

# Tesis doctoral

---

Evaluación de la Reserva Ovárica mediante Test de  
Clomifeno, Ultrasonido Vaginal y Determinación de  
Hormona Antimulleriana en pacientes con Hipotiroidismo  
Primario Autoinmune

---

**Dr. Felipe Arturo Morales Martínez**

Barcelona, España. Año 2012

---

Evaluación de la Reserva Ovárica mediante Test de  
Clomifeno, Ultrasonido Vaginal y Determinación de  
Hormona Antimulleriana en pacientes con Hipotiroidismo  
Primario Autoinmune

---

**Universidad Autónoma de Barcelona**  
**Facultad de Medicina**

Departamento de Ginecología, Obstetricia, Pediatría y Medicina  
Preventiva

---

**Director:** Dr. Julio Herrero García

---

**Autor:** Dr. Felipe Arturo Morales Martínez

---

Barcelona, España. Año 2012

## **Dedicatoria**

---

Agradezco a Dios, por haberme dado tantas bendiciones.

A mis padres como testimonio de gratitud al esfuerzo invertido en mi formación y educación.

A mi esposa y fiel compañera Bella Josefina por aguantar todo el tiempo que dedico a mi carrera, por tolerarme tal como soy y por su apoyo incondicional.

A mis hijos Andrea, Daniela y Arturo, de los cuales estoy orgulloso ya que son los mejores frutos que me ha dado la vida.

A mis hermanos, por aguantarme y para fortalecer el orgullo de ser familia.

A todas las pacientes que durante mi proceso de formación académica me ayudaron a aprender lo que hoy les puedo ofrecer a otras más. A todas aquellas que me han depositado su confianza para poder ayudarlas.

## **Agradecimientos**

---

A el Dr. Julio Herrero García, por su amistad y atenta colaboración, que fueron fundamentales para concretar este esfuerzo.

A el Dr. Luis Cabero i Roura por darme la oportunidad de aspirar a este objetivo, por su incansable labor de fomentar la educación superior alrededor del mundo, por su apoyo incondicional y por sus reiteradas muestras de cariño hacia mi persona y hacia nuestra universidad.

A el Dr. Donato Saldívar Rodríguez, mi maestro, por su amistad, por su visión de lograr un departamento de excelencia, su incansable deseo de alentar la superación de su personal y por su amable disposición para que este proyecto saliera adelante.

I.	Introducción	7
II.	Esterilidad femenina	14
	II. 1 Trastornos ovulatorios	14
	II.2 Alteraciones tubáricas	15
	II.3 Endometriosis	16
	II.3.1 Tratamiento médico	17
	II.3.2 Tratamiento quirúrgico	18
	II.3.3 Técnicas de reproducción asistida	20
	II.4 Miomas	22
	II.5 Hidrosálpinx	27
	II.6 Causas desconocidas	30
III.	Factores asociados a la infertilidad femenina	31
	III.1 Edad	31
	III.2 Obesidad	34
	III.3 Tabaquismo	36
IV.	Reserva ovárica	37
	IV.1 Nivel de FSH el día 3 del ciclo	38
	IV.2 Relación basal FSH/LH	41
	IV.3 Inhibina	41
	IV.4 Hormona antimulleriana	42
	IV.5 Ecografía	45
	IV.6 Test de clomifeno	47
	IV.7 Certeza para la predicción de baja respuesta y en la predicción de no embarazo.	49
V.	Tiroides	52
	V.1. Anatomía y fisiología de la glándula tiroides.	52
	V.2 Patología de la glándula tiroides	58
	V.2.1 Hipertiroidismo	59
	V.2.2 Hipotiroidismo	61
	V.3. Tiroides y reproducción	65
VI.	Justificación	69
VII.	Hipótesis	70
VIII.	Objetivo	71
IX.	Material y métodos	73

## Índice

---

X.	Resultados	83
XI.	Discusión	94
XII.	Conclusiones	103
XIII.	Bibliografía	107

## I. INTRODUCCIÓN

La esterilidad se define como la incapacidad de lograr un embarazo clínico después de 12 meses o más de relaciones sexuales no protegidas (OMS, 2010). Es una enfermedad del sistema reproductivo y aunque no pone en peligro la vida, representa una de las crisis existenciales más severas que una persona o pareja ha experimentado en su vida. Incluye además de una tremenda carga física, emocional y financiera, sentimientos de culpa y cólera. Debido al aislamiento al que ellos mismos se someten, las parejas con este tipo de problemas experimentan cambios en sus relaciones personales con amigos y familiares.

En términos generales la reproducción humana es un proceso ineficiente pues aún bajo circunstancias ideales la probabilidad de que una mujer se embarace en un ciclo menstrual es de sólo el 25-30 %. Si la concepción ocurriera, sólo el 50 – 60 % de los embarazos avanzará más allá de la semana 20 (Sudhansu, 2010).

A nivel mundial más de 70 millones de parejas sufren de esterilidad. Se ha estimado que este trastorno afecta entre el 13 y 15% de las parejas con una prevalencia muy variable entre los países, siendo los países más

desarrollados los que presentan una mayor prevalencia (OMS, 2002; Remah et al, 2010).

Las causas de esterilidad en las parejas son muy variadas, se ha estimado que la infertilidad masculina contribuye aproximadamente en un 30%, mientras que la esterilidad femenina en un 41 % (Remah et al, 2010; Collins JA et al, 1995).

Dos importantes logros en los últimos 50 años han proporcionado grandes esperanzas a las parejas estériles. Primero, se han desarrollado fármacos que pueden inducir la ovulación en casi todas las mujeres anovulatorias que todavía tienen ovocitos viables, incluso a las que padecen del síndrome de ovario poliquístico y amenorrea hipotalámica. Segundo, se han desarrollado técnicas de reproducción asistida (TRA) que posibilitan a las parejas estériles realizar su potencial reproductivo, aún si la mujer tiene trompas de Falopio obstruidas o ausentes o si el hombre tiene espermatozoides virtualmente inmóviles o en escasa cantidad (Bradley et al, 2007).

Entendemos por técnicas de reproducción asistida (TRA) al conjunto de métodos biomédicos que conducen a facilitar o substituir a los procesos biológicos naturales que se desarrollan durante la procreación humana, como la deposición del semen en la vagina, la inseminación intrauterina (IIU), la

fertilización in-vitro (FIV-TE) y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

Independientemente de la causa de la esterilidad, el tratamiento que tiene la tasa más alta de embarazos es la fertilización in Vitro (FIV-TE). Desde su aparición en 1978 ha ocurrido un incremento notable en el número de ciclos de FIV-TE a nivel mundial. Aproximadamente 1 en 50 nacimientos en Suecia, 1 en 60 nacimientos en Australia y 1 en 80-100 nacimientos en los Estados Unidos son resultados de esta técnica de reproducción asistida. Con el paso del tiempo se han ido incrementando las tasas de embarazo, debido principalmente a la mejora de los medios de cultivo y al perfeccionamiento de los protocolos de estimulación ovárica, así como a la simplificación del procedimiento.

En los gráficos 1-4 se muestran brevemente los pasos de este procedimiento.

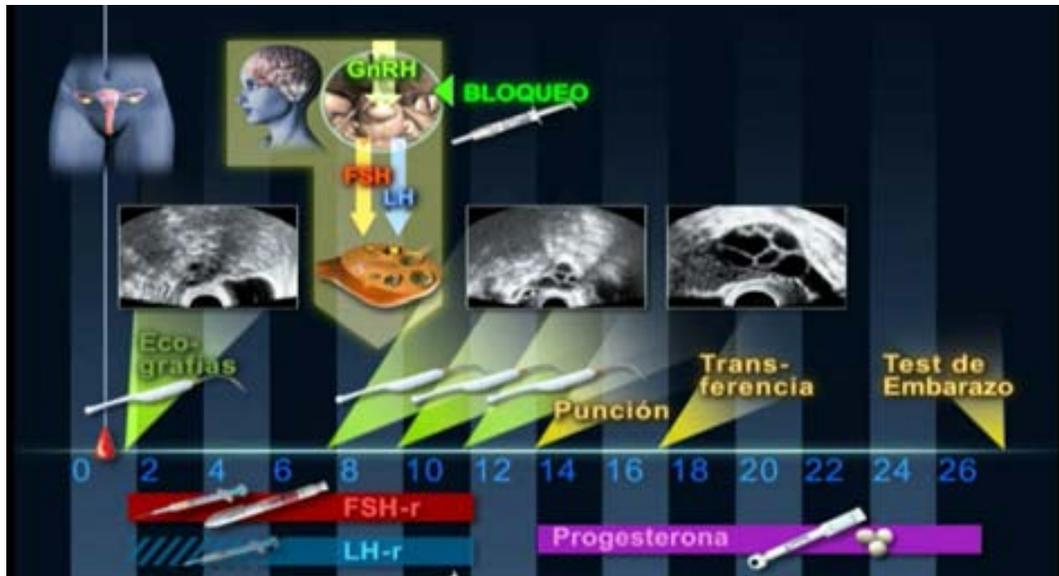


Gráfico 1. Protocolo de estimulación ovárica, utilizando antagonistas de GnRh. Tomado con permiso de Herrero y cols. 2009

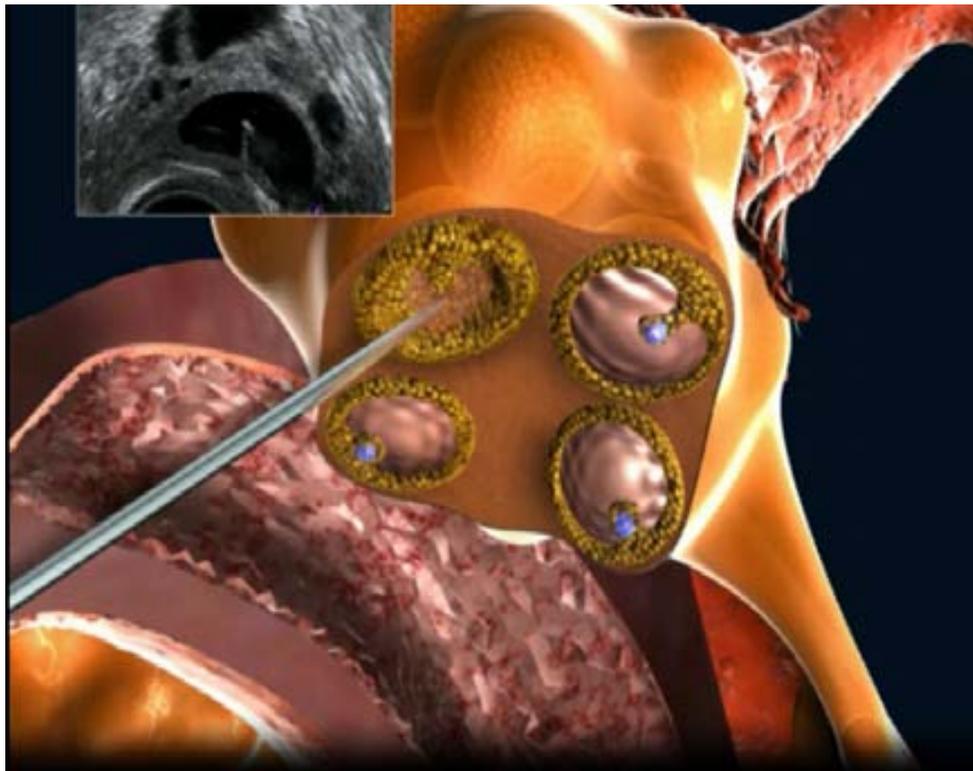


Gráfico 2. Punción folicular para recuperación de ovocitos, guiada por Ultrasonido Vaginal bajo sedación. Tomada con permiso de Herrero y cols. 2009.

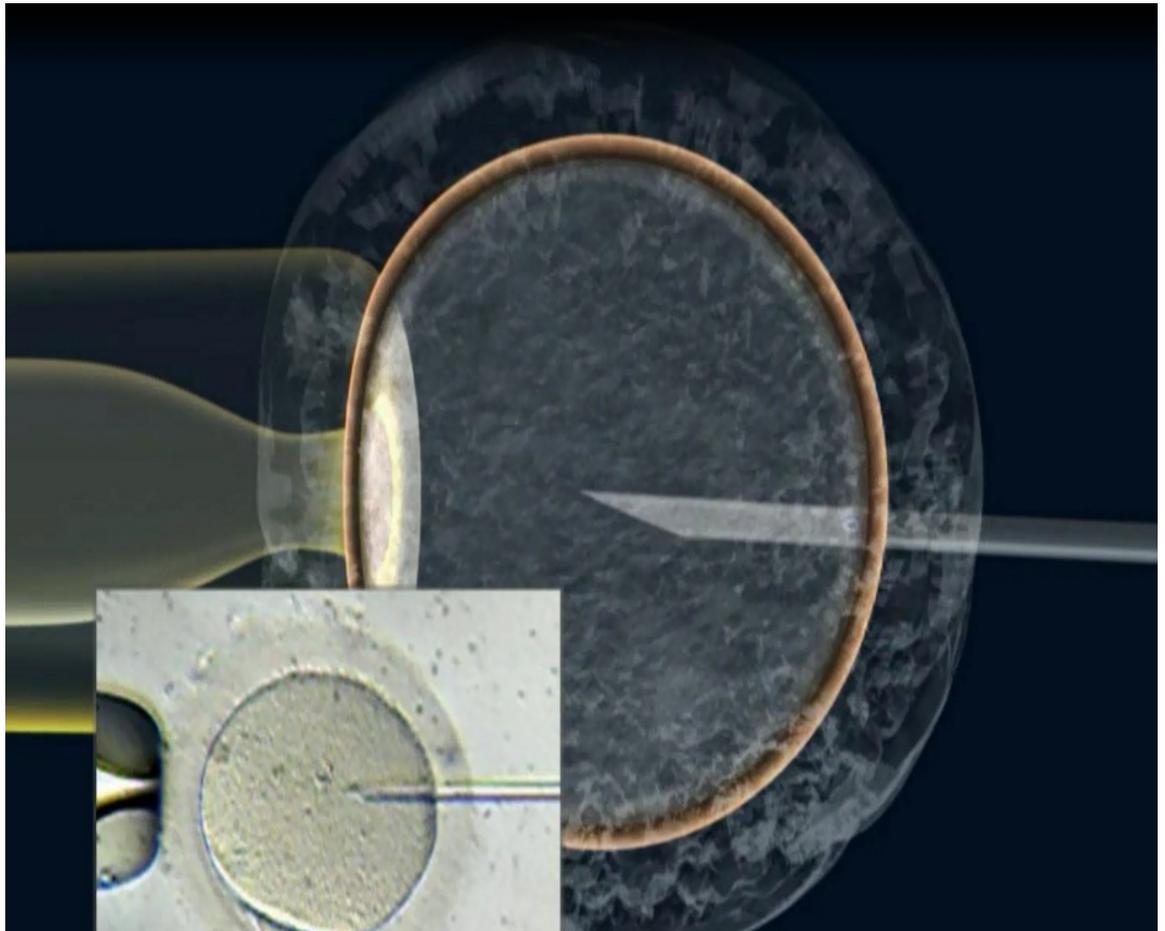


Gráfico 3. Posterior a la recuperación de los ovocitos, se realiza la fertilización, la cual puede ser por medio de la Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI). Tomado con permiso de Herrero y cols. 2009.

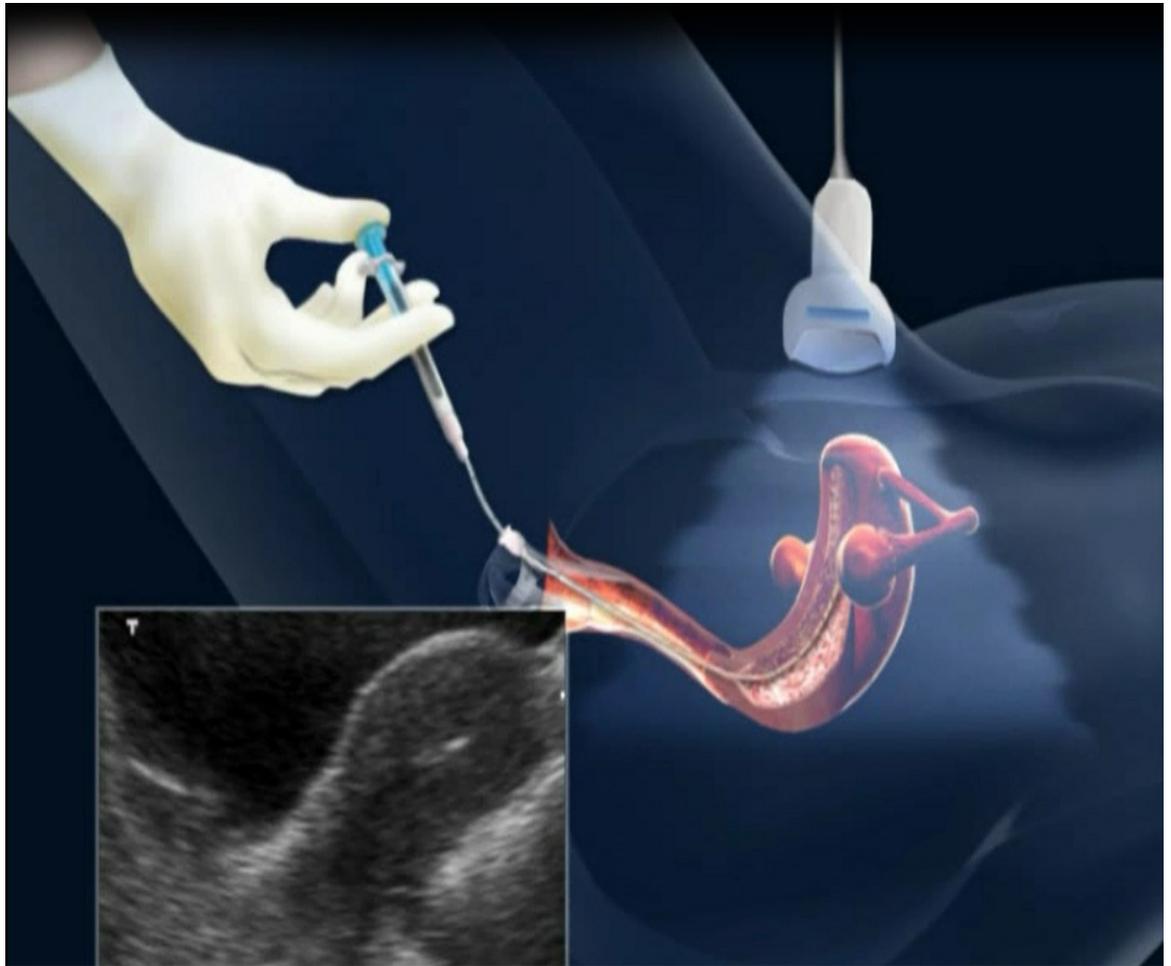


Gráfico 4. Finalmente se realiza la Transferencia Embrionaria (TE), en este caso, guiada por ultrasonido. Tomado con permiso de Herrero y cols, 2009.

Las indicaciones para FIV-TE son daño de las trompas de Falopio, salpingectomía bilateral, endometriosis, infertilidad masculina e infertilidad idiopática. Indicaciones para ICSI son anomalías espermáticas (factor masculino alterado), fracaso de FIV-TE, desórdenes eyaculatorios y diagnóstico preimplantatorio (PGD).

Este tipo de tratamiento no está exento de efectos adversos, se ha asociado con el síndrome de hiperestimulación ovárica y con embarazos múltiples. La variabilidad en las características de las pacientes así como también la respuesta a las técnicas de reproducción asistida, impone la necesidad de un enfoque diagnóstico y terapéutico personalizado para optimizar la eficacia y seguridad de los resultados (Devroy P. et al, 2009).

