



TRABAJO FIN DE GRADO EN BIOTECNOLOGÍA



Facultad de Biología
Universidad de Murcia

Infertilidad femenina: valoración y pronóstico reproductivo de la baja reserva ovárica

Autora: Marina Pastor Galindo

Tutora: Dra. D^a Alfonsa García Ayala

Curso 2015-2016

Índice

Resumen.....	2
Abstract	2
1. Introducción.....	3
2. Materiales y métodos.....	3
3. Objetivos.....	4
4. Resultados: análisis de la baja reserva ovárica	5
4.1 Ovogénesis	5
4.1.1 Desarrollo prenatal de los ovocitos.....	5
4.1.2 Desarrollo postnatal de los ovocitos	7
4.2 Ciclo menstrual y su control hormonal	10
4.2.1 Fase folicular.....	11
4.2.2 Ovulación	14
4.2.3 Fase lútea.....	15
4.3 Baja reserva ovárica	16
4.3.1 Causas de baja reserva ovárica.....	17
4.3.2 Estrategias diagnósticas: marcadores de reserva folicular	21
4.3.3 Posibles tratamientos u opciones terapéuticas en pacientes con baja reserva ovárica.....	27
4.3.4 Nuevas perspectivas de futuro para el tratamiento de baja reserva ovárica: células madre ováricas	29
5 Conclusiones	30
6 Bibliografía.....	31

Resumen

La infertilidad femenina representa el 40% de los problemas de fertilidad en una pareja, siendo los trastornos ováricos los más comunes. Por esta razón, en este Trabajo Fin de Grado se ha realizado una revisión bibliográfica sobre la baja reserva ovárica ya que es uno de los problemas más estudiados actualmente en este campo. Para ello, es esencial el análisis previo de algunos aspectos que no son estudiados en el Grado en Biotecnología, como el desarrollo de los gametos femeninos, su estructura y la regulación hormonal del ciclo menstrual de la mujer. Además, en el trabajo se estudian las causas descritas hasta la fecha y se hace una recopilación de las estrategias diagnósticas disponibles en la actualidad. Así mismo, se abordan los posibles tratamientos, concluyendo que ninguna de las opciones terapéuticas empleadas ofrece una solución a la baja reserva ovárica. Sin embargo, el reciente descubrimiento de la presencia de células madre ováricas ha supuesto una gran esperanza para mujeres con este tipo de infertilidad y especialistas en medicina reproductiva, convirtiéndose en una alternativa muy prometedora para dar solución a este problema.

Palabras clave: Infertilidad femenina, folículos ováricos, baja reserva ovárica.

Abstract

Feminine infertility represents the 40% of the problems of fertility in a couple, being ovarian disorders the most common ones. For this reason, in this work it has been done a bibliographic review about low ovarian reserve because nowadays it is one of the most studied problems in this field. To this end, the analysis of some aspects which are not studied in the Degree in Biotechnology is essential, as the development of feminine gametes, their structure and the hormonal regulation of the menstrual cycle. Furthermore, the aim of this work is to study the causes described to date and do a recompilation of the diagnostic strategies available nowadays. The research also addresses the possible treatments, concluding that none of the therapeutics options offers a solution to low ovarian reserve. Nevertheless, the recent discovery of stem cells in the ovary has supposed a hope for women and specialist on reproductive medicine, becoming a promising alternative for giving solution to this problem.

Keywords: Feminine infertility, ovarian follicles, low ovarian reserve.

1. Introducción

La infertilidad se define como la incapacidad de lograr un embarazo después de mantener relaciones sexuales durante un año sin protección. Es un problema que actualmente afecta entorno al 15% de las parejas, por tanto, tiene una gran repercusión a nivel social (Morales, 2012).

