



Trabajo Original

Utilidad clínica de la hormona antimülleriana en la predicción de la edad ovárica en España

Clinical use of antimüllerian hormone to predict ovarian age in Spain

María Luisa López-Teijón Pérez¹, Mireia Junyent¹, Beatriz Fernández Forner², María José Miravittles¹, Alex García-Faura Cirera¹ y Fernando Echevarne²

¹Institut Marqués. Barcelona. ²Laboratorios Echevarne

Resumen

Objetivo: la hormona antimülleriana es un marcador clínico de la reserva ovárica pero no disponemos de sus valores de referencia en la población española. Se han determinado sus valores de normalidad en relación a la edad en una amplia muestra de población española.

Sujetos y métodos: se estudiaron 10.443 mujeres (edad 20-45 años). Todas las determinaciones séricas de hormona antimülleriana se realizaron mediante un test de ELISA (hormona antimülleriana Gen II ELISA assay; Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

Resultados: la edad media fue 36,6 ± 4,3 años. Los niveles de la hormona antimülleriana se correlacionaron inversamente con la edad ($r = -0,35$; $p < 0,001$). La edad ovárica aumentaba 1 año por cada descenso medio de 0,2 ng/ml de hormona antimülleriana. Se obtuvieron diferencias significativas en los valores de hormona antimülleriana entre Cataluña, Baleares y Andalucía.

Conclusiones: este estudio ofrece estimaciones de los valores de referencia de hormona antimülleriana en función de la edad y contribuye a determinar con mayor precisión la reserva ovárica de las mujeres españolas.

Palabras clave:

Hormona antimülleriana.
Reserva ovárica.
Edad ovárica.
Fertilidad.

Abstract

Objectives: Antimüllerian hormone is considered clinically useful in the evaluation of ovarian reserve, and few data exists regarding its distribution in the Spanish population. We determine normality values of antimüllerian hormone related to age in a large Spanish community cohort.

Subjects and methods: We study 10,443 women (aged 20-45). Antimüllerian hormone values were analysed using an ELISA assay (antimüllerian hormone Gen II ELISA assay; Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

Results: The mean age of women was 36.6 ± 4.3 years. Antimüllerian hormone values were inversely correlated with age ($r = -0.35$; $p < 0.001$). From the regression equation, the estimated yearly decrease in antimüllerian hormone was 0.2 ng/ml. Significant differences were obtained in mean values of antimüllerian hormone among Cataluña, Baleares, and Andalucía.

Conclusions: This study reports the distribution of antimüllerian hormone values in different age groups in Spain, and contribute to determine the ovarian reserve in Spanish women.

Key words:

Antimüllerian hormone.
Ovarian reserve.
Ovarian age.
Fertility.

Recibido: 21/03/2017
Aceptado: 30/05/2017

López-Teijón M, Junyent M, Fernández Forner B, Miravittles MJ, García-Faura Cirera A, Echevarne F. Utilidad clínica de la hormona antimülleriana en la predicción de la edad ovárica en España. Prog Obstet Ginecol. 2017;60(4):341-346

Correspondencia:

Alex García-Faura.
Institut Marqués.
Paseo Manuel Girona, 33.
08034 Barcelona
e-mail: alex.garcia-faura@institutomarques.com

INTRODUCCIÓN

La fertilidad femenina disminuye con la edad, y este declive es más notorio en los últimos 10-15 años anteriores a la menopausia, con una merma en la cantidad y la calidad de los ovocitos (1,2). Según datos del Instituto Nacional de Estadística del 2015, en España tenemos uno de los índices de natalidad más bajos del mundo y además las españolas, tienen el primer hijo cada vez más tardíamente, siendo la edad media de 32,4 años (3). El retraso de la edad de la maternidad en la mujer ocurrido en los últimos años hace necesaria una evaluación precisa de la reserva ovárica dado que a los 35 años quedan el 10% de los óvulos y cuantos menos quedan peor es su calidad. Por lo tanto, para conocer la reserva ovárica, es necesario estimar una edad reproductiva más allá de la edad cronológica, dado que con frecuencia esta no se corresponde con la edad ovárica.