## **II. Esterilidad femenina**

### **Causas clínicas**

Las principales causas clínicas de esterilidad femenina incluyen trastornos ovulatorios (27%), alteraciones tubáricas (22%), endometriosis (5%), otras alteraciones (4%) y causas desconocidas (hasta en un 30%) (Quaas et al, 2008; Carby et al, 2004).

### **II.1 Trastornos ovulatorios.**

Los trastornos ovulatorios están presentes en más del 25 % de mujeres infértiles y van desde amenorrea pasando por oligomenorrea hasta ciclos menstruales irregulares. La mayoría de las mujeres con oligomenorrea tiene síndrome de ovario poliquístico. A continuación se presenta la Clasificación de desórdenes ovulatorios por la OMS (OMS, 1976):

Grupo I. Fallo Hipotalámico-Hipofisiario. Esta clasificación incluye mujeres con amenorrea hipotalámica, incluyendo la relacionada con el stress, pérdida de peso, ejercicio, anorexia nerviosa y sus variantes, síndrome de Kallman, y deficiencia aislada de gonadotrofinas, pero sin incluir mujeres con lesiones tumorales en hipotálamo o hipófisis. Las mujeres con fallo hipotalámico-hipofisiario presentan hipogonadismo hipogonadotrófico con niveles séricos bajos de FSH y estradiol y concentraciones normales de prolactina.

Grupo II. Disfunción Hipotalámica-Hipofisiaria: Esta clasificación incluye mujeres con amenorrea u oligomenorrea, pudiendo estar asociada o no a hiperandrogenismo; mujeres con el clásico síndrome de ovarios poliquísticos y anovulación están dentro de esta categoría. Las mujeres con disfunción hipotalámica-hipofisiaria presentan niveles séricos normales de FSH y estrógenos, así como de prolactina.

Grupo III. Fallo ovárico. Esta clasificación incluye mujeres con amenorrea y concentraciones séricas elevadas de FSH, lo que indica la falla de la gónada.

La anovulación ocasionada por la hiperprolactinemia se considera como una cuarta y específica entidad.

## **II.2 Alteraciones tubáricas.**

Las trompas de Falopio permiten el paso de un óvulo desde la porción distal hasta su porción ampular, donde es fertilizado por el espermatozoide, posteriormente transitará hacia la cavidad uterina. El movimiento de los cilios que recubre el interior de las trompas facilita este proceso. Estos cilios son extremadamente delicados y pueden ser fácilmente dañados por infecciones o traumatismos. Las cirugías pélvicas o abdominales pueden también predisponer a la infertilidad tubaria debido a que pueden favorecer la formación de adherencias pélvicas que están formadas por bandas de tejido fibroso alrededor de la salpinge, que pueden alterar la movilidad y función de la trompa o incluso bloquearla.

### **II.3 Endometriosis**

La endometriosis se define como la presencia de glándulas y de tejido conectivo endometrial fuera de la cavidad uterina (1). A pesar de contar con múltiples teorías en cuanto a su patogénesis actualmente no existe un consenso unificado. Los síntomas son variables: dolor pélvico, dismenorrea, dispareunia, síntomas cíclicos en intestino o vejiga e infertilidad.

La clasificación más aceptada para la endometriosis ovárica y peritoneal fue introducida por la ASRM en 1979 y actualizada en 1996. Este sistema asigna una puntuación basada sobre el tamaño profundidad, la localización de implantes endometriósicos y de adherencias asociadas. Clasificándose en: mínima (I), leve (II), moderada (III), severa (IV). A pesar de que la clasificación no se correlaciona bien con el dolor tiene una buena relación con el pronóstico reproductivo (1). Los datos vinculan endometriosis con subfertilidad; Existe un incremento de tasa de endometriosis en mujeres subfértiles respecto a mujeres fértiles. La tasa de embarazo tras inseminaciones en mujeres con endometriosis mínima o leve es menor que en pacientes con pelvis normal. Hay un incremento de la tasa de embarazo espontáneo mensual tras la cirugía de exéresis de endometriosis mínima o leve.

Los posibles mecanismos relacionados en la literatura con la esterilidad son:

- Anatomía pélvica distorsionada
- Adherencias pélvicas
- Función peritoneal alterada
- Anormalidades endocrinas y de la ovulación
- Mala implantación

## **II. 3. 1 Tratamiento médico**

Actualmente existe consenso en relación a que el tratamiento médico u hormonal es efectivo para aliviar el dolor asociado a endometriosis, sin embargo, no existe evidencia médica que revele una mejoría de la esterilidad.

El valor de la supresión ovárica con danazol, acetato de medroxiprogesterona o gestrinona comparado contra placebo fue observado en una revisión Cochrane (2). Las tasas de embarazo después de la supresión ovárica contra placebo fue de 0.74 (95% CI 0.48 – 1.15). Esta información fue estadísticamente homogénea, sin importar el uso del agente supresor.

La tasa de embarazo, comparando todos los agentes contra danazol fue 1.3 (95% CI 0.97 – 1.76). Claramente no hay evidencia que apoye el uso de agentes de supresión ovárica en el tratamiento de la endometriosis asociado a esterilidad. Debido a que al instituir este tratamiento se retrasa la posibilidad de concebir y presenta varios efectos adversos actualmente no se recomienda (2) (Nivel de evidencia 1A). Por lo tanto, el tratamiento médico no mejora la tasa de embarazo espontáneo en pacientes con endometriosis.

### **II.3.2 Tratamiento quirúrgico.**

Se ha observado que la cirugía mínima conservadora en estadios iniciales de la enfermedad puede asociarse a un pequeño pero significativo aumento en la tasa de natalidad (3). La evidencia se basa en el metaanálisis de 2 estudios aleatorizados y controlados en los cuales se compara la adhesiolisis laparoscópica contra la laparoscopia diagnóstica. Los resultados muestran que la cirugía es benéfica tanto para la tasa de nacido vivo como para la tasa de embarazo (OR 1.64, 95% CI 1.05 – 2.57)( 4). En otro estudio se encontró una mayor tasa de fecundidad en las pacientes operadas comparadas con un grupo control, con un incremento en las probabilidades de embarazo (OR 2.03, 95% CI 1.28 – 3.24) y una tasa de embarazo evolutivo de más de 20 semanas (OR 1.95, 95% CI 1.18 – 3.22) (5).

No existen estudios aleatorizados que valoren si el tratamiento quirúrgico mejora la tasa de embarazo espontáneo en pacientes con endometriosis moderada o grave estadios III-IV (6,7,8).

La exéresis de endometriomas de más de 4 cm mejora la fertilidad comparada con el drenaje o coagulación de los mismos. Las técnicas no excisionales tienen tasas de recurrencia del quiste superiores. El tratamiento médico post cirugía no tiene efecto en las tasas de embarazo, por lo que no se recomienda.

Dependiendo de la severidad de la enfermedad, de la información y el consentimiento de la paciente, se debe realizar cirugía excisional de los focos de endometriosis en el mismo acto quirúrgico en el que se realiza el diagnóstico de endometriosis.

### II.3.3 Técnicas de Reproducción Asistida

En pacientes con endometriosis mínima o leve (I / II) existe evidencia de que las inseminaciones intrauterinas con estimulación ovárica mejoran la tasa de fertilidad, sin embargo, el papel de la inseminación en ciclo natural es incierto (Nivel de evidencia 1B). La anterior afirmación se basa en 2 estudios aleatorizados y controlados. En el primero se mostró que la inseminación intrauterina más el uso de gonadotrofinas aumentó significativamente la tasa de nacido vivo, comparado con ningún tratamiento (26% vs. 8%; RR 3.3, 95% CI 1.2 – 9.4)(9). El segundo estudio no mostró diferencias entre la inseminación intrauterina más gonadotrofinas y el tratamiento expectante (29% vs. 20%; OR 1.5, 95% CI 0.5 – 4.0) (10). La tasa combinada de nacido vivo de ambos estudios fue de 2.3 (95% CI 1.1 – 4.6). Las tasas de embarazo tras inseminación homóloga y estimulación ovárica en los 6 meses posteriores al tratamiento quirúrgico en mujeres con endometriosis es similar al grupo de mujeres con esterilidad de origen desconocido.

Los protocolos FIV podrían ser un adecuado tratamiento sobre todo si la función tubárica está comprometida, si existe factor masculino asociado o si otros tratamientos han fallado.

Esto se basa en el metaanálisis de K. Barnhart donde las tasas de embarazo de FIV son menores en mujeres con endometriosis que en aquellas con factor tubárico (11). El riesgo de recurrencia tras estimulación ovárica controlada en el curso de una FIV en pacientes operadas con endometriosis estadio III y IV no aumenta, por lo que no es una razón para desestimar el tratamiento FIV en estas pacientes (12).

En relación a intervenir quirúrgicamente los endometriomas previo a un ciclo de FIV, no existe información obtenida por estudios aleatorizados y controlados donde se compare la resección laparoscópica contra ningún tratamiento previo a FIV, por lo tanto la información sigue siendo controvertida, sin embargo, tanto RCOG en sus recomendaciones del 2006 como las guías de la ESHRE recomiendan la resección de los endometriomas superiores a los 4 cms para: confirmar el diagnóstico, descartar malignidad, reducir el riesgo de infección, de ruptura y torsión, mejorar el acceso a los folículos, posiblemente mejorar la respuesta ovárica y prevenir la progresión de la endometriosis. La paciente debe ser informada sobre el riesgo de disminuir la reserva ovárica tras la cirugía así como la probabilidad de resección ovárica durante el procedimiento. En el caso de mujeres con cirugías previas debe de considerarse el tratamiento quirúrgico cuidadosamente.

## II.4 Miomas

Son tumores estrógeno-dependientes que se originan de una célula monoclonal de músculo liso uterino y contienen elementos conectivos fibrosos. Ocurren en 20%-50% de las mujeres en edad reproductiva (13). Son indicación aislada de 175 000 histerectomías y 20 000 miomectomías anualmente en los Estados Unidos (14,15). En relación con infertilidad, solo el 2%-3% es atribuible a esta causa cuando se han excluido todos los otros factores.

Los posibles mecanismos por los cuales los miomas pueden afectar desfavorablemente la fertilidad son (16):

- Ampliación o deformidad de la cavidad uterina que puede interferir con la migración y el transporte del semen.
- Obstrucción proximal de las trompas de Falopio.
- Distorsión anatómica tubo-ovárica, que interfiere en la captura del ovocito secundario.
- Distorsión o interrupción del endometrio e implantación debido a atrofia o ectasia venosa u oposición de un mioma submucoso.
- Inflamación endometrial o secreción de sustancias vasoactivas.

Los miomas se encuentran presentes en el 2.7%-12.6% de las mujeres embarazadas (17). La literatura refiere que incrementan el riesgo de presentación anormal (OR 2.9; 95% CI 2.6-3.2), operación cesárea (OR 3.7; 95% CI 3.5-3.9), parto pretérmino (OR 1.5; 95% CI 1.3-1.7) y aborto espontáneo (OR 1.6; 95% CI 1.3-2.0) (17).

En una revisión de los resultados de 1941 mujeres embarazadas que se sometieron a miomectomía se observó que el 19% de los embarazos terminó en aborto espontáneo posterior a la cirugía comparado con el 41% antes de la miomectomía (18).

A pesar de que el volumen de los miomas puede ser reducido un 50% mediante el tratamiento médico, el útero habitualmente regresará a su tamaño normal cuando el tratamiento sea suspendido. No existe evidencia de que la fertilidad mejore con el tratamiento médico (19). El tratamiento médico puede demorar un tratamiento más efectivo y por lo tanto no puede recomendarse para esterilidad.

La miomectomía es la opción de tratamiento para mujeres interesadas en su fertilidad futura. La miomectomía histeroscópica está indicada para miomas

intracavitarios y miomas submucosos que tienen al menos el 50% de su volumen dentro de la cavidad uterina (16). La miomectomía por laparotomía presenta una incidencia de adherencias sumamente alta (94%) cuando la miomectomía requiere incisiones sobre la pared posterior del útero y es inferior, pero relativamente alta (55%) cuando afecta la superficie anterior del útero.(20).

La miomectomía laparoscópica no presenta diferencias estadísticamente significativas con la cirugía abierta salvo en tiempo de recuperación y estancia hospitalaria (21,22). Se consideran como situaciones de mal pronósticos en relación a la miomectomía para mejorar la fertilidad: factores de esterilidad asociados y el tiempo prolongado de esterilidad.

Somigliana (23) publicó un metaanálisis en el 2007 donde incluyó un total de 14 estudios, de los cuales 11 eran tipo caso-control y 3 de cohorte para realizar un análisis de la evidencia en relación a los miomas y la fertilidad. Se encontró que la paridad estaba asociada con un riesgo menor de padecer miomas. En el mismo estudio se analizó la influencia de los miomas en los resultados de los ciclos de FIV incluyendo 17 estudios (6 prospectivos y 11 retrospectivos), se realizó un metaanálisis según la localización de los miomas encontrándose que los miomas submucosos afectan claramente la tasa de embarazo (OR 0.3; 95% CI 0.1- 0.7). Los miomas intramurales

afectan de forma significativa pero en menor grado (OR 0.8; 95% CI 0.6 – 0.9). Finalmente, los miomas subserosos no afectan la tasa de embarazo.

En este mismo estudio se encontró que la los miomas afectan más la tasa de nacido vivo que la tasa de embarazo así como también aumentan la probabilidad de placenta previa, desprendimiento de placenta, y restricción de crecimiento intrauterino; aumentando secundariamente la tasa de operaciones cesárea.

Pritts(24) en el 2009 realizó un metaanálisis incluyendo un total de 23 estudios (1 aleatorizado y controlado, 9 prospectivos, 13 retrospectivos). Encontrándose que, en relación al efecto de los miomas, en todas las localizaciones, y la fertilidad; éstos afectan negativamente tanto la tasa de embarazo, tasa de aborto, tasa de nacido vivo y tasa de implantación. No afectando la tasa de parto pretérmino. Los miomas submucosos afectan negativamente la tasa de embarazo (RR 0.363; 95% CI 0.179 – 0.737), tasa de implantación (RR 0.283; 95% CI 0.123 – 0.0649), tasa de nacido vivo (RR 0.318; 95% CI 0.119 – 0.850), y la tasa de aborto espontaneo (RR 1.678; 95% CI 1.375 – 2.051). Se observa que en los mismos parámetros los miomas intramurales también tienen implicación negativa salvo en los estudios prospectivos. Los miomas subserosos no afectan ninguno de los parámetros antes señalados.

En general tras la miomectomía de los miomas submucosos sólo se consigue mejorar la tasa de embarazo (RR 2.034; 95% CI 1.081 – 3.826). Y la miomectomía de lesiones intramurales no alcanza significancia estadística.

La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) realiza en el año 2009 unas guías en relación a miomas y fertilidad concluyendo que (16):

- La evidencia sugiere que los miomas son la causa primaria de esterilidad en un grupo reducido de pacientes.
- Los miomas que distorsionan la cavidad uterina y los miomas intramurales grandes pueden tener un efecto adverso en la fertilidad.
- El tratamiento médico para los miomas no mejora la esterilidad.
- En mujeres con infertilidad y con aborto de repetición la miomectomía debe ser considerada solo después de una evaluación exhaustiva.
- La miomectomía es un procedimiento quirúrgico relativamente seguro, asociado con pocas complicaciones graves. De cualquier forma la formación de adherencias posquirúrgicas son comunes pudiendo representar una amenaza para la fertilidad futura.

- La embolización de las arterias uterinas y la miolisis no pueden ser recomendado para mujeres con miomas que deseen conservar la fertilidad debido a que no se ha establecido la seguridad y la efectividad en estas pacientes.

## **II.5 Hidrosálpinx**

El hidrosálpinx es la dilatación de la trompa de Falopio en la presencia de una obstrucción distal, debido fundamentalmente a un proceso inflamatorio o infeccioso (25). El 22% de la infertilidad femenina es resultado de la lesión de la trompa de Falopio, presentándose de manera más frecuente entre los 15 a 25 años de edad (26).

Diversas pruebas indican que la presencia de hidrosálpinx afecta desfavorablemente los resultados esperados con la FIV, disminuyendo los índices de natalidad aproximadamente al 50% (27,28). Varios mecanismos se han propuesto para explicar los efectos adversos del hidrosálpinx sobre la tasa de nacido vivo en ciclos FIV (29).

Estos incluyen:

- Efecto embriotóxico directo
- Receptividad endometrial disminuída
- Expulsión embrionaria del útero debido a un efecto mecánico del líquido del hidrosálpinx.

El impacto del hidrosálpinx en los resultados obtenidos de los ciclos FIV se concentran en 2 metaanálisis. El primero realizado por Zeyneloglu HB et al incluye 6700 ciclos de 11 estudios, la tasa de embarazo observada en mujeres con hidrosálpinx (165 embarazos/1004 ciclos) fue de 16.4%. Fue 49% menor que la observada en pacientes con factor tubárico sin hidrosálpinx (1478 embarazos/4736 ciclos), con un 31.2%. (OR 50.7 95% CI 41.4 – 62.2). El efecto fue observado tanto en embriones frescos como congelados. La tasa de aborto también fue 2.3 veces más alta entre mujeres con hidrosálpinx (95% CI 1.6 – 3.5)(35).

En un metaanálisis realizado por Camus et al, incluyó 9 estudios y 5 resúmenes (5592 pacientes). La tasa de partos por ciclo fueron 13.4% en 1418 ciclos en pacientes con hidrosálpinx y 23.4% en 6735 ciclos en pacientes sin hidrosálpinx (OR 0.58; 95% CI 0.49 – 0.69)(36).

Una revisión detallada de 3 estudios aleatorizados y controlados mostró que la salpingectomía laparoscópica incrementó significativamente la tasa de nacido vivo (OR 2.13; 95% CI 1.24 – 3.65) y la tasa de embarazo (OR 1.75; 95% CI 1.07 – 2.86) en mujeres con hidrosálpinx previo a ciclo de FIV comparado contra ningún tratamiento (Nivel de evidencia 1A). No hubieron diferencias significativas en las tasas de embarazo ectópico (OR 0.42; 95% CI 0.08 – 2.14), aborto (OR 0.49; 95% CI 0.16 – 1.52), complicaciones del tratamiento (OR 5.80; 95% CI 0.35 – 96.79) o implantación (OR 1.34; 95% CI 0.87 – 2.05) (30).

La evidencia actual es insuficiente para permitir las recomendaciones en cuanto a la eficacia de tratamientos quirúrgicos alternativos como la neosalpingostomía laparoscópica, la aspiración transvaginal de líquido del hidrosálpinx, la oclusión tubárica proximal por histeroscopia, o el tratamiento a base de antibióticos (32).

## **II.6 Causas desconocidas**

Aproximadamente 30 % de las parejas infértiles tiene infertilidad de causa desconocida. En este tipo de infertilidad, los resultados en las pruebas de ovulación y estructura de la trompa de Falopio son normales, además de factor masculino sin alteraciones.

### **III. Factores asociados a la infertilidad femenina**

El estilo de vida afecta de manera invariable la salud de las personas incluyendo también, su capacidad reproductiva. Dentro de los factores de riesgo de infertilidad femenina se encuentran: edad materna avanzada, obesidad, tabaquismo, estrés, consumo de cafeína, alcohol, quimioterapia, radioterapia y exposición a contaminantes ambientales. (Homan et al, 2007; Jick et al, 1972; Romero et al, 2008).

#### **III.1 Edad**

En la actualidad existe una fuerte tendencia a retrasar la maternidad debido a que la mujer dedica más años de su etapa reproductiva a la educación superior y formación profesional y además se integran en un número cada vez mayor a la vida económica, situación que condiciona que las mujeres deseen un embarazo a edades más avanzada y por lo tanto solicitan valoración por infertilidad en una edad en la cual el ovario ya está disminuyendo su función (Maroulis et al, 1991; Laufer et al, 2004; Van Rooij et al, 2003; ASRM, 2002).