La etiología del problema puede radicar en el hombre, en la mujer o en ambos. Hoy en día se estima que la mujer es responsable del 40% de los casos de infertilidad en una pareja. Los motivos de dicha infertilidad pueden ser muy diversos: la causa más frecuente son los trastornos ováricos que suelen originar problemas en el proceso de ovulación. Por otro lado, existen otras patologías relacionadas como la endometriosis que puede bloquear las trompas de Falopio así como alterar la función ovulatoria. También se han descrito factores cervicales y uterinos, como problemas anatómicos o alteraciones en la calidad del moco uterino (Urbina & Lerner, 2009).

Todos los Tratamientos de Reproducción Asistida (TRA) descritos hasta la fecha tienen una pauta común: la estimulación ovárica de la mujer para conseguir los óvulos que posteriormente serán fecundados. En ocasiones no se consigue recuperar suficientes óvulos o aquellos que se obtienen son de baja calidad, por lo que es en este momento cuando se detecta que la mujer presenta baja reserva ovárica. Este hecho reduce hasta en un 70% las posibilidades de lograr un embarazo (Morales, 2012).

Es importante conocer las causas que originan este problema, las consecuencias psicológicas que puede ocasionar en la pareja así como las posibles opciones terapéuticas disponibles en la actualidad.

Este problema está siendo muy estudiado hoy en día y es en lo que se centra el resto del trabajo fin de grado.

2. Materiales y métodos

Se realiza una revisión bibliográfica mediante la búsqueda de información en diversas fuentes. Para ello, se consultan bases de datos como PubMed, Medline, Google académico y editoriales como Panamericana o Elsevier, con el objetivo de seleccionar

artículos, revistas, libros o páginas webs que contengan información relevante para esta revisión.

El método de trabajo consiste en descargar los textos completos de aquellos artículos, tesis, informes o estudios que puedan ser útiles, empleando para ello determinadas palabras claves como “*low ovarian reserve*”, “*ovarian follicles*”, “*low ovarian response*” y “*ovarian stimulation*”. Posteriormente, se realiza un análisis empleando los criterios de inclusión y exclusión para finalmente llevar a cabo un proceso de comprensión y síntesis de la información obtenida.

Criterios de exclusión

- Año de publicación: Se limita el año de publicación a partir de 1998, para evitar emplear bibliografía que no aborde temas de actualidad.
- Disponibilidad del artículo: Sólo se utilizan artículos a los que se pueda tener acceso completo. Aquellos que no son de libre acceso han sido proporcionados por la tutora del trabajo.

Criterios de inclusión

- Idioma: Se valoran artículos tanto en lengua inglesa como lengua española.
- Población: Se analizan artículos cuyo estudios hayan sido realizados tanto en mujeres como en animales de experimentación.

3. Objetivos

Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fin de grado es adquirir conocimientos sobre la infertilidad femenina ya que es un campo que no se estudia en el Grado en Biotecnología. Para ello se realiza una revisión bibliográfica de la información disponible.

Objetivos específicos

- Conocer las causas más comunes de la infertilidad femenina.
- Profundizar sobre la baja reserva ovárica.
- Estudiar las nuevas líneas de investigación en este problema.

4. Resultados: análisis de la baja reserva ovárica

4.1 Ovogénesis

El sistema genital femenino está formado por los ovarios, las trompas uterinas, el útero y la vagina, y es en los ovarios donde tiene lugar el proceso de formación de gametos femeninos (Figura 1).

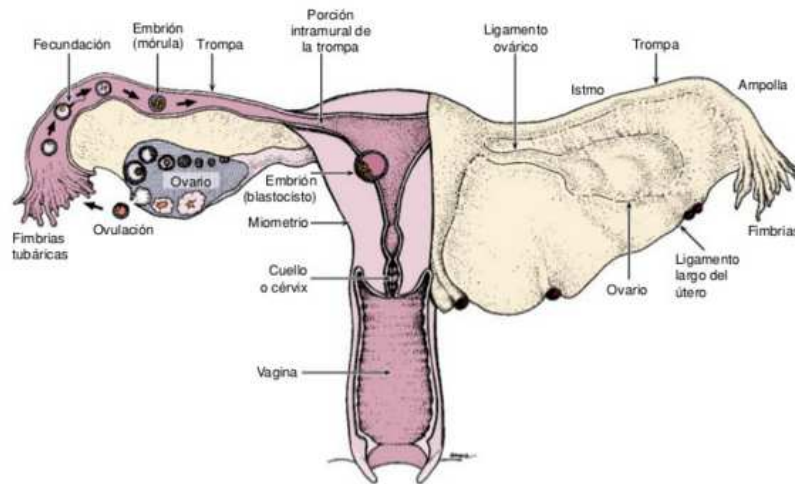


Figura 1. Esquema del sistema genital femenino (Junqueira & Carneiro, 2005).