En la actualidad el marcador clínico de elección es la hormona antimülleriana (AMH) (4,5) tras haberse establecido su mayor fiabilidad y comodidad de uso en comparación con otros marcadores utilizados hasta la fecha (hormona estimulante del folículo (FSH), inhibina B o estradiol basal) (6-11). La AMH se produce en las células de la granulosa de los folículos primordiales que han empezado un reclutamiento inicial, y es secretada por el ovario a la circulación sanguínea (12). Al no ser dependiente del eje hipotálamo, hipofisario gonadal, muestra poca variabilidad durante el ciclo menstrual (13,14). A pesar del amplio uso que tiene en la clínica habitual la determinación de AMH, se observan importantes diferencias en los resultados publicados entre países. Esto puede deberse a la falta de estandarización de la metodología para su medición (15), aunque desconocemos si también podría deberse a otros factores asociados a la raza, medioambientales, etc. Además, en España no hay información sobre los valores normativos, ajustados por edad que se puedan utilizar para establecer puntos de corte.

Por lo tanto, el objetivo principal del estudio es proporcionar una distribución de los valores de normalidad de AMH en diferentes grupos etarios y predecir la edad ovárica a partir de los valores de esta hormona estudiados en una gran población española. El objetivo secundario es ver si existen diferencias entre las distintas regiones de España analizadas en el estudio.

MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal en el que se incluyeron los valores de AMH de mujeres españolas procedentes de once comunidades autónomas obtenidos desde enero de 2009 hasta mayo de 2015. La muestra estuvo compuesta por 10.443 mujeres de edades entre 20 y 45 años. Todas las mujeres firmaron un consentimiento informado escrito para el uso de sus datos utilizados de forma anónima y con fines científicos y educativos.

Las determinaciones de AMH se efectuaron en suero obtenido a partir de muestras de sangre coagulada en el día en el que se realizó la extracción, independientemente del momento del ciclo menstrual en que se hallaban. Las muestras se centrifugaron en condiciones estándar en las primeras 2 horas tras la extracción y se transportaron al laboratorio central (Laboratorio Echevarne, Barcelona), donde quedaron almacenadas a -20°C hasta su análisis centralizado. Se utilizó un test de ELISA comercial (AMH Gen II ELISA assay; Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Se usaron los valores de AMH expresados en nanogramos por mililitro. El valor mínimo de AMH detectado por el test con una probabilidad del 95% era de 0,1 ng/ml. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron del 5,4% y 5,6%, respectivamente.

Se realizó un análisis descriptivo con medidas de tendencia central (media y mediana) y dispersión (desviación típica y rango intercuartílico). Se evaluó la normalidad de las variables continuas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. La asociación entre la edad y la AMH se analizó por medio del coeficiente de correlación de Spearman. Además se llevó a cabo un test de ANOVA de las medias y posteriormente se compararon dos a dos con el test de Bonferroni. Los mismos análisis se hicieron agrupando a las participantes por grupos etarios, en los siguientes rangos de edad: 20 a <25 años, 25 a <30 años, 30 a <35 años, 35 a <40 años, y 40 a ≤ 45 años; y también agrupando los valores de AMH en función de la región de España. Se realizó un análisis de regresión para calcular la edad ovárica en función de los valores de AMH y se determinó la ecuación de ajuste a una función lineal. La significación estadística se consideró como riesgo alfa del 5% ($p < 0,05$). Los cálculos se efectuaron mediante el paquete estadístico SPSS, versión 13.0.

RESULTADOS

Se estudió a un total de 10.443 mujeres, con una edad media de $36,6 \pm 4,3$ años. El valor medio de la AMH fue de $2,52 \pm 2,75$ ng/ml con un valor mínimo de 0,1 ng/ml y un valor máximo de 31 ng/ml. Los valores de AMH no seguían una distribución normal en la muestra global, y disminuían con la edad, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las distintas medias de edad ($p < 0,001$) y también entre los distintos grupos etarios ($p < 0,001$). Asimismo, todos los grupos etarios fueron estadísticamente diferentes unos frente a otros, excepto los grupos de 20 a <25 años y de 25 a <30 años entre sí. En las tablas I y II se recogen los valores de AMH por año y por grupo de edad, respectivamente.

Los valores de AMH se correlacionaron negativamente con la edad ($r = -0,35$; $p < 0,001$). No hubo ninguna mujer con concentraciones bajas de AMH (< 1 ng/ml) en el rango de 20 a 25 años, mientras que esta proporción era superior al 50% en las mujeres con una edad superior a los 42 años.

En la tabla III se muestra el cálculo de la edad ovárica esperada según los valores obtenidos de AMH mediante la

utilización de la ecuación obtenida por regresión lineal: edad ovárica = (10,069-AMH)/0,206. En esta tabla se objetiva un aumento de la edad ovárica en 1 año por cada descenso medio de 0,2 ng/ml de los valores de AMH.