La fertilidad de la mujer alcanza el máximo entre los 20 y 24 años de edad aproximadamente y empieza a disminuir muchos años antes de que inicie la

menopausia, aunque continúe con ciclos regulares y ovulatorios. Esta disminución bi-exponencial es lenta y constante entre los 20 a 35 años, seguida de una fase acelerada en los diez años posteriores, donde empiezan a declinar las tasas de embarazo de manera natural.

Con el incremento de la edad femenina, la tasa de fecundidad natural y embarazo después del uso de técnicas de reproducción asistida (TRA) disminuyen. Se considera que dicha reducción de la fecundidad se debe principalmente al envejecimiento ovárico, reduciéndose la cantidad y calidad de los folículos reclutados, lo que se ve reflejado en el número y calidad (potencial de implantación) de los embriones obtenidos (gráfico 5, Broekman et al). Hay una relación directamente proporcional del número de embriones aneuploides obtenidos por FIV, mientras aumenta la edad de la paciente.

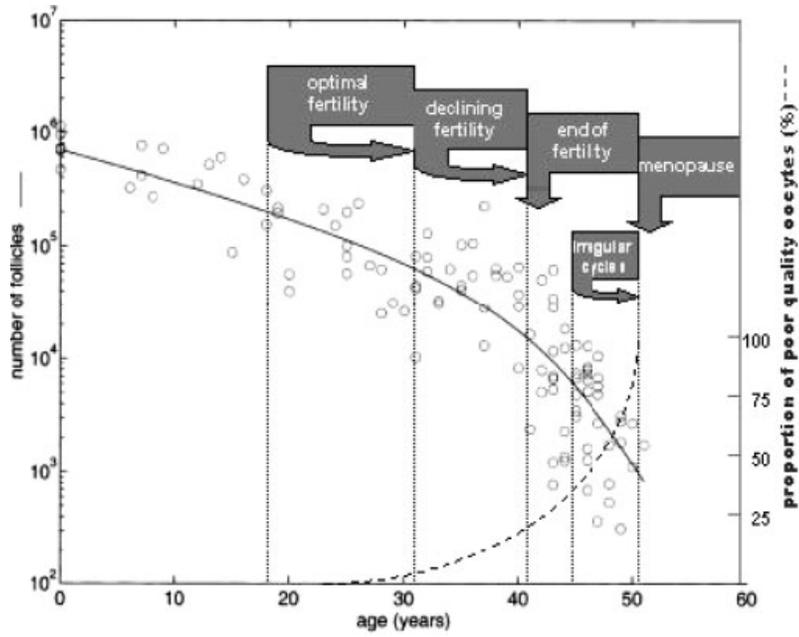


Gráfico 5. Cantidad de ovocitos en el ovario por grupos de edades.

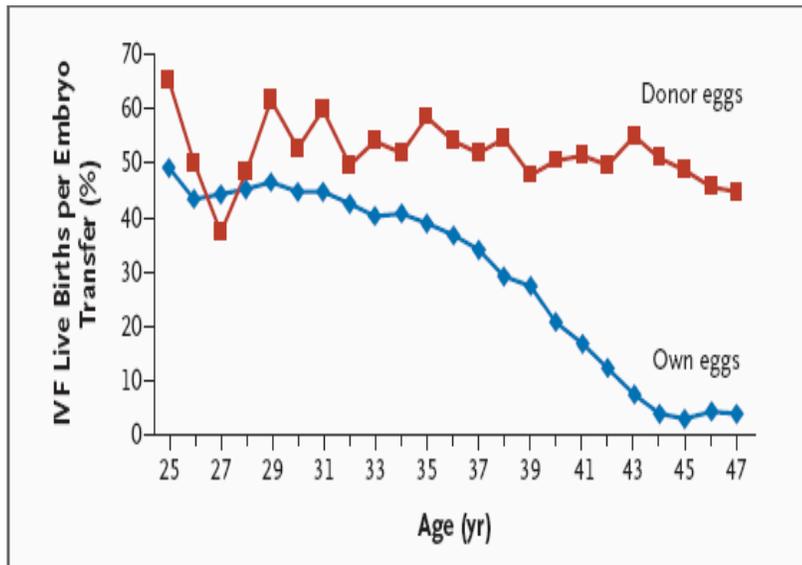


Gráfico 6. Porcentaje de embarazo mediante FIV por grupo de edades, comparado con donación de óvulos. (Tomado de Broekman et al, 2006)

### **III.2 Obesidad**

La obesidad se define como el exceso de grasa corporal. Según el Center for Disease Control and Prevention, la definición clínica de sobrepeso es un índice de masa corporal (IMC) entre 25 y 29.9 y la definición de obesidad es un IMC mayor a 30. La fórmula para calcular el IMC es  $[\text{Peso en kg}/(\text{altura en m})^2]$ . La obesidad incrementa el riesgo de padecer varios trastornos dentro de los que destacan hipertensión arterial, hipercolesterolemia, diabetes mellitus tipo 2, cardiopatías, artritis, alteraciones del sueño y algunos tipos de cáncer (Kasper et al, 2006).

Las mujeres con obesidad tardan más tiempo en concebir debido principalmente a anomalías que afectan el desarrollo folicular y la ovulación. Este tipo de pacientes tienen alteraciones en la secreción de hormona liberadora de gonadotropina, niveles de insulina elevados, bajos niveles de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) y un incremento en la producción ovárica y adrenal de andrógenos. Muchas reúnen los criterios diagnósticos de síndrome ovárico poliquístico (anovulación crónica hiperandrogénica) y producen niveles aumentado de especies reactivas de oxígeno los cuales afectan adversamente el desarrollo folicular antral (Su I et al, 2008; Martinuzzi et al, 2008).

Varios estudios han descrito una baja tasa de éxitos en mujeres obesas sometidas a FIV. La inducción de la ovulación es más complicada en este tipo de pacientes debido a que hay una resistencia al citrato de clomifeno y conforme se incrementa el peso, se requieren también de dosis más altas. Las mujeres obesas están en mayor riesgo de hiperestimulación ovarica, debido a que es muy probable que tengan síndrome de ovario poliquístico (anovulación crónica hiperandrogénica). Por otro lado la monitorización de una paciente obesa durante la estimulación puede ser más difícil debido a que los ovarios están localizados fuera del plano focal sonográfico normal. En un metaanálisis publicado por Maheshwari en 2007, se concluyó que comparadas con mujeres con un IMC de 25 o menos, pacientes con un IMC mayor tuvieron menos oportunidad de conseguir el embarazo después de un ciclo de FIV [odds ratio (OR) 0.71, 95% CI: 0.62, 0.81], requirieron mayores dosis de gonadotrofinas y tuvieron un incremento en el porcentaje de aborto; hubo evidencia insuficiente sobre el efecto del IMC sobre nacidos vivos, ciclos cancelados, recuperación de ovocitos y la posibilidad de presentar un síndrome de hiperestimulación ovárica.

### **III.3 Tabaquismo**

El tabaco se ha asociado con diversos trastornos incluyendo el desarrollo de cáncer. En el caso de la fertilidad, varias observaciones sugieren que el cigarro está asociado con un envejecimiento ovárico más acelerado, es decir, con un agotamiento precoz de ovocitos. El tabaquismo está asociado con un inicio temprano y con una disminución en la transición hacia la menopausia. Se ha asociado también con niveles aumentados de FSH y con bajos niveles de estrógenos (Kinney et al, 2007).

Las fumadoras activas tienen una tasa de nacimientos vivos baja por cada ciclo de reproducción asistida comparado con pacientes no fumadoras. Se han encontrado numerosos metabolitos de nicotina y derivados del cigarro en el líquido folicular de los ovocitos estimulados en un FIV.

Estos factores solos o en combinación, disminuyen el número y/o la calidad de los ovocitos y por ende la capacidad reproductiva de la mujer.

#### **IV. Reserva ovárica (RO)**

Debido a que los costos de las Técnicas de Reproducción Asistida (ART) son elevados, es importante conocer las probabilidades de éxito en el curso de una serie de ciclos de FIV en las parejas que consideran someterse a este tipo de tratamiento. En las últimas 2 décadas se han estudiado por su habilidad de predecir los resultados de fertilización in-vitro, una serie de pruebas ováricas relacionadas con la reserva ovárica, la cual está directamente asociada al número de ovocitos conseguidos en un ciclo de hiperestimulación ovárica controlada.

La reserva ovárica (RO) se define como el número y calidad de los folículos remanentes en el ovario en un determinado momento. Una medida cuantitativa de la RO involucraría la cuenta exacta de todos los folículos presentes en ambos ovarios pero por obvias razones en las pruebas de RO el verdadero número de los folículos presentes en el fondo no ha sido usado como el estándar de referencia para la evaluación. En lugar de eso se han utilizado algunas variables alternas del tamaño del fondo. La medición de la reserva ovárica sólo puede ser aproximada debido a que no están disponibles pruebas 100% precisas, sin embargo esta medición les da a las parejas un estimado realista de la probabilidad de tratamiento de la fertilidad (Broekmans, et al, 2006; Navot et al, 1987).

La RO se considera normal si la estimulación con gonadotropinas exógenas resulta en el desarrollo de al menos 8–10 folículos y la recuperación por punción folicular de un número igual de ovocitos sanos. Los métodos para evaluar la reserva ovárica se clasifican en pruebas pasivas y pruebas dinámicas.

## **Evaluación de la reserva ovárica**

### **Pruebas pasivas**

#### **IV.1 Nivel de FSH en el día 3 del ciclo.**

La hormona folículo estimulante (FSH) pertenece junto con la LH (hormona luteinizante) a las gonadotropinas hipofisarias. Ambas hormonas regulan y estimulan de manera sinérgica el crecimiento y la función de las gónadas (ovarios y testículos). La FSH es una glucoproteína que consta de dos subunidades (cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ ) con un peso molecular de aproximadamente 32,000 dalton. Presenta un mecanismo de retroalimentación negativa con los estrógenos y la inhibina.

La elevación sérica de FSH es una compensación hipofisaria para el ovario envejecido y falta de respuesta, para que de esta manera, trate de mantener una respuesta óptima con el tiempo. En éste, el reducido número

de ovocitos y producción disminuida de hormonas estrogénicas llevan a una disminución en la retroalimentación negativa de la secreción hipotalámica/hipofisiaria de FSH, por lo que empieza a aumentar sus niveles séricos.

La concentración de FSH en el tercer día del ciclo es un estimado indirecto de la reserva ovárica, siendo una medida de la cantidad de inhibina B/estradiol que un grupo de folículos esta produciendo, y los efectos de retroalimentación negativa a nivel de la glándula pituitaria. Niveles basales de FSH elevados son consistentes con una reserva ovárica disminuida.

Pacientes con concentraciones basales (por lo regular menores a 10-12 mUI/mL) disminuidas de FSH responden mejor a la inducción de la ovulación. Algunos estudios han mostrado que la FSH es un mejor predictor que la edad.

En el gráfico 7 se observa el comportamiento de las hormonas gonadotróficas FSH y LH en las diferentes etapas de la vida de la mujer. Ambas hormonas se incrementan a medida que se desarrolla la menopausia.

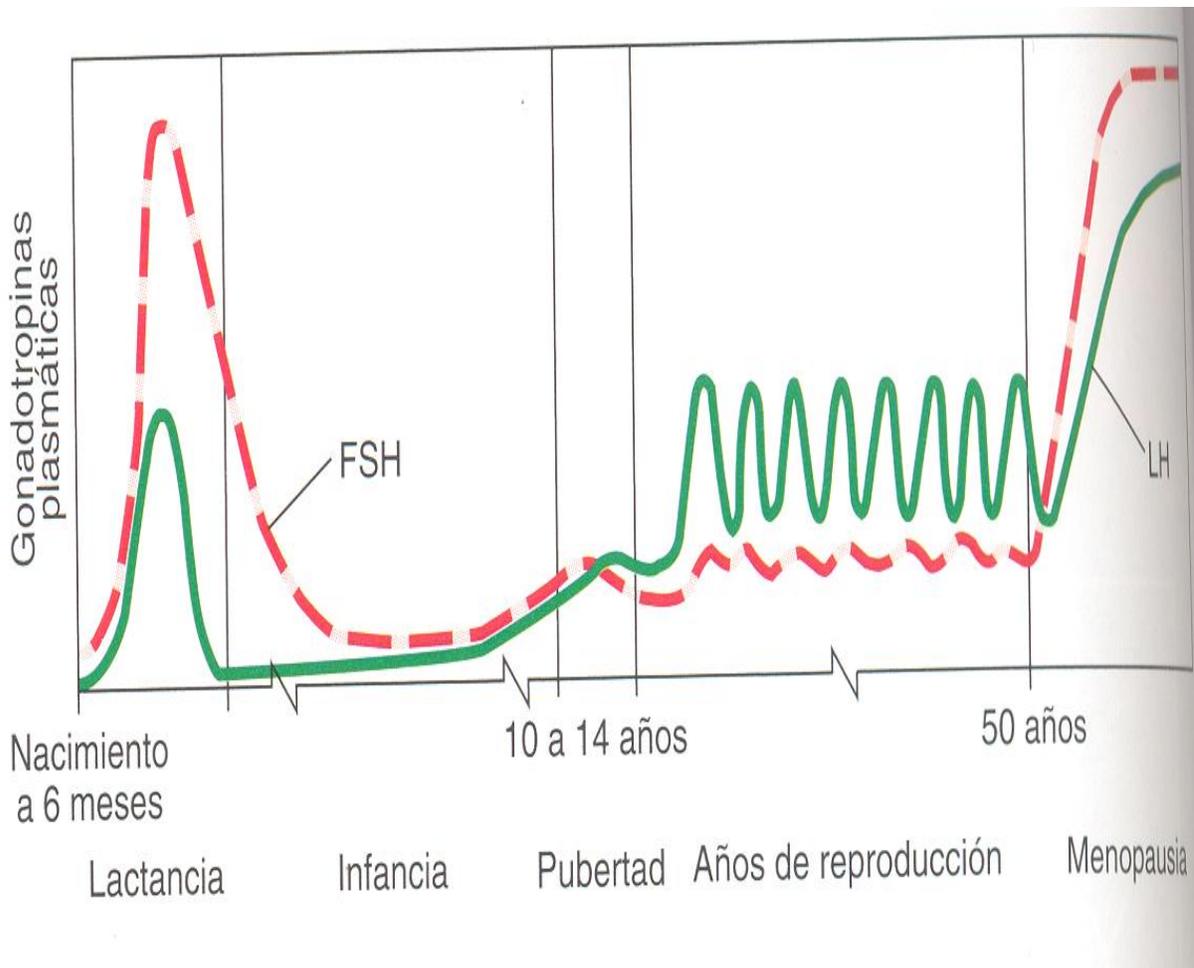


Gráfico 7.- Patrón de secreción de las gonadotropinas durante las diferentes etapas de la vida de la mujer. FSH, hormona folículo estimulante; LH, hormona luteinizante.

## **IV.2 Relación Basal FSH/LH**

Una relación basal exagerada de FSH/LH aun con FSH normal, se considera como un signo de reserva ovárica disminuida. El ratio FSH:LH se incrementa antes que los niveles sanguíneos de FSH, por lo que usar estas 2 mediciones conjuntas puede ser mas confiable y puede detectarr mas rápido un pequeño incremento en FSH.

## **IV.3 Inhibina B**

La inhibina B es una hormona peptídica que pertenece a la superfamilia de factores de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Se produce en las células de la granulosa de los pequeños folículos antrales e inhibe selectivamente los niveles de FSH, es decir, ejerce una retroalimentación negativa sobre ésta. Los niveles séricos de inhibina disminuyen con la edad, al tiempo que se van agotando los folículos y por lo tanto la acción de las células de la granulosa y también durante el fallo ovárico prematuro. Se le considera un importante marcador de la reserva ovárica.

En un ciclo ovulatorio normal las concentraciones sericas de inhibina B se correlacionan inversamente con las concentraciones de FSH e incrementa insidiosamente hasta el punto medio de la fase folicular donde alcanza junto con la masa de las células de la granulosa un pico máximo. Después ocurre una disminución progresiva en la que persisten bajas concentraciones en la

fase lútea, excepto por una breve elevación que ocurre después de que surge la LH. Este comportamiento a lo largo del ciclo permite asumir que la inhibina B juega un importante papel en el desarrollo folicular, reflejando fielmente una función ovárica y reserva folicular.

#### **IV.4 Hormona anti-mulleriana (AMH)**

La hormona antimulleriana (AMH), también llamada sustancia inhibidora mulleriana (MIS), pertenece a la superfamilia del factor transformador de crecimiento  $\beta$  al igual que las inhibinas y las activinas, es una glicoproteína dimérica con dos puentes bisulfuro, con un peso molecular de 17 kd, y es principalmente expresada por las células de la granulosa del folículo (CG). La secreción de AMH es probablemente modulada por el grado de desarrollo de la gónada, siendo bajo el nivel sérico al nacimiento en las mujeres, y posteriormente aumenta gradualmente alcanzando un nivel mayor en la pubertad y disminuye progresivamente hasta ser indetectable en la menopausia (momento en el que los folículos y por lo tanto, las células de la granulosa se encuentran agotadas).

En varones, la AMH se produce en las células de Sertoli, y estas inducen la degeneración de los ductos mullerianos en la etapa embrionaria, permitiendo la formación normal del sistema genital

masculino. La AMH durante la fase folicular temprana del ciclo menstrual, refleja el número de folículos antrales tempranos, el número de ovocitos recuperados y en la estimulación ovárica controlada de ciclos subsecuentes (COH). Los niveles séricos de AMH se correlacionan con el desarrollo de folículos preantrales y antrales pequeños durante la vida reproductiva. Su estrecha relación con la foliculogénesis y su medición basal en el día 3 del ciclo es muy sensible al envejecimiento ovárico. Recientemente se han realizado estudios que la consideran un marcador de alta sensibilidad y especificidad para detectar la reserva ovárica en mujeres en edad reproductiva. Las mediciones séricas de AMH en pacientes normoovuladoras son un marcador excelente de reserva ovárica y no existe una variación sérica significativa durante el ciclo de tal forma que puede ser medida en cualquier día de mismo, a diferencia de la FSH e Inhibina, que se miden al inicio del ciclo menstrual.

La AMH regula la actividad ovárica y la esteroidogénesis folicular, disminuye la actividad aromatasa en células de la granulosa FSH estimuladas, reduce el número de receptores de LH y regula la producción de testosterona en las células de la teca.

La relación andrógenos/estrógenos intrafolicular también actúa en función del ovocito, y la AMH juega un papel mayor en la regulación de

esta relación. En caso de niveles altos andrógenos/estrógenos degenera el folículo y cuando es baja ocurre la ruptura de la vesícula germinal. La AMH tiene un doble papel en la foliculogénesis. Primero inhibe el reclutamiento de folículos FSH independientes del pool de folículos primordiales. Segundo, se ha visto que modifica la sensibilidad a FSH de folículos pre-ovulatorios. La AMH continua siendo expresada por el folículo en crecimiento en el ovario, hasta que ellos alcanzan el tamaño y el estadio de diferenciación, de donde se selecciona el folículo dominante por acción de la FSH de la pituitaria.

Otros estudios sugieren que la AMH juega un papel importante en el reclutamiento folicular, posiblemente por disminuir la sensibilidad de los folículos ováricos a la FSH e inhibir la iniciación de crecimiento de folículos FSH-inducidos y la selección del folículo dominante, por lo tanto disminuyendo ligeramente el pool de folículos (77, 78, 79). Esto puede indicar que la falta o exceso de AMH puede asociarse con desarrollo folicular anormal y por lo tanto alteraciones en la función reproductiva (80).

## IV.5 Ecografía vaginal

El estudio del volumen ovárico, carga folicular antral y flujo sanguíneo del estroma ovárico ha sido realizado por ultrasonido y se considera una forma muy efectiva de valorar la reserva ovárica.