“La ovogénesis es un proceso mediante el cual las ovogonias se transforman en ovocitos maduros, se inicia en el periodo prenatal y no concluye hasta después de la pubertad” (Arteaga & García, 2013). A nivel celular este desarrollo tiene lugar en los folículos ováricos.

4.1.1 Desarrollo prenatal de los ovocitos

Las células germinales primordiales se forman en el endodermo del saco vitelino. A lo largo de la cuarta semana del desarrollo embrionario estas células comienzan a emigrar desde el mesodermo del saco vitelino hacia la cresta genital (Figura 2), destino al cual llegarán hacia el final de la quinta semana, pasando a denominarse gónada indiferenciada (Sadler & Langman, 2007).

A partir de la novena de semana del desarrollo embrionario las células germinales primordiales se diferencian en **ovogonias** y se rodean de una capa de células del epitelio celómico. A partir de este instante, estas ovogonias comienzan a experimentar divisiones mitóticas, llegando a formar 7.000.000 de células en el quinto mes de vida

intrauterina. Cuando se alcanza el séptimo mes se estima que existen unos 2.000.000 de ovogonias, debido a que la mayoría van a degenerar durante el desarrollo embrionario (Junqueira & Carneiro, 2005).

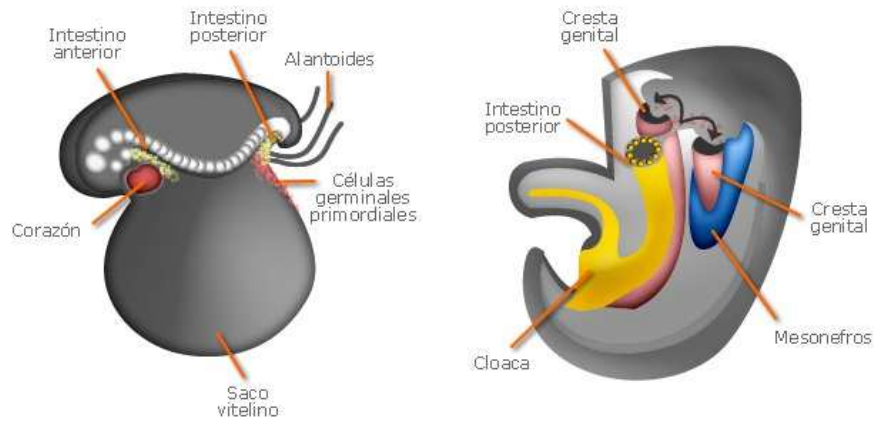


Figura 2. Esquema en el que se observa la migración de las células germinales primitivas desde el mesodermo del saco vitelino hasta la cresta genital (Junqueira & Carneiro, 2005).

Las ovogonias se dividen por mitosis, aumentando así su tamaño hasta convertirse en **ovocitos primarios** en el séptimo mes del desarrollo prenatal (Figura 3). Las células del epitelio celómico se denominan células foliculares y el conjunto del ovocito primario y esta monocapa de células foliculares se denomina **folículo primordial** (Sadler & Langman, 2007).