En la figura 1 se muestra un resumen gráfico de la distribución de valores AMH por edad, con la mediana, el rango intercuartílico, el intervalo del 95% y los *outliers*, junto con la línea de tendencia de la regresión lineal.

Se obtuvieron diferencias globales en los valores medios de AMH en función de la región de España analizada (Tabla IV) (p < 0,001). Además, a nivel individual, los valores de AMH en Cataluña fueron significativamente mayores que los valores obtenidos en Andalucía (p < 0,001) y en Baleares (p = 0,011). Asimismo, los valores de AMH en Castilla León fueron estadísticamente superiores en comparación con los valores obtenidos en Andalucía (p = 0,049). No se objetivaron otras diferencias estadísticamente significativas en función de la región de España estudiada.

Tabla I.

Valores de hormona antimülleriana en función de la edad (n = 10.443)

Edad (años)	Valores de AMH (ng/ml)		
	Media	Mediana	IC 95%
20 (n = 19)	5,80	3,45	4,63-6,97
21 (n = 18)	5,39	4,59	4,19-6,59
22 (n = 21)	5,37	3,70	4,26-6,48
23 (n = 16)	5,28	5,39	4,01-6,56
24 (n = 37)	5,07	3,65	4,24-5,91
25 (n = 46)	5,12	4,81	4,37-5,89
26 (n = 73)	5,11	4,50	4,52-5,71
27 (n = 79)	5,00	4,09	4,43-5,57
28 (n = 126)	5,07	3,87	4,61-5,52
29 (n = 192)	4,17	3,11	3,80-4,54
30 (n = 278)	4,03	2,70	3,72-4,33
31 (n = 350)	3,66	2,67	3,38-3,93
32 (n = 477)	3,45	2,55	3,22-3,69
33 (n = 606)	3,22	2,41	3,02-3,43
34 (n = 694)	3,07	2,11	2,87-3,26
35 (n = 796)	2,72	1,78	2,54-2,90
36 (n = 878)	2,39	1,68	2,22-2,56
37 (n = 930)	2,32	1,70	2,16-2,49
38 (n = 1012)	2,33	1,60	2,17-2,49
39 (n = 1014)	1,95	1,45	1,79-2,11
40 (n = 853)	1,89	1,28	1,72-2,06
41 (n = 713)	1,62	1,06	1,43-1,81
42 (n = 532)	1,56	1,04	1,34-1,78
43 (n = 364)	1,30	0,87	1,03-1,56
44 (n = 236)	1,23	0,95	0,90-1,56
45 (n = 83)	1,02	0,72	0,46-1,58

IC: intervalo de confianza.

Tabla II.

Valores de hormona antimülleriana en función del grupo de edad

Grupo de edad (años)	20 a < 25	25 a < 30	30 a < 35	35 a < 40	40 a ≤ 45
N	111	516	2.405	4.630	2.781
Media (ng/ml)	5,34	4,73	3,38	2,32	1,60
Mediana (ng/ml)	4,01	3,63	2,37	1,62	1,07
IC 95%	4,85-5,82	4,51-4,96	3,28-3,48	2,25-2,40	1,50-1,69

IC: intervalo de confianza.

Tabla III.

Valores esperados de edad ovárica en función de los valores de hormona antimülleriana (n = 10.443)

AMH (ng/ml)	Edad ovárica (años)
0,10 - < 0,20	48
0,20 - < 0,40	47
0,40 - < 0,60	46
0,60 - < 0,80	45
0,80 - < 1,10	44
1,10 - < 1,30	43
1,30 - < 1,50	42
1,50 - < 1,70	41
1,70 - < 1,90	40
1,90 - < 2,10	39
2,10 - < 2,30	38
2,30 - < 2,50	37
2,50 - < 2,70	36
2,70 - < 2,90	35
2,90 - < 3,10	34
3,10 - < 3,30	33
3,30 - < 3,50	32
3,50 - < 3,70	31
3,70 - < 3,90	30
3,90 - < 4,10	29
4,10 - < 4,40	28
4,40 - < 4,60	27
4,60 - < 4,80	26
4,80 - < 5,00	25
5,00 - < 5,20	24
5,20 - < 5,40	23
5,40 - < 5,60	22
5,60 - < 5,80	21
5,80 - < 6,00	20
6,00 - < 6,20	19
6,20 - < 6,40	18
6,40 - < 6,60	17
6,60 - < 6,80	16
6,80 - < 7,00	15

Edad ovárica = (10,069 - AMH)/0,206.