El volumen ovárico se calcula:  $d1 \times d2 \times d3 \times \pi/6$ , o  $d1 \times d2 \times d3 \times 0.523$ , donde  $d1$ ,  $d2$ ,  $d3$  son los diámetros máximos longitudinales anteroposterior y transversal. El volumen ovárico es el promedio de los 3 diámetros. El número de folículos antrales de no más de 5 mm y el número de folículos antrales grandes de más de 5 mm pero no mayores de 10mm, se cuentan para efectos de la carga folicular antral.

En mujeres menores de 30 años el volumen ovárico promedio es de 6.6  $\text{cm}^3$ , disminuyendo a 4.8  $\text{cm}^3$  en mujeres de 40 a 49 años, esto tomando en cuenta solamente la edad. Si tomamos en cuenta si son pre o posmenopáusicas, la diferencia es de 6.2 +/- 3.9  $\text{cm}^3$  con edad entre 40 y 54 años, a 2.9 +/- 2.2  $\text{cm}^3$  en mujeres posmenopáusicas de 41 a 86 años. En mujeres con fertilidad comprobada, la cantidad de folículos antrales disminuye de tener de 7-22 a los 30 años, a 2-7 a los 40 años. En las pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida (TRA) se puede establecer mediante ultrasonido la reserva ovárica baja o normal mediante el conteo de estos folículos antrales (CFA).

Las pacientes con un volumen ovárico de  $3 \text{ cm}^3$  o menos, el 57.7% tienen menos de 5 folículos en ambos ovarios, comparado con un 16.9% en las pacientes que tienen volumen ovárico de más de  $3 \text{ cm}^3$ . Las mujeres que tienen volúmenes de  $3 \text{ cm}^3$  o menos, tienen mayor porcentaje de cancelación de ciclo o pobre respuesta comparada con mujeres que tienen un volumen ovárico mayor (15.4 vs. 1.2%).

Si la suma total de los folículos antrales con un diámetro medio de 2-5mm en ambos ovarios son menos de 5, se les cataloga como baja reserva ovárica y si la suma es de 5 ó más se les clasifica como reserva ovárica normal (Broekmans et al, 2006).

En pacientes en las cuales por cuestiones técnicas no es posible medir los folículos de los dos ovarios (distensión de colon, molestias de la pacientes, entre otras) se puede suponer que el número de los folículos de un ovario es similar al otro.

Con el incremento de la edad femenina, la tasa de fecundidad natural y embarazo después de técnicas de reproducción asistida (TRA) disminuyen. Se considera que dicha reducción de la fecundidad se debe principalmente al

envejecimiento ovárico, reduciéndose la cantidad y calidad de los folículos reclutados.

En el ovario el número de ovocitos formados durante la vida fetal disminuye rápidamente durante la vida reproductiva de la mujer. Con el incremento de la edad disminuye tanto la cantidad como la calidad ovocitaria que es llamada reserva ovárica.

## **Pruebas dinámicas**

### **IV.6 Test de clomifeno.**

El citrato de clomifeno (gráfico 8) es un agonista-antagonista de receptores de estrógeno. Esto significa que en determinados tejidos actúa como agonista y en otros como antagonista. A nivel de la glándula pituitaria produce bloqueo de la acción de los estrógenos circulantes simulando una privación temporal de estos, lo que lleva a un incremento compensatorio de FSH circulante y una recuperación aumentada de folículos. Por lo que es un medicamento efectivo y ampliamente utilizado como inductor de la ovulación, principalmente en las pacientes anovuladoras del grupo II de la OMS (gráfico 8).

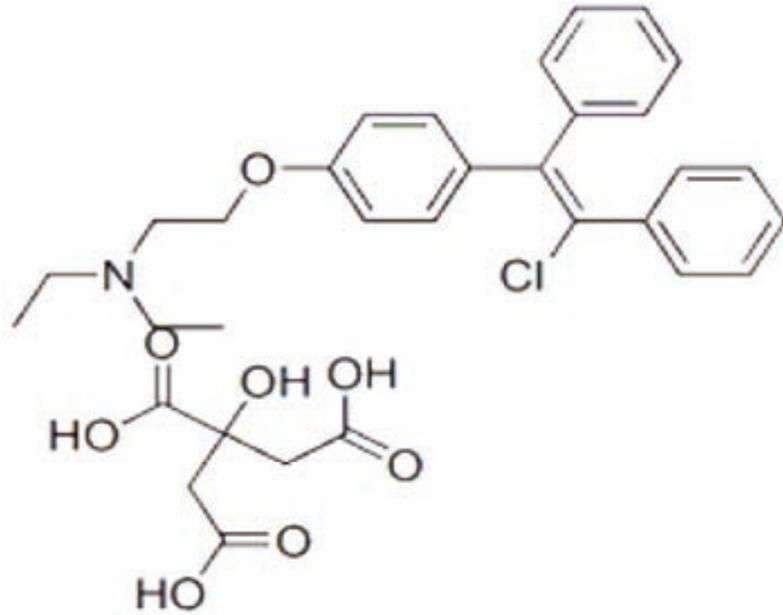


Gráfico 8.- Molécula de citrato de clomifeno

La prueba de test de citrato de clomifeno, desarrollado por Navot y colaboradores en 1987, ha sido validado por varios autores para la predicción de la reserva ovárica. Esta prueba consiste en la administración de 100 mg de citrato de clomifeno de los días 5 al 9 y la determinación de las concentraciones de FSH en los días 3 y 10 del ciclo. En presencia de ovarios con una adecuada reserva, la elevación de la FSH será suprimida por el estradiol y la inhibina B producida en los folículos. Un resultado anormal en esta prueba se define como un aumento anormal de la FSH en el día 3 y/o en el día 10, tomando como aumento anormal si los niveles de FSH tras la estimulación son superiores a 10UI/ml, o si la suma de los valores

basales y tras la estimulación son superiores a 25 UI/ml o más de 2 desviaciones estándar arriba de los valores de control para este estudio (Bukman et al, 2001; Speroff, 2005)

El fundamento de esta prueba se basa en el hecho de que en la mujer con una reserva ovárica adecuada, hay una cantidad normal de folículos en desarrollo que pueden ser capaces de producir suficiente inhibina y estradiol para suprimir la FSH secretada por la hipófisis en respuesta al bloqueo de receptores de estrógenos por el clomifeno.

#### **IV.7 Certeza para la predicción de pacientes bajas respondedoras y en la predicción de no embarazo.**

En un estudio publicado por Broekmans y colaboradores (2006) se intentó establecer la especificidad y sensibilidad del test del citrato de clomifeno para la detección de pacientes con pobre respuesta, sin embargo el análisis de los 12 estudios publicados hasta esa fecha presentaban una heterogenicidad entre sí que no permitían establecer estos parámetros mediante un análisis estadístico (Devroey, P. et al, 2009).

Algunos autores han propuesto categorizar los resultados en normal, limitrofe y anormal tomando en cuenta las mediciones de FSH y estradiol de la siguiente manera (Bukman et al, 2001).

	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 10</b>	<b>Dia 10</b>
	FSH UI/L	Estradiol pmol/l	FSH UI/L	Estradiol pmol/l
<b>Normal</b>	< 10	<300	<10	>650
<b>Limítrofe</b>	10 a 12		10 a12	
<b>Anormal</b>	>12	>300	>12	<650

Varios autores, como el mismo Bukman, han descrito el valor de la prueba de reto con citrato de clomifeno en relación al resultado de la estimulación ovárica y las tasas de embarazo.

Se ha observado un resultado anormal en esta prueba más comúnmente en mujeres de edad más avanzada, como aquellas que se encuentran a principios de la cuarta década de la vida y se le ha relacionado con bajas tasas de embarazo en ciclos espontáneos en estas mujeres (Loumaye et al, 1990).

Hay una alta incidencia de respuestas anormales en mujeres mayores de 35 años, y un 85 % de las mujeres que resultan con valores elevados de FSH después de la prueba responderán pobremente a la estimulación ovárica. En

una población general con infertilidad, alrededor del 10 % de las mujeres presentan una respuesta anormal a la prueba de reto del citrato de clomifeno, como es esperado este porcentaje se va incrementando con la edad, desde un 3 % en mujeres menores de 30 años, un 7% en mujeres de 30 a 34 años, 10 % en mujeres de 35 a 39 años y hasta un 26 % después de los 40 años. Las mujeres con diagnóstico de infertilidad inexplicable tienen un 38 % de incidencia en resultados anormales en esta prueba. Un resultado anormal en la prueba de reto con citrato de clomifeno indica un pobre pronóstico sin importar la edad (Speroff et al, 2005; Wenjie S. et al, 2008).

Mujeres que presentan un resultado normal en esta prueba, responden mejor a la estimulación ovárica y de esta manera la prueba de reto con citrato de clomifeno provee un pronóstico individual para la respuesta ovárica (Loumaye et al, 1990; Tanbo T. et al, 1989; Hofmann et al, 1996). Esta prueba parece tener más sensibilidad que la medición únicamente de FSH en día 3, según lo demostró un estudio (Scott et al, 1995), sin embargo existen otros análisis donde no demostró superioridad a la medición de la FSH (Hendricks et al, 1995), El ratio de probabilidad de una prueba positiva en relación a la probabilidad de quedar embarazada varía entre 6.2 y 14.5 (Scott et al, 1995). La tasa de cancelación de ciclos es mucho más alta en aquellas mujeres que presentaron un resultado anormal (Tanbo et al, 1992).

La explicación fisiológica de esta prueba radica en la acción antagonista a los estrógenos, del citrato de clomifeno. El mecanismo por el cual se suprime la FSH es a través del efecto supresor de la inhibina B producida por las células de la granulosa (Glen E. et al, 1998).

## **V. Tiroides**

### **V.1 Anatomía y fisiología de la glándula tiroides.**

Anatómicamente la glándula tiroides (del griego *thyreos*, escudo, y *eidos*, forma) es una estructura bilobular piriforme, con lóbulos derecho e izquierdo con un istmo que une ambos lóbulos, situada delante del segundo y el tercer anillo traqueal, pesa entre 15 y 20 gr con un longitud de cada lóbulo de 4 a 5 cm (gráfico 9). Así mismo, fisiológicamente es una glándula endocrina que secreta 2 tipos de hormonas; tiroxina (T4) y triiodotironina (T3) (gráfico 10).

La unidad funcional de la glándula tiroides es el folículo tiroideo el cual esta relleno por una sustancia coloide y revestido por células epiteliales cúbicas foliculares, que sintetizan y secretan el coloide al interior de los folículos (gráfico 9). El principal constituyente del coloide es la glucoproteína tiroglobulina que esta compuesta por 140 aminoácidos de tirosina y contiene en su interior, las hormonas tiroideas tiroxina y triyodotironina. (Strauss,

1999; Speroff 1999). La actividad de estas células se encuentra bajo control directo de la hipófisis anterior mediante la TSH (Hormona Estimulante de la Tiroides). La producción de la hormona tiroidea depende en parte de la oferta de yodo, que deriva de manera exclusiva de la dieta.

□

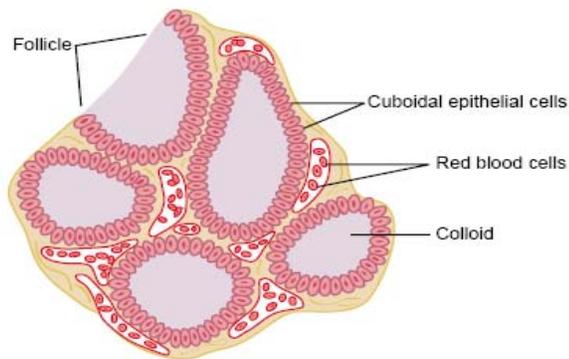
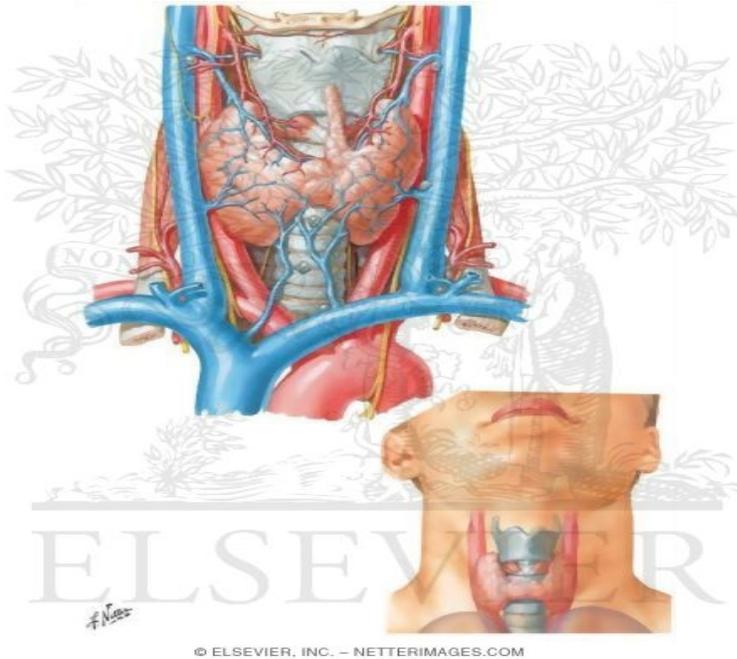


Gráfico 9. Localización anatómica de la glándula tiroides y estructura funcional

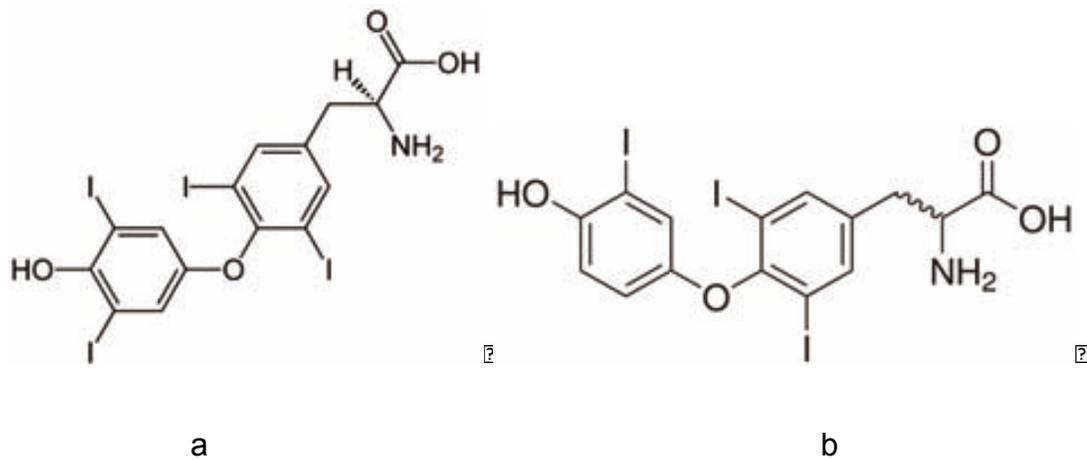


Gráfico 10. La molécula de las Hormonas tiroideas: a) Tiroxina, b) Triyodotironina

La captación de yoduro es el primer paso crucial en la síntesis de las hormonas tiroideas. El yodo ingerido de la dieta se une a proteínas séricas, principalmente a la albúmina, mientras que el yodo que permanece libre se elimina por la orina. El yodo es transportado hacia el interior de la glándula tiroidea por medio del simportador Na/I. Una vez en el interior, el yoduro, es transportado a la membrana apical de las células foliculares, donde se oxida en una reacción en la que participan la peroxidasa tiroidea (TPO) y el peróxido de hidrógeno. Posteriormente el yodo oxidado es incorporado a los residuos de tirosina de la tiroglobulina. Estas iodaciones específicas de

tirosina producen residuos monoiodados y diiodados los cuales pueden ser acoplados enzimáticamente para formar T4 y T3.

En los vertebrados, las hormonas T4 y T3 son las únicas moléculas que contienen yodo. La glándula tiroidea secreta al torrente sanguíneo al menos 20 veces más T4 que T3. Ambas hormonas son transportadas a los tejidos por medio de su unión a proteínas transportadoras, principalmente la globulina de unión a hormonas tiroideas y en menor medida a la transterritina y albúmina. La función de estas proteínas consiste en aumentar la reserva de hormona circulante, retrasar la depuración hormonal y quizá, regular el suministro de hormonas a determinadas regiones hísticas (tisulares). Más del 99 % de las hormonas tiroideas circulantes se encuentran unidas a estas proteínas, sin embargo la responsable de la actividad biológica es la forma libre ya que es la que puede entrar a la célula y unirse a su receptor nuclear. La potencia de las hormonas tiroideas es diferente, la T3 es la más potente mientras que la T4 es la menos potente. En la periferia las desiodasas de tipo I o II catalizan la conversión de T4 a T3.

La secreción de hormonas tiroideas es regulada por el sistema de retroalimentación hipotálamo-hipófisis-tiroidea. En este sistema, la hormona liberadora de tirotrópina, la cual es producida por el hipotálamo, controla la liberación de hormona estimulante de tiroidea (TSH) de la adenohipófisis. La TSH incrementa la actividad global de la glándula al promover la liberación

de hormonas tiroideas al torrente sanguíneo e incrementar sus síntesis. Niveles aumentados de hormonas tiroideas actúan inhibiendo TRH y TSH por retroalimentación negativa (gráfico 11).

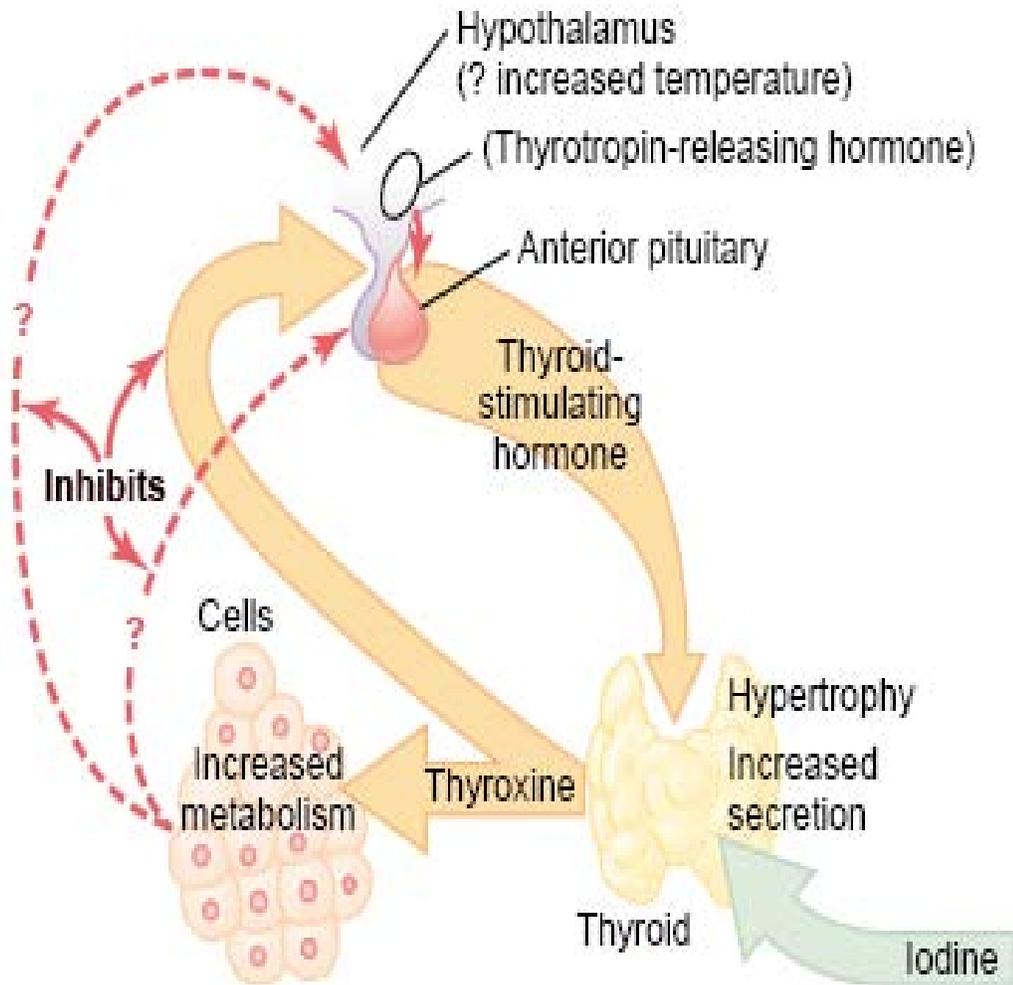


Gráfico 11.- Regulación de la liberación de hormonas tiroideas. Tomado de Fisiología de Guyton 10ª. edición

El efecto general de las hormonas tiroideas es activar la transcripción nuclear de un gran número de genes. El receptor de hormonas tiroideas se localiza a nivel nuclear ya sea adherido al DNA o cercano a él. El receptor forma un heterodímero con el receptor retinoide X en elementos específicos de respuesta a hormona tiroidea del DNA. Con la unión de la hormona tiroidea, el receptor se activa e inicia el proceso de transcripción. Se forman entonces un gran número de diferentes RNAm, seguido en unos cuantos minutos u horas de su traducción en los ribosomas citoplasmáticos para formar cientos de nuevas proteínas intracelulares.