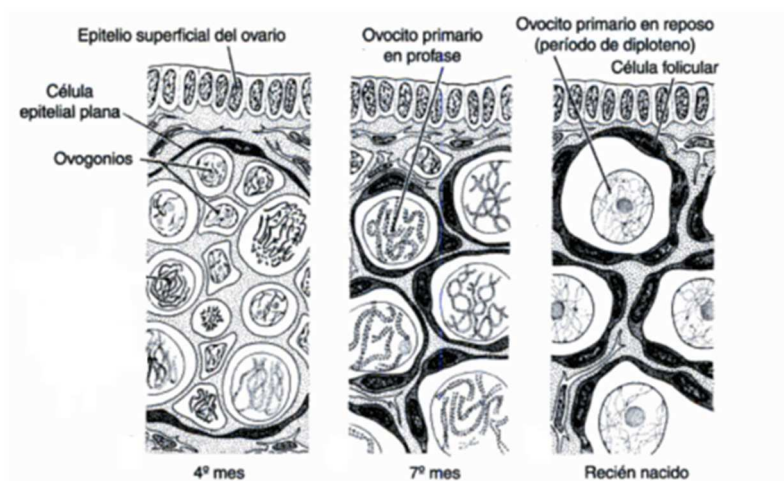


Figura 3. Segmento del ovario en diferentes etapas del desarrollo embrionario y en el momento del nacimiento (Sadler & Langman, 2007).

En la etapa fetal tardía, del séptimo al noveno mes, estos ovocitos primarios comienzan la primera división meiótica, la cual se detendrá en la fase de diploteno de la profase I. Esta detención del proceso de división se produce debido a que las células foliculares que rodean al ovocito comienzan a secretar una sustancia que recibe el nombre de factor inhibidor de la meiosis. En estas condiciones es en las que ocurre el nacimiento, momento en el cual se estima que existirán de 600.000 a 800.000 ovocitos primarios.

4.1.2 Desarrollo postnatal de los ovocitos

Al inicio de la pubertad sólo unos 40.000 ovocitos primarios persisten ya que la mayoría degeneran durante la infancia. Estas células siguen detenidas en la meiosis I y durante los años siguientes a la pubertad un pequeño número de ovocitos primarios conseguirá reanudar la meiosis I durante cada ciclo menstrual (Figura 4), fenómeno que se repetirá a lo largo de toda la vida fértil de la mujer cada 28 a 30 días (Arteaga & García, 2013).

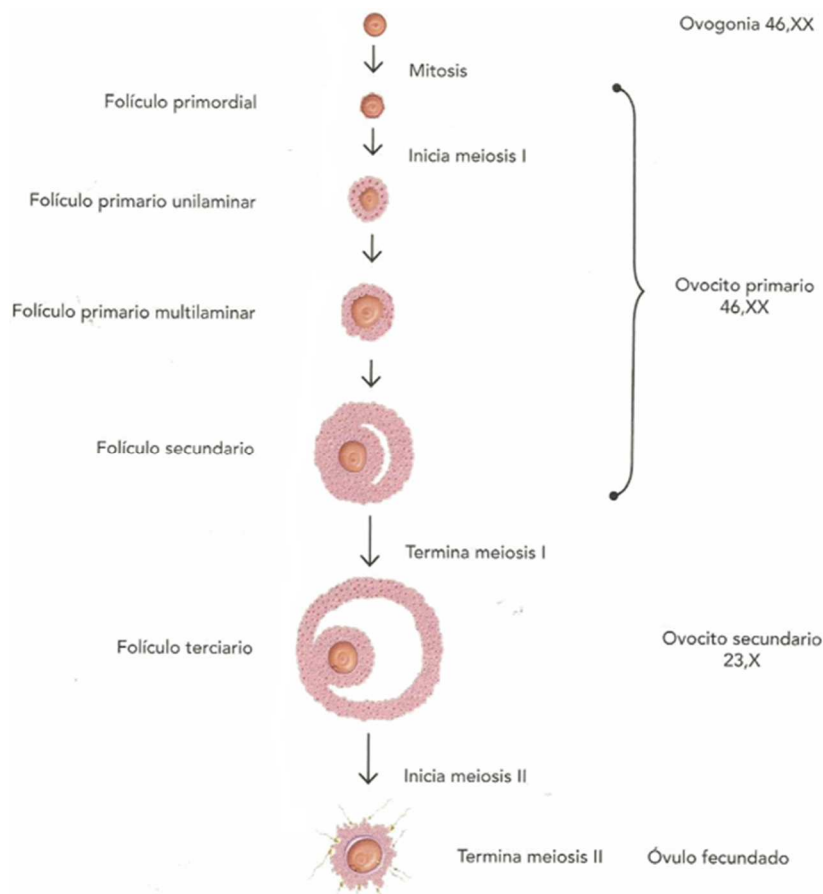


Figura 4. Esquema del desarrollo de los folículos desde las ovogonias hasta la fecundación del ovocito (Arteaga & García, 2013).