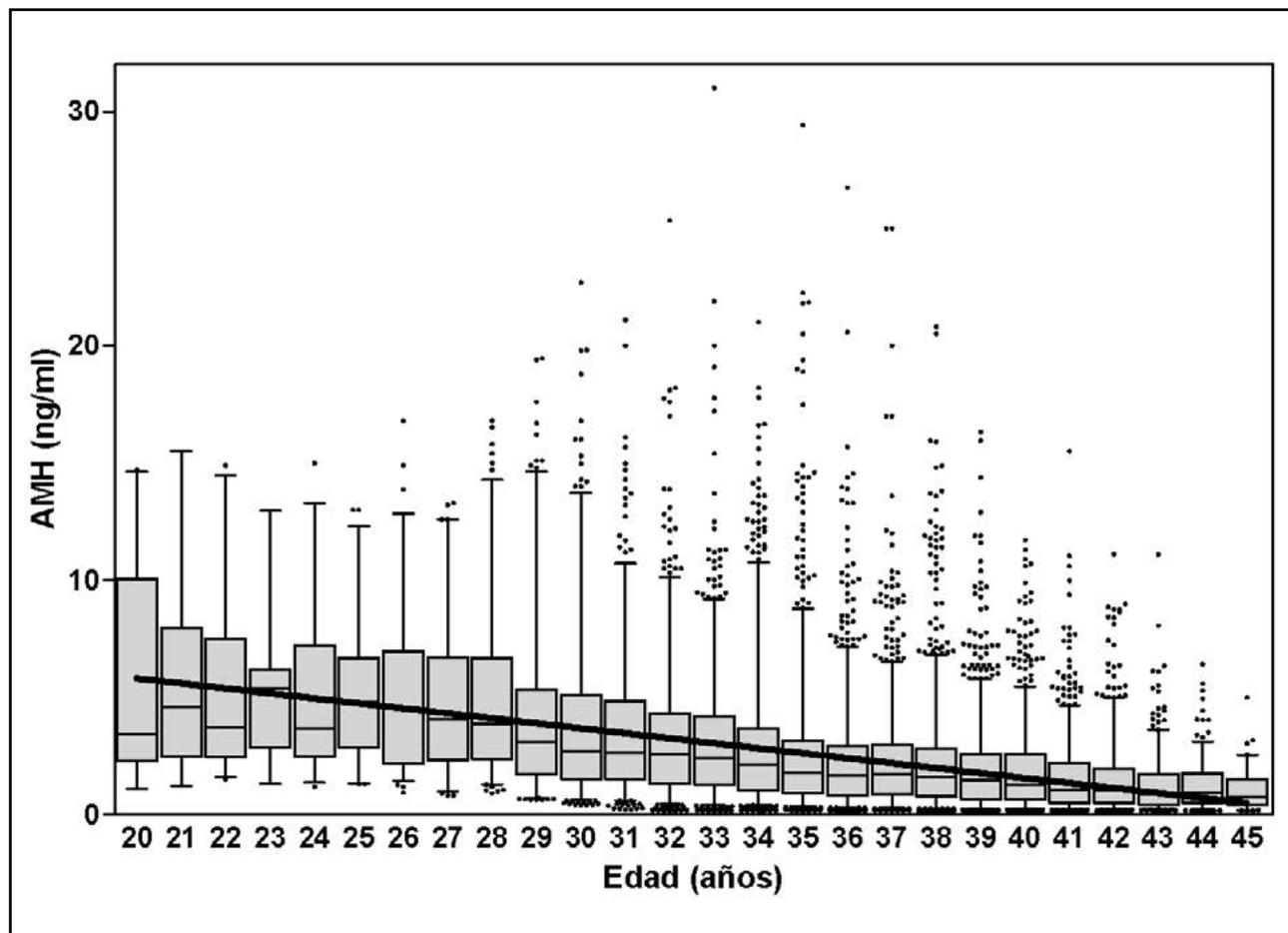


Figura 1. Diagrama de cajas. Las barras representan la mediana, el rango intercuartílico y los intervalos de confianza del 5% al 95%; y los puntos, los datos que quedan fuera de ese rango del 95% de la muestra para cada edad. Se muestra también la línea de tendencia obtenida por medio de regresión lineal.