Estas hormonas se requieren para el funcionamiento normal de casi todos los tejidos, desempeñan importantes funciones en el crecimiento y diferenciación celular. Tienen sus mayores efectos en el consumo de oxígeno y la tasa metabólica. Las hormonas tiroideas regulan la energía y producción de calor; facilitan el desarrollo del sistema nervioso central, crecimiento, pubertad y regulan la síntesis de importantes proteínas para la función hepática, cardíaca, neurológica y muscular.

## **V.2 Patología de la glándula tiroides**

Las enfermedades de la glándula tiroides son vistas en muchas clínicas generales y de alta especialidad debido a los modos variables en que estas se presentan. Las alteraciones de la función de la glándula tiroides pueden ser hipertiroidismo e hipotiroidismo.

Una alteración de la función tiroidea puede representar un estado hipofuncional o hiperfuncional. Los desordenes de la tiroides pueden ser causados por un defecto congénito en el desarrollo de la tiroides o pueden desarrollarse en las etapas tardías de la vida con un inicio gradual o repentino.

Una de las manifestaciones típicas que se presenta en las alteraciones de la glándula tiroides es el bocio. Este es un incremento en el tamaño de la glándula que puede ser causado por hipotiroidismo, eutiroidismo o hipertiroidismo. El bocio puede ser difuso involucrando toda la glándula sin evidencia de nodularidad o puede contener nódulos. Los bocios difusos generalmente se vuelven nodulares. Tanto el bocio difuso como el nodular son el resultado de hipertrofia e hiperplasia compensatoria del epitelio folicular debido a un trastorno que altera la producción de hormonas tiroideas.

### **V.2.1 Hipertiroidismo**

El hipertiroidismo es un síndrome patológico en el cual los tejidos están expuestos a cantidades excesivas de hormonas tiroideas circulantes. Algunos especialistas restringen el término a la enfermedad en la cual la glándula tiroides sintetiza y secreta hormona en exceso. El término tirotoxicosis se usa para referirse a cualquier condición en la cual hay una excesiva cantidad de hormonas tiroideas circulantes independientemente de si la hormona surge de la glándula dañada (tiroiditis) o si es exógena. La causa más común de este síndrome es la enfermedad de Graves, seguido de bocio multinodular tóxico e hiperfunción nodular solitaria.

El hipertiroidismo tiene múltiples causas, en la mayoría de los pacientes la enfermedad de Graves es la principal causa. Esta es una condición autoinmune originada por la estimulación de receptores tiroideos con anticuerpos dirigidos a dichos receptores. Un problema también común es el desarrollo de uno o más nódulos tiroideos funcionales autónomos, que producen cantidades excesivas de hormonas tiroideas. Otras condiciones raras que pueden resultar en hipertiroidismo son: 1) tumores de la glándula hipófisis productores de tirotrópina; 2) struma ovarii ( un teratoma ovárico que tiene tejido tiroideo); 3) hipertiroidismo mediado por gonadotropina coriónica

humana; 4) inducido por yodo; cáncer tiroideo folicular metastático y 6) tirotoxicosis ficticio causado por una ingestión furtiva de hormonas tiroideas.

Los síntomas típicos del hipertiroidismo indican la acción excesiva de las hormonas tiroideas en la célula así como una actividad adrenérgica aumentada. Los pacientes presentan fatiga, nerviosismo o ansiedad, pérdida de peso, palpitaciones e intolerancia al calor. Las mujeres pueden tener menstruaciones irregulares y una disminución en la fertilidad aunque la amenorrea franca es rara. Los hombres pueden tener una disminución en la libido y en algunas ocasiones ginecomastia dolorosa. Los hallazgos clínicos casi siempre incluyen taquicardia, piel humedecida y caliente, presencia de una glándula agrandada y temblor ligero. Los hallazgos neurológicos, aunque menos frecuentes, incluyen poca concentración y cambios en la personalidad.

El hipertiroidismo se puede presentar como una tormenta tiroidea, una situación que pone en peligro la vida con signos que incluyen una importante taquicardia ( $< 140$  latidos/ min), fibrilación atrial, insuficiencia cardíaca congestiva, hiperpirexia, agitación, sicosis o coma. Este síndrome típicamente ocurre después de un evento predisponente como traumas, parto, infecciones o cirugías en un paciente con hipertiroidismo, pero podría

también surgir en pacientes que no han sido previamente diagnosticados con enfermedad tiroidea.

### **V.2.2 Hipotiroidismo**

El hipotiroidismo primario (mixedema cuando es severo) se refiere a la deficiencia hormonal causado por una disfunción intrínseca de la glándula tiroidea que altera la síntesis y secreción de T4 y T3. El hipotiroidismo se caracteriza por un nivel elevado de TSH, generalmente mayor a 10 mIU/L, en conjunto con niveles de T4 libre menor al límite inferior del rango de referencia. En el hipotiroidismo subclínico, los niveles de TSH están ligeramente aumentados; los niveles de T4 permanecen en el nivel bajo normal o dentro del rango normal.

La deficiencia dietética de yodo es la principal causa de hipotiroidismo en ciertas regiones del mundo que están en vías de desarrollo. La causa más común de hipotiroidismo primario autoinmune (que agrupan a las pacientes en este estudio) en los E.U., y la mayoría de otros países es la tiroiditis autoinmune (Hashimoto), una condición en la cual la alteración de la inmunidad mediada por células T causa destrucción del tejido tiroideo y altera la función de la glándula. Los anticuerpos circulantes contra peroxidasa y tiroglobulina, son marcadores útiles de la enfermedad pero la inflamación glandular es el resultado de la función alterada de las células T.

Como es de esperarse, la extirpación quirúrgica del tejido tiroideo para tratar enfermedades de la tiroides o cualquier otro cáncer de cabeza y cuello, puede llevar al desarrollo de hipotiroidismo. La terapia con yodo radiactivo en el tratamiento del hipertiroidismo, destruye suficiente tejido tiroideo como para causar hipotiroidismo post-ablativo. La radioterapia para tratar el cáncer de cuello y cabeza también causa un fallo en la función de la glándula. Así mismo la exposición a ciertos fármacos y agentes de contraste que contienen grandes cantidades de yodo, como amiodarona, algunos expectorantes, desinfectantes tópicos y colorantes de radiocontraste, pueden alterar pasos clave en la producción de hormonas tiroideas. El litio puede producir hipotiroidismo en 10 % de los pacientes tratados por desórdenes afectivos ya que inhibe la secreción de T4 y T3. Otros agentes farmacológicos como estavudina, talidomida y aminoglutetimida causan hipotiroidismo.

El hipotiroidismo secundario o central puede ser causado por un número de desórdenes que alteran el control normal de la hipófisis o hipotálamo sobre la glándula tiroides. Los trastornos como sarcoidosis, hemocromatosis e histiocitosis pueden interferir con la secreción de TRH. La compresión de las células tirotróficas por adenomas hipofisarios y otras masas en la silla turca pueden inhibir la síntesis y secreción de TSH.

Los síntomas del hipotiroidismo incluyen fatiga, letargia, ganancia de peso a pesar de poco apetito, intolerancia al frío, ronquera, constipación, debilidad, mialgias, artralgias, parestesia, piel seca y pérdida de cabello. Las mujeres pueden desarrollar pubertad precoz, menorragia, amenorrea y galactorrea. Los individuos afectados pueden presentar ánimo depresivo con limitada iniciativa y sociabilidad. El déficit cognitivo puede variar desde pequeños lapsos en la memoria hasta delirios, demencias, convulsiones y coma. La naturaleza no específica de la mayoría de esos síntomas hace difícil determinar cuál de los pacientes que lo presenta tiene hipotiroidismo comparado con otras causas. En la mayoría de los casos el hipotiroidismo es de inicio insidioso haciendo difícil su reconocimiento

El hipotiroidismo autoinmunitario puede ir acompañado de bocio (*Tiroiditis de Hashimoto o Tiroiditis Bociosa*) o, en fases más tardías de la enfermedad, a tejido tiroideo residual mínimo (*tiroiditis de atrófica*). Debido a que el proceso autoinmunitario reduce gradualmente la función tiroidea, existe una fase de compensación durante la cual los niveles de hormonas tiroideas se mantienen mediante una elevación de la TSH. Aunque algunos pacientes pueden presentar síntomas leves, esta fase recibe el nombre de hipotiroidismo subclínico o leve. Después los niveles de T4 descienden y los niveles de TSH aumentan todavía más; los síntomas se hacen mucho más evidentes en esta fase (habitualmente TSH > 10 Mu/L), que se denomina hipotiroidismo clínico (*hipotiroidismo manifiesto*).

La incidencia anual media de hipotiroidismo autoinmunitaria es de 4 por 1000 mujeres y 1 por 1000 varones. Es más frecuente en algunas poblaciones, como la japonesa, probablemente como consecuencia de factores genéticos y la exposición prolongada a una dieta alta en yodo. El promedio de edad en el momento de diagnóstico es de 60 años y la prevalencia de hipotiroidismo manifiesto aumenta con la edad.

En la Tiroiditis de Hashimoto existe una infiltración linfocítica marcada de la glándula tiroidea con formación de centros germinales, atrofia de los folículos tiroideos acompañada de metaplasma oxífila, ausencia de coloide y fibrosis leve o moderada. La susceptibilidad a este tipo de hipotiroidismo depende de una combinación de factores genéticos y ambientales, y está aumentado entre hermanos el riesgo de hipotiroidismo autoinmunitario o de enfermedad de Graves. Los factores de riesgo de esta clase de hipotiroidismo en sujetos caucásicos son los polimorfismos del antígeno leucocítico humano (*human leukocyte antigen*, HLA-DR) de manera particular HLA-DR3, HLA-DR4 y HLA-DR5. Existe también una relación débil entre los polimorfismos de CTLA-4, un gen regulador de las células T, y el hipotiroidismo autoinmunitario.

El infiltrado linfocítico tiroideo del hipotiroidismo autoinmunitario está formado por células T CD4+ y T CD8+ activadas y por células B. Se cree que

la destrucción de la célula tiroidea es mediada de manera primaria por las células T CD8+ citotóxicas, que eliminan sus blancos mediante perforinas que causan necrosis celular o través de la granzima B, que induce apoptosis

### **V.3 Tiroides y reproducción**

Las enfermedades tiroideas interfieren con varios aspectos de la reproducción humana. Antes de que los ovocitos sean expelidos por los ovarios, su maduración demanda un ambiente endocrino adecuado que incluye niveles normales de hormonas tiroideas. Existe una interrelación muy estrecha entre las hormonas tiroideas con la función y secreción normal de hormonas esteroideas (estrógenos), las cuales son necesarias para la función normal del ovario y por ende de la fertilidad. Mujeres con disfunción tiroidea tienen irregularidades menstruales, infertilidad y un incremento en la morbilidad durante el embarazo.

Las enfermedades tiroideas son la segunda causa más común de endocrinopatías encontradas en el embarazo y complican aproximadamente el 0.8 % de todos los embarazos. El hipotiroidismo contribuye en un 0.2 % y el hipertiroidismo en un 0.6 %. Las enfermedades tiroideas son más prevalentes en mujeres que en hombres con una marcada preferencia por las mujeres en edad reproductiva de las cuales 5–15 % pueden ser afectadas.

## Hipotiroidismo y fertilidad

La prevalencia de hipotiroidismo en mujeres en edad reproductiva (20–40 años) varía entre 2 y 4 %. En este grupo de edad la enfermedad tiroidea autoinmune es la causa más común de hipotiroidismo. El hipotiroidismo se ha asociado con un amplio espectro de desórdenes reproductivos que van desde el desarrollo sexual anormal, irregularidades del ciclo e infertilidad.

Recientemente Cramer et al demostró que los niveles séricos de TSH fueron predictores significativos de dificultades en FIV, ya que los niveles de TSH fueron significativamente más altos entre mujeres que producen ovocitos que difícilmente son fertilizados.

La prevalencia de tiroiditis autoinmune es 5 – 10 veces más alta en mujeres que en hombres, lo cual puede ser explicado por factores genéticos, el efecto de los estrógenos y quizás anomalías del cromosoma X. La importancia de la tiroiditis autoinmune es doble. Primero es la causa más común de enfermedad autoinmune en mujeres, afectando 5 – 10 % en periodo de maternidad; segundo es la causa más frecuente de disfunción tiroidea, aunque la tiroiditis autoinmune puede también estar presente sin disfunción tiroidea y por ende sin diagnosticar. Aunque los estudios son contradictorios el balance favorece un incremento en la incidencia de infertilidad comparada con los controles teniendo un riesgo relativo de 2.1 ( $P < 0.001$ ).

### Hipertiroidismo y fertilidad.

En la población general, la prevalencia de hipertiroidismo subclínico es aproximadamente del 1.5 %. Se ha demostrado en estudios que las pacientes con irregularidades menstruales tienen hipertiroidismo clínico. Sin embargo el preciso impacto que tiene el hipertiroidismo en la fertilidad permanece aún sin determinar.

### Hipotiroidismo autoinmune

La enfermedad tiroidea autoinmune se ha asociado a baja reserva ovárica, la cual puede ser causada por muchos otros factores incluyendo iatrogénica, quimioterapia (Wallace, 1989), genética (Lebovic 1999), infecciosa, autoinmune e idiopática. Gerard en el 2000, describió las principales etiologías de el fallo ovárico prematuro, y siendo la etiología idiopática y autoinmune las más frecuentes, seguido del Síndrome de Turner y quimioterapia entre otras. Ejemplos de autoinmunidad endocrina auto inmunitaria asociada al fallo ovárico o baja reserva es el hipotiroidismo, falla adrenal (enfermedad de Addison) y diabetes tipo 1. De éstas la más frecuente es el hipotiroidismo y probablemente en algunas circunstancias, el ovario podría ser dañado por los anticuerpos mismos que dañan la glándula tiroides. Por analogía, el ovario podría también incurrir en daño autoinmune aunque otras glándulas no se vean afectadas. Desafortunadamente los exámenes actuales no son lo suficientemente sensibles para determinar

cuándo este es el caso. En numerosas publicaciones se ha relacionado el fallo ovárico prematuro con el antecedente de hipotiroidismo primario autoinmune. Sin embargo, el fallo ovárico es probablemente un posible efecto radical y último de este evento autoinmune, y que cuando se hace el diagnóstico, desgraciadamente es irreversible. Consideramos que si el daño al ovario forma parte de un proceso progresivo que termina finalmente con la falla precoz gonadal, podríamos detectar etapas más tempranas de este proceso deteriorante del ovario en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune. El interés de este campo es de encontrar un marcador autoinmune capaz de predecir el fallo ovárico. Tal marcador podría prevenir el fallo ovárico antes de que sea completa o cuando el fallo ovárico aun se encuentre en etapas tempranas (Conway, 2000). Estas alteraciones pueden afectar el ovario en cualquier etapa de la vida, incluyendo prepuberal, puberal y reproductiva (Hoek et al. en 1997). Desde la década pasada se ha investigado más acerca del posible papel de autoinmunidad en el contexto de la disminución de la reserva ovárica.

## VI. Justificación

El tratamiento adecuado de la infertilidad femenina, requiere además de la estimación de la reserva ovárica, la identificación de trastornos que aceleren la disminución de dicha reserva. La identificación de tales trastornos permitirá un tratamiento más individualizado, estimar la probabilidad de éxito en las terapias de reproducción asistida así como también aconsejar, con fundamento, la edad óptima para procrear o someterse a terapias de reproducción asistida. Debido a sus antecedentes, el hipotiroidismo autoinmune puede ser uno de los trastornos endocrinológicos asociados con la reserva ovárica disminuida por lo que es importante determinar su probable participación en etapas tempranas, antes de que sucediera la falla ovárica.

En la actualidad no existe un marcador con una sensibilidad del 100 % para determinar la reserva ovárica. El interés actual es encontrar un marcador capaz de determinarla. A pesar de que la hormona antimulleriana (AMH) ha sido considerada como un marcador altamente sensible y específico de la reserva ovárica en pacientes en edad reproductiva; su medición no ha sido incluida dentro del protocolo para la valoración de la pareja estéril en México. La posibilidad de adquirir el conocimiento del uso de la concentración de la AMH, así como otros marcadores como FSH, test de clomifeno y recuento de folículos antrales (CFA) para la evaluación de la

posibilidad de procreación en estos pacientes, justifica evidentemente este proyecto.

## **VII. Hipótesis**

### **Nula**

El hipotiroidismo autoinmune no modifica los valores normales de reserva ovárica evaluada por medio de test de clomifeno, FSH el 3er. día del ciclo, hormona antimulleriana, volumen ovárico y cuenta folicular antral.

No existe una diferencia estadísticamente significativa en los valores de reserva ovárica evaluada por medio del test de clomifeno, la FSH el 3er. día del ciclo, volumen ovárico, cuenta folicular antral y hormona antimulleriana en pacientes sanas y pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune en tratamiento (eutiroideas).

### **Alternativa**

El hipotiroidismo autoinmune modifica los valores normales de reserva ovárica evaluada por medio de test de clomifeno, hormona antimulleriana, FSH al tercer día del ciclo, volumen ovárico y cuenta folicular antral.

Existe una diferencia estadísticamente significativa en los valores de reserva ovárica evaluada mediante test de clomifeno, FSH en el 3er. día del ciclo,

volumen ovárico, cuenta folicular antral y hormona antimulleriana en pacientes sanas y pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune en tratamiento (eutiroideas).

## **VIII. Objetivo**

### **General**

Comparar la reserva ovárica en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroideas versus pacientes control.

### **Específicos.**

1.- Captar pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroideas y pacientes controles que no tengan hipotiroidismo primario autoinmune.

2.- Comparar la reserva ovárica, por medio de los niveles de FSH en el día 3 del ciclo menstrual, en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroideas versus grupo control.

3.- Comparar la reserva ovárica, mediante el test de clomifeno en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroideas versus grupo control.

4.- Comparar la reserva ovárica, mediante ultrasonido vaginal para el conteo de folículos antrales (cuenta folicular antral) en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroides versus grupo control.

5.- Comparar la reserva ovárica, mediante ultrasonido vaginal obtener el volumen ovárico en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroides versus grupo control.

6.- Comparar la reserva ovárica, mediante el título de la AMH en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroides versus grupo control.

7.- Evaluar la conveniencia de incluir la concentración sérica de AMH como parte del protocolo de la pareja infértil que así lo requieran en el Centro Universitario de Medicina Reproductiva (CeUMER) del Hospital Universitario

8.- Adquirir el conocimiento del uso de la concentración de la AMH para evaluar la posibilidad de procreación en pacientes Mexicanas.

