainen JS. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005;20(7):1820-6
  56. Webber LJ, Stubbs S, Stara J, Trew GH, Margara R, Ardí K, Franks S. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet*, 2003;362:1017-21
  57. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19:41-7
  58. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AOB, de Jong FH, Jauser BC. Anti-müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:318-23
  59. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Norman RJ. The use of anti-müllerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Oct;92(10):3796-802
  60. Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. Granulosa Cell Production of Anti-Müllerian Hormone Is Increased in Polycystic Ovaries. *J Clin. Endocrinol Metab* 2007;92:240-5
  61. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailley D. Serum anti-Müllerian hormone as surrogate for antral follicle count for definition of polysystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:941-5
  62. Rice S, Ojha K, Whitehead S, Mason H. Stage-specific expression of androgen receptor, follicle-stimulating hormone receptor, and anti-Müllerian hormone type II receptor in single, isolated, human preantral follicles: relevance to polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(3):1034-40
  63. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, 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;18:323-7
  64. Cateau-Jonard S, Pigny P, Reyss AC, Decanter C, Poncelet E, Dewailly D. Changes in Serum anti-Müllerian Hormone Level During Low-Dose Recombinant Follicular Stimulating Hormone Therapy for Anovulation in Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Nov; 92(11):4138-43
  65. Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, Chang RJ. Serum anti-müllerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating

- hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;92:1871-4
66. Dewailly D, Catteau-Jonard S, Reyss AC, Maunoury-Lefebvre C, Poncelet E, Pigny P. The excess in 2-5 mm follicles seen at ovarian ultrasonography is tightly associated to the follicular arrest of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007;22(6):1562-6
67. Sir-Petermann T, Codner E, Maliqueo M, Echiburú B, Hitschfeld C, Crisosto N, Pérez-Bravo F, Recabarren SE, Cassorla F. Increased anti-Müllerian hormone serum concentrations in prepubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Aug;91(8):3105-9
68. Crisosto N, Codner E, Maliqueo M, Echiburú B, Sánchez F, Cassorla F, Sir-Petermann T. Anti-Müllerian hormone levels in peripubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Jul;92(7):2739-43
69. Weerakiet S, Lertvikool S, Tingthanatikul Y, Wansumrith S, Leelaphiwat S, Jultanmas R. Ovarian reserve in women with polycystic ovary syndrome who underwent laparoscopic ovarian drilling. *Gynecol Endocrinol* 2007 Jul;2:1-6
70. Sequera AM; Venditti A; Perotti A; Neuspiller N, Zylbersztein C. Inhibina y Hormona Antimülleriana: Nuestra experiencia en Poliquistosis Ovárica y otras alteraciones de la fertilidad. Presentado en el XV congreso de SAEM 2007, Resumen 61, Raem, Vol 44 (supl.): pág.127
71. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimüllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertil Steril* 2004 Nov;82(5):1323-9
72. Sequera AM, Perotti A, Neuspiller N, Zylbersztein C. Hormona Antimülleriana e Inhibina B en pacientes con PCO y otras alteraciones de la fertilidad. Congreso SAEGRE 2006
73. Sequera AM, Perotti A, Neuspiller N, Zylbersztein C. Hormona Antimülleriana e Inhibina B: Nuevos marcadores en reproducción femenina. Congreso Sogiba 2006
74. Sequera AM, Perotti A, Neuspiller N, Coco R, Neuspiller S, Zylbersztein C. Hormona Antimülleriana e Inhibina B: Nuestra experiencia em reproducción femenina. Presentado en XIV Congreso SAEM 2005, Resúm 35, RAEM, Vol 42 (supl.): pág.108
75. Long WG, Ranchin V, Pautier P, Belville C, Denizot P, Cailla H, Lhomme C, Picard JY, Bidart JM, Rey R. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:540-4
76. Renaud EJ, MacLaughlin DT, Oliva E, Rueda BR, Donahoe PK. Endometrial cancer is a receptor-mediated target for Müllerian Inhibiting Substance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 May 3;102(18):111-6
77. La Marca A, Volpe A. The Anti-Müllerian hormone and ovarian cancer. *Hum Reprod Update*. 2007 May-Jun;13(3):265-73
78. Donahoe PK, Clarke T, Teixeira J, Maheswaran S, MacLaughlin DT. Enhanced purification and production of Müllerian inhibiting substance for therapeutic applications. *Mol Cell Endocrinol* 2003 Dec 15;211(1-2):37-42