Tabla IV.

Valores de hormona antimülleriana en función de la región de España (n = 10.443)

Región de España	Valores de AMH (ng/ml)		
	Media	Mediana	IC 95%
Álava (n = 52)	2,75	1,66	2,00-3,49
Andalucía (n = 1.506)	2,27	1,59	2,13-2,41
Asturias (n = 264)	2,25	1,43	1,92-2,58
Baleares (n = 528)	2,21	1,36	1,97-2,44
Castilla León (n = 328)	2,83	1,71	2,53-3,12
Castilla La Mancha (n = 112)	2,65	1,63	2,14-3,16
Cataluña (n = 5.483)	2,67	1,80	2,60-2,74
Galicia (n = 82)	2,02	1,63	1,42-2,61
Madrid (n = 516)	2,31	1,56	2,08-2,55
Murcia (n = 37)	2,62	2,09	1,74-3,50
Valencia (n = 1.535)	2,42	1,62	2,28-2,56

IC: intervalo de confianza.

DISCUSIÓN

En este estudio se determinan los valores de AMH en población española en función de la edad cronológica, para obtener a través de ellos una estimación de su reserva ovárica. Mediante la utilización de una ecuación de regresión lineal, podemos determinar la edad ovárica de las mujeres a partir de su edad y el valor sérico de AMH. Por ejemplo, una mujer con una determinación sérica de AMH de 1 ng/ml le correspondería una edad ovárica de 44 años (Tabla III). Dado el uso cada vez más frecuente de los niveles de AMH en la evaluación clínica de la fertilidad, la tendencia que muestran estos valores en la población española era un aspecto que faltaba conocer para poder proporcionar información de utilidad clínica tanto a los médicos como a los pacientes que consideren diferentes opciones de tratamientos de reproducción asistida. En este sentido, los valores de normalidad descritos de AMH pueden utilizarse en la práctica clínica habitual para maximizar la evaluación de la fertilidad, más allá de la edad cronológica.

Este estudio es el primero realizado en España y tiene una gran potencia por el elevado tamaño muestral, con un total de 10.443 mujeres en un amplio rango de edades y procedentes de diferentes regiones de España. Las tablas muestran los valores medios y las medianas de referencia porque la combinación es más informativa cuando los datos no siguen una distribución normal, como ocurre en este caso con los niveles de AMH. Para intervalos de 5 años, desde los 20 a los 45 años, se observa un descenso progresivo de la media y la mediana, pero con disminuciones más grandes en los grupos etarios centrales y menos acusadas en los extremos, indicando que hasta los 30 años los valores de AMH disminuyen muy lentamente.

Encontramos diferencias estadísticamente significativas en los valores de AMH en función del área geográfica española analizada. En este sentido, Cataluña presenta unos valores más elevados de AMH respecto a zonas tradicionalmente menos industrializadas, como Andalucía y Baleares. En un estudio previo de nuestro grupo en el que se evalúa la calidad del semen en diferentes áreas geográficas de España (16) se observa una mayor incidencia de oligospermia en varones cuyas madres se criaron en Cataluña, Valencia y País Vasco en comparación con Andalucía y Galicia. Estos resultados sugieren que la exposición a tóxicos ambientales derivados de la contaminación industrial puede afectar el proceso de espermatogénesis en el testículo fetal.

Ahora bien, cómo afecta la contaminación ambiental al proceso de ovogénesis permanece desconocido. En este sentido, se ha descrito que la exposición prenatal a disruptores estrogénicos reduce en un 40-50% de los casos el número de oogonias, conllevando a un acortamiento en la edad reproductiva (17). A pesar de que la mayoría de estos datos proceden de estudios realizados con ani-

males de experimentación o modelos *in vitro*, Whitworth y cols. (18) encuentran unos valores de AMH más bajos en mujeres con exposición ambiental a pesticidas en comparación con las mujeres no expuestas prenatalmente a dichas sustancias.

Como fortalezas del estudio se encuentran el hecho de que se haya utilizado la misma metodología para el análisis de todas las muestras y haya sido realizado por un mismo laboratorio central. Como limitaciones de este estudio, debemos mencionar que no se recogieron determinadas variables clínicas como la existencia de síndrome de ovario poliquístico el cual aumenta los valores de AMH por el elevado índice de folículos que presentan estas mujeres. Además, los datos se han clasificado por la ciudad en la que se realizó la analítica y para evaluar la exposición prenatal a tóxicos ambientales necesitaríamos saber el lugar de residencia de su madre antes del embarazo. El estudio sobre calidad de semen en jóvenes españoles que llevaron a cabo los mismo autores (16) se hizo de esta forma: una muestra de semen de un varón de madre criada en Galicia pero obtenida por ejemplo en Madrid se clasificó como de Galicia.