## **IX. Material y Métodos**

### **Material que se utilizó en:**

Hormona antimulleriana

Placas de microtitulación

Agua desionizada

Micropipetas (20 – 100  $\mu$ L)

Agitador de microplacas\*

Lavadora de microplacas\*

Vortex

Tubos Falcon

### **SUERO**

Anti-MIS/AMH Antibody Coated Microtitration strips:

MIS/AMH Standard A/Sample Diluent:

MIS/AMH Standard B-G:

MIS/AMH Controls

MIS/AMH Antibody-Biotin Conjugate:

Streptavidin-Enzyme Conjugate:

MIS/AMH Assay Buffer:

TMB Chromogen Solution:

Wash Concentrate I:

Stopping Solution A:

#### Preparación de reactivo

1. Solución de lavado: Diluir 10 veces la solución de concentrado de lavado I con agua desionizada. La solución de lavado es estable durante un mes a temperatura ambiente (25° C) cuando se almacena en un frasco herméticamente sellado.
2. Placas de microtitulación: seleccionar el número de pozos revestidos, necesarios para el ensayo. El resto de los pozos no utilizados deben ser colocados en la bolsa resellable con un desecante. La bolsa se debe volver a la protección de la humedad.

Cuenta folicular antral por ultrasonido vaginal con un Ultrasonido Voluson Expert 730, Alemania.

Determinación de anticuerpos antiperoxidasa para confirmar los casos de hipotiroidismo primario autoinmune.

Determinación de FSH en el 3er. y 10 día del ciclo, tomando 100 mgs de citrato de clomifeno del día 5 al 9 de ciclo.

## **Métodos**

Este trabajo de investigación fue autorizado por el comité de Ética e Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) con la clave GI07-020. En todo momento se siguieron los principios de la declaración de Helsinki.

Es un estudio prospectivo, longitudinal y comparativo, realizado de julio del 2007 a junio del 2008 en la Unidad de Biología de la Reproducción del departamento de Ginecología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en conjunto con el Servicio de Endocrinología.

### **Captación de pacientes**

Las pacientes fueron aquellas que asistieron a consultar al servicio de endocrinología. Estas fueron evaluadas inicialmente por el residente médico quienes al cumplir con los criterios diagnósticos de hipotiroidismo primario autoinmune, les fue confirmado con anticuerpos antiperoxidasa.

Posteriormente se refirieron con el residente de Biología de la Reproducción para explicar protocolo e invitarlas a participar en el mismo. Tras confirmar criterios de inclusión y exclusión una vez ingresadas, se citó al tercer día del ciclo menstrual para realizar ultrasonido transvaginal (Voluson Expert 730, Alemania) y medir la carga folicular antral y posteriormente se envió al laboratorio para la recolección de la muestra sanguínea.

Después de firmar el consentimiento informado se realizó la historia clínica completa de las pacientes, la cual contó con la edad, tiempo de padecer hipotiroidismo (fecha de primer diagnóstico), tiempo de tratamiento con hormonas tiroideas, índice de masa corporal, medición de carga folicular antral (CFA) y volumen ovárico vía USG TV en día 3 del ciclo menstrual.

Se formaron dos grupos: el grupo 1 pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune (HPA) que fueron seleccionadas en el Servicio de Endocrinología; con diagnóstico confirmado y además recibían terapia con hormonas tiroideas, por lo que al momento del estudio su estado era eutiroideo. El grupo 2 (control) se conformó con pacientes sanas.

Los criterios de inclusión fueron: edad 20 a 35 años con ciclos menstruales regulares, hipotiroidismo primario autoinmune (HPA) con

tratamiento sustitutivo de hormonas tiroideas y estado eutiroideo por medio de laboratorio y clínica además de aceptar el ingreso al estudio. El grupo control (sano) fue conformado por Ovodonadoras. En ambos grupos se eliminaban las pacientes que presentaban antecedentes de cirugía de ovario y cualquier tipo de cáncer que requirió de radio y quimioterapia.

El índice de masa corporal (IMC) se calculó a partir de la fórmula  $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Estatura (m}^2\text{)}$ , siendo empleado para clasificar a las pacientes en normopeso (IMC: 18,5-24,9), sobrepeso (IMC: 25-29,9), obesidad grado I (IMC: 30-34,9), obesidad grado II (IMC: 35-39,9) y obesidad grado III (IMC: > 40).

La determinación de AMH se realizó de la siguiente manera; de cada paciente se obtuvo una muestra sanguínea de 5mL de sangre no coagulada la cual se centrifugó a 3500 rpm para obtener el suero el cual fue dividido por partes iguales en alícuotas, etiquetadas y congeladas a -15°C hasta recolectar todas las muestras de las pacientes. Para la medición de AMH se utilizó el Kit (The ACTIVE Mullerian Inhibiting Substance/Anti-Mullerian (MIS/AMH) enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Usando los reactivos y calibradores sugeridos por el fabricante, (Diagnostic systems laboratories, INC. A Beckman Coulter Company). Los valores son

presentados como nanogramos por mililitro (factor de conversión para pmol/l  $\frac{1}{4}$  ng/ml \_ 7.1).

### **Procedimiento del ensayo**

Las muestras y los reactivos se descongelaron y alcanzaron la temperatura ambiente (25° C). Antes de su uso los reactivos se mezclaron completamente por inversión suave. Los estándares, los controles y las muestras se analizaron por duplicado. Todas las muestras sericas con lecturas superiores que el estándar más alto, se mezclaron completamente en el estándar A (0 ng/mL).

Se pipetearon 20  $\mu$ L de los estándares, los controles y de las muestras a los pozos apropiados. Posteriormente se adicionar 100  $\mu$ L de buffer de ensayo MIS/AMH a cada uno. Las placas se incubaron con agitación de 500 – 700 rpm en un agitador orbital de microplacas por una hora a temperatura ambiente (25° C).

La placa se lavo cinco veces por 30 segundos con la solución de lavado utilizando una lavadora automatica de microplacas y se seco por inversión sobre papel absorbente.

Se añadieron 100  $\mu$ L del anticuerpo-conjugado biotina solución a cada pocillo y se incubaron, agitando a 500-700 rpm en un agitador orbital microplaca, durante una hora a temperatura ambiente (25° C).

Las placas se lavaron cinco veces con la solución de lavado utilizando una microplaca lavadora automática. Posteriormente se secaron invirtiendo la placa sobre un material absorbente.

Se añadieron 100  $\mu$ L de la enzima estreptavidina conjugado a cada pocillo y se incubaron agitando a 500-700 rpm en un agitador orbital microplaca, por 30 minutos a temperatura ambiente (25° C).

Las placas se lavaron cinco veces con la solución de lavado utilizando una microplaca lavadora automática. Posteriormente se secaron invirtiendo la placa sobre un material absorbente.

Se añadieron 100  $\mu$ L de TMB solución cromogen a cada pocillo y se incubaron, agitando a 500-700 rpm en un agitador orbital microplaca, por 10-15 minutos a temperatura ambiente (25° C).

Se añadieron 100  $\mu$ L de la solución de detención a cada pocillo utilizando una pipeta de precisión y se determinó la absorbencia de la solución a 450 nm.

Test de clomifeno.

Se midió a las pacientes FSH el 3er. día del ciclo, posteriormente se les administró 100 mg de citrato de clomifeno en los días 5 al 9 y se les midió nuevamente FSH el día 10 del ciclo.

Carga folicular antral (CFA): promedio de folículos que se encuentran en los ovarios en día 3 del ciclo menstrual medidos por ultrasonografía transvaginal (USG TV) (Voluson Expert 730, sistema de ultrasonido general electric, Alemania).

Volumen ovárico (VO): promedio del tamaño de ambos ovarios medido en día 3 del ciclo menstrual por ultrasonografía transvaginal (USG TV).

Se realizó una comparación entre grupos mediante t no pareada, error alfa 0.05, error beta 0.8, mientras que para las variables dicotómicas se usaron las pruebas de X cuadrada / prueba exacta de Fisher según el caso apropiado

## Análisis estadístico

Cálculo de tamaño muestra:

Se trata de un estudio piloto para conocer la prevalencia estimada y en base a ello calcular el tamaño de muestra para un estudio longitudinal.

Se determinó la estadística descriptiva de ambos grupos.

Para la comparación de ambos grupos se utilizó la prueba t de student. Todos los análisis estadísticos se realizaron a 2 colas. Se estableció por convenio como estadísticamente significativo la presencia de un valor de  $p < 0.5$ .

## X. RESULTADOS

### Características de la población

Un total de 52 pacientes, quienes cumplieron los criterios establecidos en el presente trabajo y tras aceptar participar en el estudio firmaron carta de consentimiento informado. La identidad de las pacientes así como sus registros médicos permanecen protegidos. Su edad promedio fue de 26.98 años, siendo los 24 años la edad más frecuentemente observada, todo lo anterior con una dispersión de los datos con respecto al promedio de 4 años.

### Distribución poblacional por grupos

El 51.9% (n=27) de las pacientes tenían diagnóstico de hipotiroidismo (grupo de casos) mientras que el 48.1% (n=25) fueron pacientes sanas (grupo control) (gráfico1), y al analizar la regularidad en la menstruación de 92.3% de las pacientes refirieron esta característica (ver gráfico 12,13)

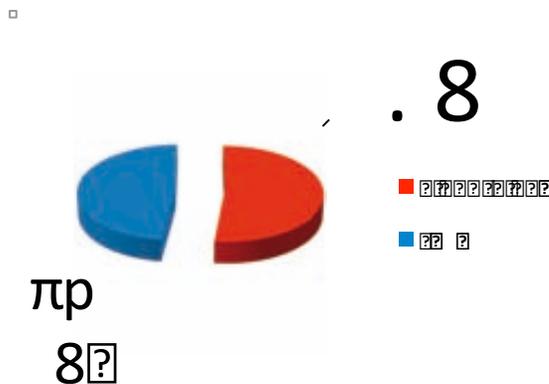


Gráfico 12. Distribución porcentual de la población según grupo.

### **Características descriptivas por grupos.**

Las pacientes controles (sin administración del medicamento, n= 25 pacientes) presentaron una edad promedio de 26.2 años. En el grupo de casos con hipotiroidismo, se observó una edad promedio de 27.7 años. La edad al diagnóstico de hipotiroidismo fue en promedio de 25.59 años. La dosis promedio Levotiroxina por día fue de 79.59 µg. El tiempo de tratamiento con hormonas tiroideas promedio observado fue de 27.04 meses siendo 12 el periodo más frecuentemente referido, con una variación de los datos de 28.02 con respecto al promedio.

### **Menstruación**

Las pacientes del grupo control refirieron en promedio un total de 4.27 días de menstruación, siendo 4 días el valor más frecuentemente referido y el valor máximo presente en el 50% de las pacientes, lo anterior con una dispersión de datos con respecto al promedio antes establecido de 1 día. Al analizar en las pacientes el período intermenstrual mínimo (PIM) observado se encontró en promedio un valor de 29 días, siendo los 28 el valor más frecuente en la base. El 50% de las pacientes presentaron valores mínimos iguales o inferiores a 29, lo anterior con una variación de los datos con respecto al promedio de 4. Por su parte el valor máximo (PIMa) observado mostró un promedio de 36 días, siendo los 32 el valor de mayor prevalencia

en los datos, este mismo dato fue el valor máximo observado en la mitad de las pacientes.

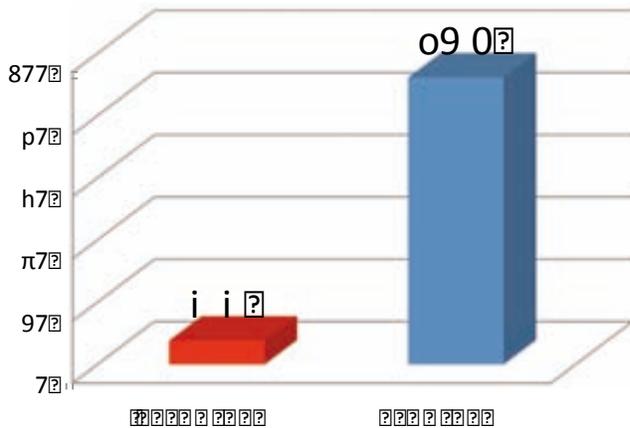


Gráfico 13.- Distribución de la población según tipo de periodo menstrual.

En el caso de las pacientes hipotiroideas estas pacientes menstrúan 4.59 días, observando un PIM mínimo y máximo promedio de 29.41 y 40.93. Por otro lado las pacientes control estas pacientes menstrúan en promedio un total de 3.92 días, observando en ellas un PIM mínimo promedio de 29.12 y máximo promedio de 31.44.

## Menstruación por grupos

Las pacientes hipotiroideas presentaron irregularidad en el 14.8% y las del grupo control mostraron una ausencia total de irregularidad (Gráfico 14).

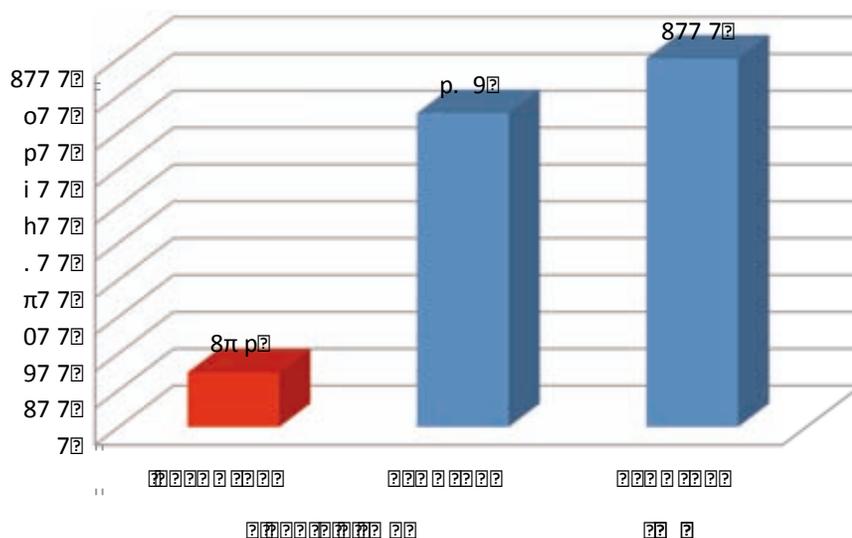


Gráfico 14.- Distribución porcentual de la población según grupo y tipo menstruación.

## Índice de masa corporal

Las pacientes mostraron un índice de masa corporal de 25.58 en promedio, siendo 23 el valor más frecuente, esto con una variabilidad de los datos con respecto al promedio de 5.539. Al clasificar el índice de masa corporal se observó que en su mayoría las pacientes ubicaban entre 20 a 25 (normal) (44. 2%) seguido de los grupos de 25 a 30 (sobrepeso), mayor de 30 (obesidad) y menos de 20 (bajo) con una prevalencia de 26. 9%, 17. 3% y

11.5% respectivamente. (Ver gráfico 15)

Los resultados de índice de masa corporal promedio en el grupo de pacientes hipotiroideas fueron de 27.2, el cual es indicativo de sobrepeso. En el caso de las pacientes control, el índice de masa corporal promedio fue de 23.84 el cual esta en el rango normal.

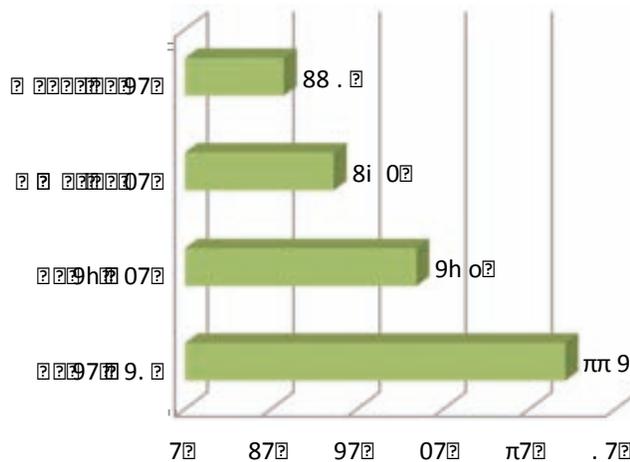


Gráfico 15.- Distribución porcentual de la población según IMC.

El grupo de pacientes hipotiroideas mostraron al categorizar el índice de masa corporal una mayor prevalencia entre los 20 y 25 (normal) (29.6%) seguido de 26 a 30 (sobrepeso) en el 25.9%, mayor de 30 (obesas) en el 33.3 y menos de 20 (bajo) en el restante 11.1. El grupo control por su parte mostró una mayor prevalencia de pacientes ubicadas entre 20 y 25 de índice de masa corporal normal (60%), seguido de 25 a 30 (obesas) y menos de 20 (bajo) en el 28% y 12% respectivamente (gráfico 16).

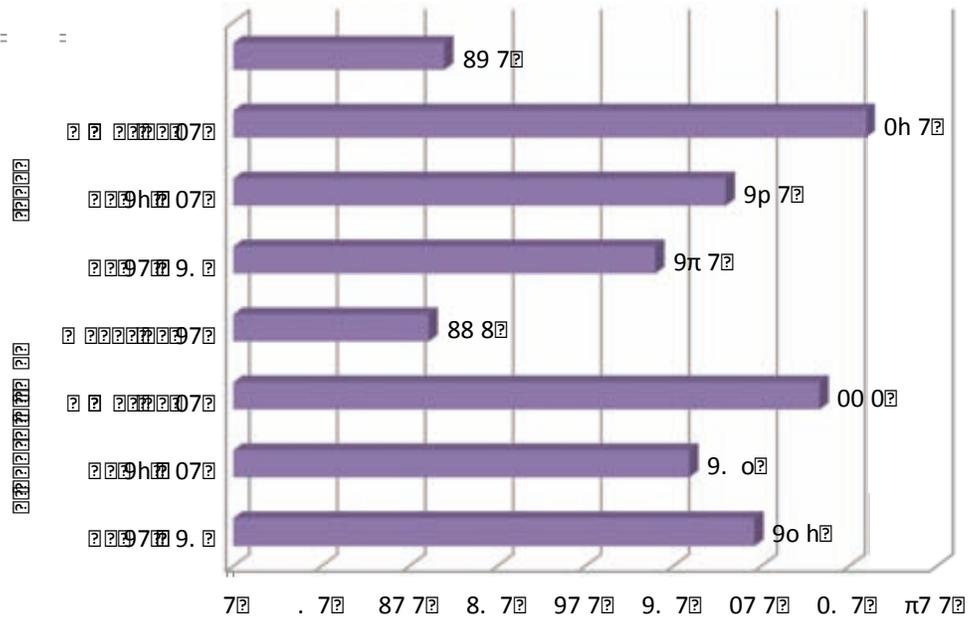


Gráfico 16.- Distribucion porcentual de la población por grupo e IMC.

### Contaje de folículos antrales

El promedio de folículos para el grupo de pacientes fue de 7.09 con una variación de 2.18 mientras que para el grupo control fue de 7.98 con una variación de 1.16 (tabla 1). Cuando se evaluó el número de folículos en ambos grupos, según el ovario estudiado, se observó que el izquierdo presentaba un promedio de 7.33 folículos, siendo 7 folículos el número de folículos más frecuentemente referido en este ovario, con una variación de los datos con respecto al promedio antes mencionado de 1.904. El ovario

derecho por su parte mostró un promedio de 7.73 folículos, siendo 8 el valor mayormente observado en las pacientes, esto con una variación de los datos con respecto al promedio de 2. 219 folículos.

Las pacientes con hipotiroidismo mostraron, en promedio, un número de folículos en el ovario izquierdo de 6.62 y en el derecho de 7.58 mientras que las pacientes control mostraron, en promedio, un número de folículos en el ovario izquierdo de 8.08 y en el derecho de 7.88.

En la tabla 2 se muestran los resultados del conteo de folículos antrales. Las pacientes con hipotiroidismo primario tuvieron una CFA promedio de 14.5 mientras que en las pacientes control, la media fue de 16. No hubo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

### **Volumen ovárico**

Los resultados del volumen ovárico se presentan en la tabla 1. En el grupo de pacientes se observó un volumen ovárico promedio de 8.16 con una variación de 3.39. En el caso del grupo control se observó una media de 8.99 con una variación de 0.77. Al analizar el volumen según el ovario estudiado del total de pacientes (controles y casos) se observó que el izquierdo presenta un valor promedio de 8.574, siendo 9.1 el volumen mayormente referido a las pacientes, esto con una variación de los datos con respecto al promedio de 2.74. El ovario derecho presentó un volumen de 8.9

como media, siendo 9. 1 (al igual que el anterior ovario) el volumen más frecuente en la base, lo anterior con una variación de los datos con respecto al promedio de 2.58.

En el caso de las pacientes con hipotiroidismo, el volumen ovárico izquierdo promedio fue de 8.3 y derecho de 8.68 (tabla 1) y para el grupo de pacientes control, el volumen promedio en el ovario izquierdo fue de 8. 875 y en el derecho de 9. 12 .

Tabla 1. Promedio y desviación estándar de las variables por grupo.

<b>Variables</b>	<b>Casos (n=27)</b>	<b>Controles (n=25)</b>
Edad	27.70±4.71	26.2±3.02
Día/menstruación	4.59±1.15	3.92±0.702
PIM mínimo	29±5.13	29±1.05
PIM máximo	41±29.73	31.44±1.95
IMC	27.2±6.69	23.84±3.23
Promedio folículos	7.09±2.18	7.98±1.16
Promedio volumen	8.16±3.39	8.99±0.717

Tabla 2: Descripción de CFA (contaje de folículos antrales).

<b>Variable</b>	<b>Hipotiroidismo primario autoinmune</b>	<b>Controles</b>	
<b>CFA</b>	14.5	16.0	p= 0 .726

### **Determinación de Hormona Antimulleriana**

En el grupo control el valor más bajo detectable de la AMH fue 0.5ng/ml y el más alto fue de 7.34ng/ml teniendo una media de 2.77 esto con una variación de los datos con respecto al promedio de 2.50. En las pacientes con Hipotiroidismo primario autoinmune el nivel más bajo detectado fue 0.5ng/ml y el más alto de 10.0ng/ml teniendo una media de 2.42 esto con una variación de los datos con respecto al promedio de 1.86, sin tener diferencia estadísticamente significativa (p=853). Tabla 3.

Tabla 3: Descripción de valores de AMH (Hormona Antimulleriana).

<b>Hormona Antimulleriana</b>		
<b>Pacientes hipotiroidismo primario autoinmune</b>	<b>Controles</b>	<b>P</b>
2.42	2.77	<b>0.853</b>

## Prueba de citrato de clomifeno

Los resultados de la prueba de citrato de clomifeno se presentan en la Tabla 4. En el grupo de pacientes se observó una FSH basal (día 3) promedio de 4.5 UI/ml, con una variación de 2.59 UI/ml y una FSH posterior a la administración del citrato de clomifeno (día 10), de 6.34 UI/ml con una variación de 1.27 UI/ml. En el caso del grupo control, la media observada de la FSH en el día 3 fue de 4.37 UI/ml, con una variación de 1.96 UI/ml, mientras que la media de la FSH realizada en el día de 10, fue de 5.97 UI/ml, con una variación de 2.18 UI/ml, sin tener una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, en ambos valores de FSH.

Tabla 4. Valores de FSH en la Prueba de citrato de clomifeno.

Niveles de FSH	Casos (n=27)	Controles (n= 25)	Valor de p
Basal (día 3)	4.78 ± 2.59	4.37± 1.96	> 0.05
Posterior a citrato de clomifeno (día 10)	6.34 ± 1.27	5.97 ± 2.18	> 0.05

Al comparar todas las variables de edad, días menstruación, periodo intermenstrual mínimo (PIM) y máximo (PIMa), índice de masa corporal (IMC), carga folicular antral (CFA) y volumen ovárico (VO) según grupo se observó mediante prueba de hipótesis para medias en el caso de las variables cuantitativas se establecieron diferencias estadísticamente significativas en el promedio de días de menstruación, índice de masa corporal y número de folículos en el ovario izquierdo. En el caso de las variables cualitativas se observó diferencia en la categorización de índice de masa corporal esto mediante la prueba de hipótesis para proporciones. En ambas pruebas se consideró un intervalo de confianza del 95% (tabla 5).

Tabla 5.- Variables en las cuales se encontró diferencia significativa

Variable	Grupo		Valor p	Análisis
	Eutirox	sana		
	Promedio	Promedio		
promedio días menstrua	<b>4.59</b>	3.92	0.0154	El promedio del 1er grupo estadísticamente mayor
IMC	<b>27.201</b>	23.84	0.0272	El promedio del 1er grupo estadísticamente mayor
numero folículos OI	6.62	<b>8.08</b>	0.0048	El promedio del 2do grupo estadísticamente mayor

n= 52 / Fuente.- Instrumento estandarizado

## XI. DISCUSIÓN

A pesar de que la esterilidad no representa una amenaza para la vida, tiene consecuencias psico-sociales para las parejas que la padecen. Este trastorno continúa siendo un problema a nivel mundial pues su manejo ha sido y continua siendo una difícil tarea medica. La identificación de parejas con amplias posibilidades de éxito en tratamientos con Técnicas de Reproducción Asistida requiere de una reserva ovárica adecuada. Diversos factores pueden acelerar la disminución de dicha reserva pero hay otros que no se ha demostrado plenamente su asociación como lo es el hipotiroidismo primario autoinmune. En este trabajo se buscó la asociación del hipotiroidismo primario autoinmune con la reserva ovárica disminuida, utilizando para la evaluación las pruebas de uso rutinario en el Hospital universitario. Así mismo se evaluó la utilidad de la hormona antimulleriana como marcador de reserva ovárica.

La reserva ovárica (RO) es la cantidad y calidad de folículos que se encuentran en el ovario humano y su disminución se relaciona con la edad y la capacidad reproductiva. Para su estudio se han desarrollado en las últimas décadas varias formas de medición, dividiéndose en tres grupos. El primero que representa la mayoría mide niveles séricos hormonales en fase folicular temprana, tal como hormona folículo estimulante (FSH), estradiol (E2) e

inhibina B. Recientemente la hormona antimulleriana (AMH) se ha agregado a este grupo como un marcador que promete superar los resultados de los otros métodos. Existe un segundo grupo que abarca estudios dinámicos de respuesta ovárica a estímulos exógenos. Ejemplo de éstos son la prueba de citrato de clomifeno (PCC), FSH exógena y la prueba de estimulación con agonistas de GnRH. Un tercer grupo de pruebas de reserva ovárica consiste en la medición de parámetros ultrasonográficos como la carga folicular antral (CFA), volumen y flujos ováricos.

El hipotiroidismo es una alteración de la glándula tiroides donde los niveles de hormonas tiroideas son menores a los valores normales. Se ha estimado que del 5% a 10% de la población general es hipotiroidea, por lo que no es raro ver este trastorno en la práctica médica. Existen múltiples estudios que relacionan las patologías tiroideas autoinmunes con infertilidad y disminución de la reserva ovárica, señalando particularmente al hipotiroidismo primario, como una patología que probablemente disminuye la reserva ovárica, e incide muy frecuente en pacientes con infertilidad.

No existen estudios de reserva ovárica en este grupo tan especial de pacientes por cualquiera de las técnicas que existen para determinarla. Señalado lo anterior, este nuevo estudio es de gran relevancia para la adquisición de conocimientos clínicos sobre la evaluación de la reserva ovárica usando la medición de carga folicular antral (CFA) y volumen ovárico

(VO) por ultrasonido en pacientes con hipotiroidismo primario y deseo de embarazo.

En este estudio se formaron dos grupos de pacientes, en donde el grupo 1 estuvo formado con pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo (confirmado con anticuerpos antiperoxidasa) pero en estado eutiroideo, mientras que el grupo 2 fue formado por pacientes sanas. En ambos grupos se estudió la edad, ciclo menstrual (PIM y PIMa), días de menstruación, IMC y reserva ovárica evaluada mediante CFA y VO. Al realizar la comparación entre ambos grupos no se estableció diferencia significativa en cuanto a edad, PIM, PIMa, promedio de CFA y VO.

En el caso de la menstruación, los resultados mostraron que hay una diferencia estadísticamente significativa en los grupos estudiados con respecto al promedio de días de menstruación. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores. El impacto que tiene el hipotiroidismo en el ciclo menstrual se ha identificado desde 1950 y tiene como consecuencias cambios en la duración del ciclo y flujo sanguíneo. Joshi et al (1993) al encontrar que el 68 % de 22 mujeres presentaban anomalías menstruales comparado con 12 % en 49 mujeres control. En el estudio de Krassas et al (1999), la prevalencia de irregularidades menstruales fueron de 23 % entre 171 pacientes hipotiroideas, mientras que

solo el 8 % en 214 mujeres control ( $P < 0.05$ ). También 12 % de las mujeres presentaron amenorrea en el grupo con hipotiroidismo y ninguno entre los controles.

Uno de los factores que influyen en la salud de las personas es el peso corporal. La obesidad se ha vuelto una condición epidémica en países desarrollados y múltiples estudios han asociado la obesidad con un incremento en el riesgo de hipertensión, diabetes, hiperlipidemias, apnea del sueño, cardiopatía coronaria y apoplejías. Como consecuencia el incremento en las tasas de obesidad en los países desarrollados puede llevar a una disminución en las expectativas de vida.

En este contexto es importante destacar que la disfunción tiroidea se ha reconocido como un factor que modifica el peso corporal. La pérdida de peso es una manifestación frecuente del hipertiroidismo y los pacientes hipertiroideos que se tratan adecuadamente aumentan aproximadamente 4 Kg por año. Por otro lado, la ganancia de peso es una molestia común en pacientes con hipotiroidismo y el tratamiento de reposición hormonal se asocia con una modesta disminución de peso.

En este estudio se determino el índice de masa corporal y se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, siendo las

pacientes con hipotiroidismo las que presentaron IMC superiores al del grupo control. Estos resultados dan soporte a los hallazgos de otros autores al proporcionar evidencia de que la función tiroidea puede influir en el IMC y viceversa. Actualmente no hay estudios en la población mexicana donde se busque el grado de asociación entre los valores de las hormonas tiroideas y TSH con el IMC.

Existen estudios recientes que trataron de relacionar el índice de masa de corporal (IMC) con la reserva ovárica y específicamente con carga folicular antral sin demostrar hasta ahora una disminución de la misma, encontrando que el promedio de folículos es 7.6 para mujeres con peso normal y 6.3 para mujeres obesas ( $p \leq 0.35$ ), además de no existir diferencia en relación a volumen ovárico.

Aún cuando los resultados en este estudio muestran diferencia significativa en relación al IMC entre los grupos (casos = 27 vs controles = 24) respectivamente, se confirmó lo publicado por otros autores, ya que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el volumen ovárico, la carga folicular antral y el índice de masa corporal.

La concentración de AMH en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroideas fue de 2.42ng/ml, la FSH en el día 3 de 4.78 UI/ml y

en el día 10 posterior a la administración de citrato de clomifeno de 6.34, y la CFA de 14.5 folículos en promedio considerando ambos ovarios. En el presente estudio no fue posible establecer una diferencia estadística significativa de los valores séricos de FSH medida en el día 3 del ciclo, ni tampoco medida en el día 10 realizando la prueba de citrato de clomifeno, así como de los valores de los valores séricos de AMH entre los grupos de pacientes sanas y con hipotiroidismo primario autoinmune controlado.

Aunque en un inicio del estudio se sospechaba que las pacientes con esta patología pudieran haber perdido parte de su reserva ovárica, debido a la naturaleza autoinmune de la misma, pero en base a los resultados parece que esto no ocurrió.

A pesar de que la cuenta folicular antral es uno de los métodos mas utilizados para evaluar la reserva ovárica, este genera mucha incomodidad en las pacientes y sus resultados son dependientes de la habilidad del operador. La AMH al ser independiente de estos factores la convierte en una opción adecuada para ser utilizada en el Centro Universitario de Medicina Reproductiva del servicio de Ginecología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González UANL.

La determinación de AMH ha demostrado una fuerte correlación con la función ovárica principalmente por la no variabilidad intra o interciclo y no ser FSH-dependiente, lo que permite hacer un diagnóstico a etapas más tempranas de la vida reproductiva a diferencia de la CFA y la determinación de FSH en fase folicular temprana, o la prueba de citrato de clomifeno. Los niveles séricos de AMH tienen una fuerte correlación con AFC, el número de folículos, la edad, inhibina B y FSH. De hecho se ha reportado que la medición de AMH tiene mayor valor pronóstico que los otros marcadores descritos.

El beneficio de realizar un amplio estudio de la función endócrina y autoanticuerpos en la ausencia de síntomas clínicos permanece cuestionable debido a la muy baja frecuencia de las enfermedades autoinmunes, exceptuando a las enfermedades tiroideas y diabetes mellitus. (Forges, 2004). Desafortunadamente los estudios actuales no son suficientemente sensibles para determinar el caso de fallo ovárico, aunque previamente se había sugerido implementar un marcador autoinmune que pudiera predecir la falla ovárica prematura inminente (Conway, 2000), lo que aún sigue en estudio.

La medición de CFA (folículos de 2 a 10 mm) y volumen ovárico (VO) ha sido estudiado en diferentes poblaciones, sanas, obesas, infértiles, pacientes que se realizan Fertilización In vitro, pobres respondedoras, ovuladoras en

ciclo natural en diferentes edades y en pacientes con patologías que afectan la reserva ovárica demostrando sobre todo que la CFA es un excelente marcador de reserva ovárica.

La literatura señala que en mujeres menores de 30 años el volumen ovárico promedio es de  $6.6\text{cm}^3$  y el número de folículos antrales en mujeres con fertilidad comprobada varía de 7 a 22 en la misma edad y algunos autores señalan que un número de 5 folículos en promedio se considera reserva ovárica normal.

Los resultados en este estudio muestran una edad promedio de  $27.7 \pm 4.71$ , una carga folicular antral y un volumen ovárico promedio de  $7.09 \pm 2.18$  y  $8.16 \pm 3.39 \text{ cm}^3$  respectivamente, lo que indica que no existe diferencia significativa con relación al grupo control. Esto corresponde con lo anteriormente referido por otros autores.

Finalmente, con los resultados del análisis previo es posible considerar que en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune no existe afectación de la reserva ovárica al medirla usando los parámetros de carga folicular antral y volumen ovárico. Sin embargo, es preponderante considerar que existe un grupo de folículos preantrales activos bioquímicamente, que aunque no son visualizados por ultrasonido, tienen actividad bioquímica independiente de la FSH lo que significa que producen hormonas, entre ellas

la AMH, que es considerada el marcador bioquímico de mayor sensibilidad y especificidad para determinar la reserva ovárica. Por lo tanto, sería relevante estudiar el comportamiento sérico de la AMH y su correlación con el volumen ovárico y carga folicular antral en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune que se encuentran en etapa de hipotiroidismo, previo a su tratamiento por endocrinología.

## **XII. CONCLUSIONES**

Las pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune forman un grupo especial que ha sido poco estudiado aún y cuando representa un porcentaje importante de la consulta de la biología reproductiva. La atención médica prácticamente se limita a la confirmación del diagnóstico y administración de terapia de reemplazo con hormonas tiroideas.

Este estudio representa el primer análisis que consideró la reserva folicular antral y el volumen ovárico como parámetros para medir reserva ovárica en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune, controladas con levotiroxina.

Los resultados de este estudio denotan que la reserva ovárica se encuentra conservada en pacientes hipotiroideas controladas (eutiroideas), lo que mejora su pronóstico reproductivo en comparación con pacientes con escaso o nulo control endocrinológico.

Aunque el ovario izquierdo de pacientes eutiroideas tenía una carga folicular antral menor que el grupo de pacientes sanas, se demostró que este

hecho no tiene relevancia clínica debido a que la reserva ovárica es igual al promedio de folículos en ambos ovarios

La carga folicular antral sigue siendo hasta el momento la mejor forma de medir la reserva ovárica aún en una población como la analizada en este caso.

Tomando en cuenta los resultados de este análisis, los resultados de la prueba de citrato de clomifeno no muestran diferencias estadísticamente significativas ni en los estudios realizados en el día 3, ni en las unidades de FSH obtenidas en el día 10 posterior a la administración del citrato de clomifeno entre ambos grupos estudiados, por lo que tampoco se puede asumir por medio de esta prueba, una disminución de la reserva ovárica en las pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroides.

En base a los resultados del estudio, el título de la hormona antimülleriana en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune eutiroides no muestra diferencia con respecto a las pacientes del grupo control.

La evaluación de la AMH en pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune con adecuada terapia de sustitución hormonal, no presentan una reserva ovárica menor a la del grupo control.

Es conveniente iniciar la inclusión de la AMH como parte del protocolo de estudio de la pareja infértil.

El objetivo principal del presente estudio fue determinar el deterioro ovárico mediante pruebas de reserva ovárica como la concentración de AMH en las pacientes con alteraciones tiroideas, específicamente hipotiroidismo autoinmune controlado, ya que el conocimiento de este hecho podría llevar a decisiones estratégicamente muy importantes a las pacientes, que conllevan planificación familiar o incluso considerar intervenciones que pudieran mejorar la fertilidad. Es por todo esto que la determinación de la concentración de AMH como predictor temprano del envejecimiento ovárico podría volverse necesaria y tener un gran sentido a futuro (Lambalk,2009).

En el presente estudio no fue posible establecer una diferencia estadística de los valores séricos de AMH entre los grupos de pacientes sanas y con hipotiroidismo primario autoinmune controlado. Aunque en un inicio del estudio se sospechaba que las pacientes con esta patología pudieran haber perdido parte de su reserva ovárica, debido a la naturaleza autoinmune de la misma, en base a los resultados es posible afirmar que esto no ocurrió. En un reciente estudio (Tsigkou y cols, 2008), se evaluó la fisiopatología del daño ovárico en pacientes con ooforitis autoinmune e

idiopática mediante determinación de la inhibina, que es producida y liberada por las células de la granulosa, al igual que la AMH. Estos investigadores demostraron un aumento en la concentración de inhibina en pacientes con daño autoinmune a diferencia de aquellas con daño idiopático, atribuible aparentemente a la destrucción selectiva de las células de la teca con preservación inicial de la función de las células de la granulosa, basados en los estudios previamente descritos por Hoek en 1997. Presumiblemente, la preservación inicial de las células de la granulosa en el proceso autoinmune pudiera permitir la conservación de la concentración de AMH.

Con la intención de dilucidar si las pacientes con hipotiroidismo primario autoinmune sufren pérdida de su reserva ovárica, pero ésta se restablece al alcanzar el estado eutiroideo, se planea iniciar un estudio consecutivo donde se incluyan pacientes hipotiroideas con reciente diagnóstico, aún sin tratamiento a quienes se tomará una muestra y posteriormente al alcanzar la estabilidad metabólica, para compararlas con las pacientes sanas y eutiroideas, posteriormente a tratamiento.

### **XIII. BIBLIOGRAFÍA**

- 1.- Glosario de terminología en Técnicas de Reproducción Asistida (TRA). Versión revisada y preparada por el International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Traducido y Publicado por la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida em 2010 © Organización Mundial de la Salud 2010.
- 2.- Sudhansu K. Dey How we are born. The Journal of Clinical Investigation. 2010. 120 (4):952-55
- 3.- World Health Organization. Current Practice and controversies in assisted reproduction. Geneva: World Health Organization ; 2002.
- 4.- Remah M Kamel. Management of the infertile couple: an evidence based Protocol. Reproductive Biology and Endocrinology 2010, 8:21
- 5.- Collins JA. Unexplained Infertility. In: Keye WR, Chang RJ, Rebar RW, Soules MR. Infertility: evaluation and treatment. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995;pp:249-62.
- 6.- Bradley J. Van Voorhis, M.D. In Vitro Fertilization. N Engl J Med 2007;356:379-86.