Estos parámetros hubieran sido útiles para poder comparar los valores obtenidos de AMH en diferentes subpoblaciones y explicar parte de la dispersión de los datos y de las diferencias geográficas.

Asimismo, aunque el estudio tiene una elevada muestra de mujeres analizadas, el valor de correlación obtenido es débil, lo cual está indicando por un lado la presencia de una variabilidad debida a algún factor no controlado y por otro lado la posibilidad de que, en algunos tramos de edad a lo largo de la vida reproductiva, el declive no sea lineal, tal y como algunos estudios parecen indicar (19,20).

En conclusión, los valores de referencia de AMH obtenidos nos permiten informar a las mujeres de su reserva ovárica real y de su índice de fertilidad mensual. Y pueden emplearse para aconsejar a una paciente sobre sus posibilidades de éxitos en una estimulación ovárica para vitrificar ovocitos o para fecundación *in vitro* ya que son un índice pronóstico de la cantidad y calidad de sus ovocitos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hart RJ. Physiological Aspects of Female Fertility: Role of the Environment, Modern Lifestyle, and Genetics. *Physiol Rev* 2016;96(3):873-909.
2. Meldrum DR, Casper RF, Diez-Juan A, Simon C, Domar AD, Frydman R. Aging and the environment affect gamete and embryo potential: can we intervene?. *Fertil Steril* 2016;105(3):548-59.
3. Instituto Nacional de Estadística de España (2015). <http://www.ine.es>.
4. Seifer DB, MacLaughlin DT. Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril* 2007;88(3):539-46.
5. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegeod JA, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999;140(12):5789-96.
6. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum mullerian-inhibiting substance levels are associa-

- ted with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2002;77(3):468-71.
7. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimullerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertil Steril* 2004;82(5):1323-9.
 8. Riggs RM, Duran EH, Baker MW, Kimble TD, Hobeika E, Yin L, et al. Assessment of ovarian reserve with anti-Mullerian hormone: a comparison of the predictive value of anti-Mullerian hormone, follicle-stimulating hormone, inhibin B, and age. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199(2):202 e1-8.
 9. Wunder DM, Guibourdenche J, Birkhauser MH, Bersinger NA. Anti-Mullerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2008;90(6):2203-10.
 10. Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P, et al. Circulating basal anti-Mullerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2009; 92(5):1586-93.
 11. Lee TH, Liu CH, Huang CC, Hsieh KC, Lin PM, Lee MS. Impact of female age and male infertility on ovarian reserve markers to predict outcome of assisted reproduction technology cycles. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:100.
 12. La Marca A, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol* 2006;64(6):603-10.
 13. La Marca A, Stabile G, Artesio AC, Volpe A. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod* 2006;21(12):3103-7.
 14. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhauser MH. Statistically significant changes of antimullerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril* 2008;89(4):927-33.
 15. Rzeszowska M, Leszcz A, Putowski L, Hałabiś M, Tkaczuk-Włach J, Kotarski J, et al. Anti-Mullerian hormone: a critical factor for female fertility and reproductive health. *Ginekol Pol* 2016;87(7):532-7.
 16. López-Tejón M, Elbaile M, Álvarez JG. Geographical differences in semen quality in a population of young healthy volunteers from the different regions of Spain. *Andrologia* 2008;40(5):318-28.
 17. Pocar P, Brevini TAL, Fischer B, Gandolfi F. The impact of endocrine disruptors on oocyte competence. *Reproduction* 2003;125:313-25.
 18. Whitworth KW, Baird DD, Steiner AZ, Bornman RM, Travlos GS, Wilson RE, et al. Anti-Mullerian hormone and lifestyle, reproductive, and environmental factors among women in rural South Africa. *Epidemiology* 2015;26(3):429-35.
 19. Van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT, et al. Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(6):2129-34.
 20. Nelson SM, Messow MC, Wallace AM, Fleming R, McConnachie A. Nomogram for the decline in serum antimullerian hormone: a population study of 9,601 infertility patients. *Fertil Steril* 2011;95(2):736-41 e1-3.