7.- P. Devroey, B.C.J.M. Fauser, K. Diedrich. Approaches to improve the diagnosis and management of infertility Human Reproduction Update, 2009, 15(4): 391–408,

8.- Alexander Quaas, Anuja Dokras. Diagnosis and Treatment of Unexplained Infertility. REVIEWS IN OBSTETRICS & GYNECOLOGY 2008. 1(2): 69 -76

9.- A. Carby, G. Trew. Infertility Causes and diagnosis. Hospital Pharmacist. 2004. 11: 311-314.

10.- Canis, N, Dones, JG, Guzick, et al. Revised American Society for American Society for Reproductive Medicine Classification of Endometriosis: 1996. Fertil Steril; 67:817.

11.- Hughes E, Fedorkow D, Collins J, Vandekerckhove P. Ovulation supresión for endometriosis. Cochrane Database Syst Rev 2003; (3): CD000155.

12.- Bulun, SE. Endometriosis. N Eng J Med 2009; 360:268.

13.- Jacobson TZ, Barlow DH, Koninckx PR, Olive D, Farquhar C. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. Cochrane Database Syst Rev 2002; (4): CD001398.

14.- Marcoux S, Meaux R, Berube S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. N Engl J Med 1997; 337:217-22.

15.- Guzick DS, Silliman NP, Adamson GD, Buttram VCJ, Canis M, Malinas LR, et al. Prediction of pregnancy in infertile women based on the American Society for Reproductive Medicine revised classification of endometriosis. Fertil Steril 1997;67: 822-9.

16.- Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O, Yano T, Maruyama M, Kugu K, et al. Role of laparoscopy in the treatment of endometriosis-associated infertility. Gynecol Obstet Invest 2002;53(Suppl 1): 33-9.

17.- Adamson GD, Hurd SJ, Pasta DJ, Rodríguez BD. Laparoscopic endometriosis treatment: is it better? Fertil Steril 1993;59:35-44.

18.- Nacional Institute for Health and Clinical Excellence. Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. London: NICE; 2004.

19.- Fedde L, Bianchi S, Marchini M, Villa L, Brioschi D, Parazzini F. Superovulation with human menopausal gonadotropins in the treatment of

infertility associated with minimal or mild endometriosis: a controlled randomized study. *Fertil Steril*. 1992;58:28- 31.

20.- Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in Vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002;77:1148 – 55.

21.- Kennedy, S, Bergqvist, A, Chapron, C, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005; 20:2698.

22.- Verkauf BS. Myomectomy for fertility enhancement and preservation. *Fertil Steril* 1992;58:1–15.

23.- Dicker RC, Greenspan JR, Strauss LT, Cowart MR, Scally MJ, Peterson HB, et al. Complications of abdominal and vaginal hysterectomy among women of reproductive age in the United States. The Collaborative Review of Sterilization. *Am J Obstet Gynecol* 1982;144: 841–8.

24.- Dixon D, Parrott EC, Segars JH, Olden K, PinnVW. The second National Institutes of Health International Congress on advances in uterine leiomyoma research: conference summary and future recommendations. *Fertil Steril* 2006;86:800–6.

25.- American Society for Reproductive Medicine. “Myomas and reproductive function”, *Fertil Steril* 2008;90:S125 – 30.

26.- Klatsky PC, Tran ND, Caughey AB, Fujimoto VY. Fibroids and reproductive outcomes: a systematic literature review from conception to delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:357–66.

27.- Buttram VC Jr, Reiter RC. Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology, and management. *Fertil Steril* 1981;36:433–5.

28.- Olive DL, Lindheim SR, Pritts EA. Non-surgical management of leiomyoma: impact of fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004;16:239–43.

29.- Tulandi T, Murray C, Guralnick M. Adhesion formation and reproductive outcome after myomectomy and second-look laparoscopy. *Obstet Gynecol* 1993;82:213–5.

30.- Mais V, Ajossa S, Guerriero S, Mascia M, Solla E, Melis GB. Laparoscopic versus abdominal myomectomy: a prospective, randomized trial to evaluate benefits in early outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174: 654–8.

31.- Seracchioli R, Rossi S, Govoni F, Rossi E, Venturoli S, Bulletti C, et al. Fertility and obstetric outcome after laparoscopic myomectomy of large myomata: a randomized comparison with abdominal myomectomy. *Hum Reprod* 2000;15:2663–8.

32.- Somigliana E, Vercellini P, Daguati R, Pasin R, De Giorgi O, Crosignani PG. Fibroids and female reproduction: a critical analysis of the evidence. Hum Reprod Update 2007;13:465–76.

33.- Pritss, et al. Fibroids and infertility: an unupdate systematic review of the evidence, Fertility and Sterility\_ Vol. 91, No. 4, April 2009.

34.- American College of Obstetricians and Gynecologist. Antibiotics and Gynecologic Infections. Washington, DC: ACOG; 1997. Technical Bulletin 237.

35.- Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 1998;70:492 9.

36.- Camus E, Poncelet C, Goffinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand I, et al. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta analysis of published comparative studies. Hum Reprod 1999; 14:1243-9.

37.- American Society for Reproductive Medicine. "Salpingectomy for hydrosalpinges before in vitro fertilization increases the success rate." Fertil Steril 2008;90:S66-8. 2008 by.

38.- Mukherjee T, Copperman AB, McCaffrey C, Cook CA, Bustillo M, Obasaju MF. Hydrosalpinx fluid has embryotoxic effects on murine embryogenesis: a case for prophylactic salpingectomy. Fertil Steril 1996;66:851-3.

39.- Johnson NP, Merrilees M, Sadler L. IVF and tubal pathology - not all bad news. Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology 2003;42:285-8.

40.- Homan GF, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: a review. Hum Reprod Update 2007;13:209-23.

41.- Jick H, Porter J, Morrison AS. Relation between smoking and age of natural menopause. Lancet 1972;1354-5.

42.-. Ricardo Romero Ramos, Gustavo Romero Gutiérrez, Ignacio Abortes Monroy, Héctor Gerardo Medina Sánchez. Factores de riesgo asociados con infertilidad femenina. Ginecol Obstet Mex 2008;76(12):717-21.

43.- Maroulis GB, effect of aging on fertility and pregnancy, Seminars Reprod Endocrinol 9:165.1991.

44.- Broekman, FJ, J.Kwee, DJ Hendricks, BW Mol and CB Lambalk. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Human Reproduction Update 2006;6:685-718.

44.- Neri Laufer, Alex Simon,,Successful spontaneous pregnancies in women older than 45 years; fertil Steril vol. 81;NO.5, may 2004

45.- Ilse A. J. van Rooij,a La' szlo' F. J. M. M. Bancsi, Women older than 40 years of age and those with elevated follicle-stimulating hormone levels differ in poor response rate and embryo quality in in vitro fertilization, Fertil steril; Vol.79 No.3, march 2003

46.- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM),Aging and infertility in women: a committee opinion, Fertil Steril, Vol.78, No.1, july 2002.

47.- Kasper, Braunwald, Fauci. Harrison Principios de medicina Interna. 16 edición Mc Graw Hill

48.- H. Irene Su, Mary D. Sammel, Ellen W. Freeman. Body size affects measures of ovarian reserve in late reproductive age women. *Menopause*. 2008 ; 15(5): 857.

49.- Kurt Martinuzzi & Sarah Ryan & Martha Luna. Elevated body mass index (BMI) does not adversely affect in vitro fertilization outcome in young women *J Assist Reprod Genet* (2008) 25:169–175.

50.- A. Maheshwari, Lawrize Stofberg, S.Bhattarchaya. Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology-a systematic review. *Hum Reprod Update* (2007)13;5:433-444

50.- A.Kinney J.Kline<sup>3</sup>, A.Kelly, M.L.Reuss B.Levin. Smoking, alcohol and caffeine in relation to ovarian age during the reproductive years. *Human Reproduction* Vol.22, No.4 pp. 1175–1185, 2007.

51.- F.J.Broekmans, J.Kwee, D.J.Hendriks, B.W.Mol C.B.Lambalk.. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update*, Vol.12, No.6 pp. 685–718, 2006.

52.- Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 1987;2:645–7.

53.- Apollo Meskhi, and Mourad W. Seif, Premature ovarian failure. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology 2006, 18:418–426

54.-Schwartz D, Mayaux MJ. Female fecundity as a function of age: results of artificial insemination in 2,193 nulliparous women with azoospermic husbands. N Engl J Med 1982;306:404–6

55.- Tarun Jain, M.D., Michael R. Soules, M.D. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. Fertil Steril 2004;82:180-185.

56.- Leon Speroff, Marc A. Fritz. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 7a.Edition. Philadelphia 2007 pp 1020.

57.- Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. J Clin Endocrinol Metab 1987;65:1231–7.

58.- Navot D, Bergh PA, Williams MA, Garrissi GJ, Guzman I, Sandler B, et al. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. Lancet 1991;337:1375–7.

59.- Ilse A. J. van Rooij, Ph.D. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005;83:979-987.

60. Jacobson D.L. <http://www.ingentaconnect.com/content/ap/ii/1997/00000084/00000003/art04412> - aff\_1#aff\_1 Gange S.J. Epidemiology and Estimated Population Burden of Selected Autoimmune Diseases in the United States. *Clinical immunology and immunopathology*, Volume 84, number 3, September 1997, PP223-243(21).

61.- Wang C, Crapo LM, The epidemiology of thyroid disease and implications for screening. *Endocrinol Metab Clin North Am*.1997 Mar;26(1):189-218.

62.- Poppe K, Glinoeer D, Tournaye H, Devroey P, Schiettecatte J, Haentjens P, Velkeniers B. Thyroid autoimmunity an female infertility. *Verh K Acad Geneeskdg Belg*. 2006;68(5-6):357-77.

63.- Kris Poppe and Daniel Glinoeer, Thyroid autoimmunity and hypothyroidism before and during pregnancy, *Human Reproduction Update*, Vol.9, No.2 pp. 149±161, 2003.

64.- Helen Buckler, Thyroid disease and ovarian failure, *Menopause International* Vol. 13 No. 4 December 2007.

65.- John H. Lazarus, Aspects of Treatment of Subclinical Hypothyroidism, Thyroid Volume 17, Number 4, 2007

66.- M.Bals-Pratsch, Episodic variations of prolactin, thyroid-stimulating hormone, luteinizing hormone, melatonin and cortisol in infertile women with subclinical hypothyroidism, Human Reproduction vol.12 no.5 pp.896–904, 1997

67.- S. Yen, Jaffe, R. Barbieri, Reproductive endocrinology. 4ta edición, W.B. Saunders Company EUA 1999.

68.- Wallace WH. and Kelsey T. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. Human Reprod. Advance Access published June 17, 2004

69.- ACOG practice bulletin. Management of infertility caused by ovulatory dysfunction. Clinical Management guidelines for obstetrician-gynecologist, No. 34, February 2002.

70.- Kin, Anasti JN, Flack f, Kimzey LM, Defensor RA, Nelson LM. Routine endocrine screening for patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. May 1997, vol. 89, no.5, part 1 pp 777-779

71.- Nikolaou D, Templeton A. Early—Ovarian again: a hypothesis detection and clinical relevance. *Human Reprod.* 2003 JUN; 18(6): 1137- 9.

72.- Santoro N. Mechanisms of premature ovarian failure. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2003 Apr; 64 (2):8792

73.- D.J.Hendriks, F.J.M.Broekmans. Repeated clomiphene citrate challenge testing in the prediction of outcome in IVF: a comparison with basal markers for ovarian reserve. *Hum Reprod* . 20, No.1: 163–169, 2005.

74.- Ernest Hung Yu Ng, Carina Chi Wai Chan, Antral follicle count and FSH concentration after clomiphene citrate challenge test in the prediction of ovarian response during IVF treatment, *Human Reprod*, 20, No.6 :1647–1654, 2005.

75.- G.Méduri, N.Massi. Serum anti-Müllerian hormone expression in women with premature ovarian failure, *Human Reprod.* 22, No.1 pp. 117–123, 2007

76.- Cem Fişcioglu, Tayfun Kutlu, Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2006;85:592-596.

77.- De Vet A, Laven JSE, De Jong FH et al. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian ageing. *Fertil Steril* 2002;77:357–362

78.- Fanchin R, Schonauer LM, Righini C 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.

79.- Van Rooij IAJ, Broekmans FJM, Scheffer GJ et al. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. Fertil Steril 2005;83:979–987

80.- C. Gnoth, A.N. Schuring, K. Friol<sup>1</sup>, J. Tigges, P. Mallmann and E. Godehardt, Relevance of anti-Müllerian hormone Measurement in a routine IVF program, Human Reproduction pp. 1–7,2008

81.- Syrop, C.H., Willhoite, A. and Van Voorhis, B.J. (1995) Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction. Fertil. Steril., 64, 1167±1171.

82.- Syrop, C.H., Dawson, J.D., Husman, K.J., Sparks, A.E. and Van Voorhis, B.J. (1999) Ovarian volume may predict assisted reproductive outcome better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. Hum. Reprod., 14,1752±1756.

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

84.- Tomas, C., Nuojua-Huttunen, S. and Martikainen, H. (1997) Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum.Reprod.*, 12, 220±223

85.- Chang, M.Y, Chiang, C.H Hsieh, T.T., Soong, Y.K. and Hsu, K.H. (1998) a Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil. Steril.*, 69, 505±510.

86.- Chang, M.Y., Chiang, C.H., Chiu, T.H., Hsieh, T.T. and Soong, Y.K. (1998b) The antral follicle count predicts the outcome of pregnancy in a controlled ovarian hyperstimulation/intrauterine insemination program. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 15, 12±17.

87.- Frattarelli, J.L., Lauria-Costa, D.F., Miller, B., Bergh, P.A. and Scott, R.T., Jr (2000) Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil. Steril.*, 74, 512±517.

88.- Ng, E.H.Y., Tang, O.S. and Ho, P.C. (2000) The significance of the number of antral follicles prior to stimulation in predicting ovarian responses in an in vitro fertilization programme. *Hum. Reprod.*, 15, 1937±1942.

89.- Hsieh, Y.Y., Chang, C.C. and Tsai, H.D. (2001) Antral follicle counting in predicting the retrieved oocyte number after ovarian hyperstimulation. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 18, 320±324.

90.- Nahum, R., Shifren, J.L., Chang, Y.C., Leykin, L., Isaacson, K. and Toth, T. (2001) Antral follicle assessment as a tool for predicting outcome in IVF: is it a better predictor than age and FSH? *J. Assist. Reprod. Genet.*, 18, 151±155.

91.- Zaidi, J., Barber, J., Kyei-mensah, A., Bekir, J., Campbell, S. and Tan, S.L. (1996) Relationship of ovarian stromal blood flow at the baseline ultrasound scan to subsequent follicular response in an in vitro fertilization program. *Obstet. Gynecol.*, 88, 779±784.

92.- Engmann, L., Sladkevicius, P., Agrawal, R., Bekir, J.S., Campbell, S. and Tan, S.L. (1999) Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. *Fertil. Steril.*, 71, 22±29.

93.- Kupesic, S. and Kurjak, A.(2002) Predictors of IVF outcome by three dimensional ultrasound. Hum. Reprod, 17, 950±955.

94.- Kupesic, S., Kurjak, A., Bjelos, D. and Vujisic, S. (2003) Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age. Fertil. Steril., 79, 190±197

95.- Popovic-Todorovic, B., Loft, A., Lindhard, A., Bangsboll, S., Andersson, A.M. and Andersen, A.N. (2003) A prospective study of predictive factors of ovarian response in `standard' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage nomogram. Hum. Reprod. 18, 781±787.

96.- Sharara Fr., Mcclarnrock HD.The effect of aging on ovarian volume measurement in infertile women. Obstet Gynecol 1999; 9457-60

97.- Ernest Hung Yu Ng<sup>1,3</sup>, William Shu Biu Yeung, Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility, Human Reproduction Vol.18, No.10 pp. 2169±2174, 2003

98.- Wallace, and Thomas W.Kelsey, Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography, Human Reproduction Vol.19, No.7 pp. 1612±1617, 2004

99.- Chow GE., Criniti AR., Soules MR. Antral follicle count and serum follicle-stimulating hormone levels to assess functional ovarian age. *Obstet Gynecol* 2004; 104:801-4

100.- Haadsma A. Bukman, The number of small antral follicles (2–6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population, *Human Reproduction* Vol.22, No.7 pp. 1925–1931, 2007

101.- Scheffer, M.D.,\* Frank J. M. Broekmans, Antral follicle counts by transvaginalultrasonography are related to age in women with proven natural fertility *Fert and Steril* Vol.. 72, No. 5, Nov. 1999

102.- D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved?, *Semin Reprod Med* 21:243, 2003

103.- Cramer DW, Missner SA, The epidemiologic of endometriosis, *Ann N Y Acad Sci* 955:11, 2002.

104.- Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C, Effect of endometriosis on In Vitro Fertilization, *Fertil Steril* 77:1148, 2002.

105.- Bukman A.,Heineman MJ, Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with infertility, *Human Reproduction Update*, Vol. 7, No. 6, pp.581-590, 2001.

106.- Speroff. Clinical Gynecologic Endocrinology and infertility.sixth edition.  
Pp 1017.

107.- Loumaye, E., Billion, J.M., Mine, J.M. et al (1990) Prediction of individual response to controlled ovarian Hyperstimulation by means of a clomiphene citrate challenge test. *Fertil.Steril.*, 53, 295-301.

108.- Wenjie Sun, M.D.,Barbara J. Stegmann, M.D., M.P.H.,Melinda Henne, M.D., M.S.,William H. Catherino, M.D., Ph.D.,and James H. Segars, M.D.A new approach to ovarian reserve testing.*Fertility and Sterility* Vol. 90, No. 6, December 2008.

109.- Tanbo, T., Dale, P.O., Abyholm, T. *Et al.* (1989) Follicle-Stimulating hormone as a prognostic indicator in clomiphene citrate/human menopausal gonadotrophin-stimulated cycles for in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 6, 647-650.

110.- Hofmann, G.E., Sosnowski, J., Scott, R.T. *et al.* (1996) Efficacy of selection criteria for ovarian reserve screening using the clomiphene citrate challenge test in a tertiary fertility center population. *Fertil.Steril.*, 66, 49-53.

111.- Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, teVelde ER and Broekmans FJ (2005) Antralfollicle count in the prediction of poor ovarian response and

pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *FertilSteril* 83,291–301.

112.- Scott, R.T. and Hoffman, G.E (1995) Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil.Steril.*, 63, 1-11.

113.- Glen E. Hofmann, M.D., Ph.D., Douglas R. Danforth, Ph.D., and David B. Seifer, M.D. Inhibin-B: the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertility and Sterility*. Vol. 69, No. 3. 1998.

114.- Joshi JV, Bhandarkar SD, Chadha M, Balaiah D, Shah R. Menstrual irregularities and lactation failure may precede thyroid dysfunction or goitre. *J Postgrad Med* 1993;39:137

115.- Krassas GE, Pontikides N, Kaltsas T, Papadoupolu P, Paunkovik J, Paunkovik N. Disturbances of menstruation in hypotiroidism. *Clin Endocrinol (Oxford)* 1999;50(5):655-9.

116.- Lambalk C.B., Disseldorp, C., Koning, F., Broekmans F. Testing ovarian reserve to predict age at menopause. *Maturitas*, 2009;63:280-291.

117.- Forges T, Monnier-Barbarino P, Faure GC, Bené MC. Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology. Hum Reprod Update 2004;10(2):163-75.

118.- Conway GS. Premature ovarian failure. British Med Bulletin 2000;56(3):643-649.

119.- Tsigkou A, Marzotti S, Borges L, Brozzetti A, Reis F, Candeloro P, Luisa Bacosi M, Bini V, Petraglia F, Falorni A. High serum inhibin concentration discriminates autoimmune oophoritis from other forms of primary ovarian insufficiency. J Clin Endocrinol Metab 2008;93(4):1263-9.

120.- Hoek A, Schoemaker J, Drexhage HA. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. Endoc Rev 1997;18(1):107-34.