“En cada ciclo, de 20 a 30 ovocitos primarios reanudan la meiosis, el ovocito crece y las células foliculares que lo rodean se vuelven cúbicas, formando un epitelio cúbico unilaminar” (Arteaga & García, 2013) (Figura 5). Este conjunto del ovocito y las células epiteliales cúbico-cilíndricas conforma una estructura denominada **folículo primario unilaminar**.

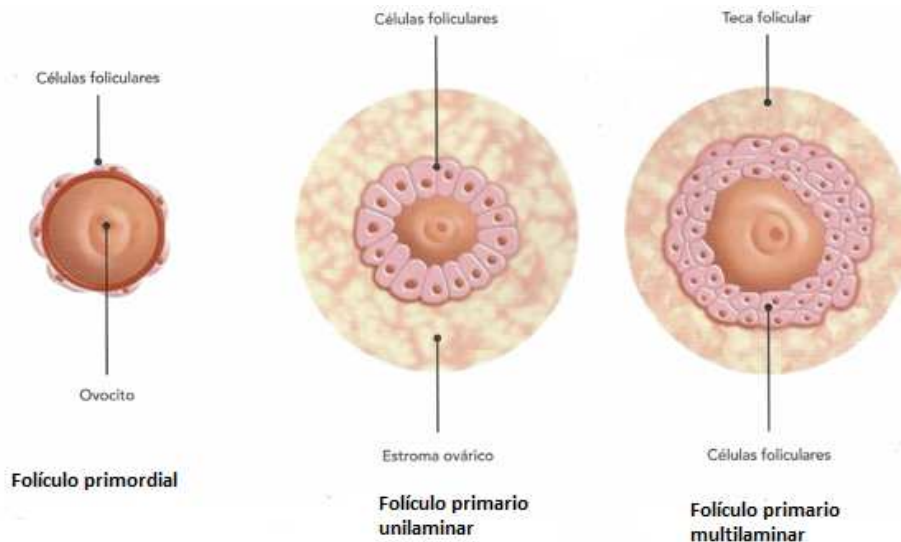


Figura 5. Esquema del proceso de desarrollo de los folículos primordiales hasta folículos primarios (Arteaga & García, 2013).

Las células foliculares rápidamente proliferan creándose varias capas de células que rodean al ovocito primario, dando lugar a un epitelio estratificado que en conjunto constituye una estructura denominada **folículo primario multilaminar**. Estas células que se encuentran rodeando al ovocito también reciben el nombre de células de la granulosa. Se genera también una capa de glicoproteínas conocida como **zona pelúcida** entre el ovocito primario y las células de la granulosa (Arteaga & García, 2013).

Por otro lado, conforme el folículo primario aumenta de tamaño, el tejido conjuntivo adyacente forma una cápsula denominada **teca folicular** que separa dichas células del estroma circundante. Conforme los folículos primarios van madurando, la teca folicular se divide en dos capas: la teca interna y la teca externa. Las células de la teca interna son las encargadas de secretar un factor que favorece la vascularización para asegurar así el aporte sanguíneo necesario para el crecimiento folicular, mientras que la teca externa es tejido conjuntivo fibroso (Arteaga & García, 2013).

En este instante, entre las células de la granulosa comienzan a aparecer unos espacios denominados antros que se llenan de líquido rico en enzimas necesarias para la ovulación, transformándose el folículo en un **folículo secundario** o folículo antral (Figura 6) (Arteaga & García, 2013).

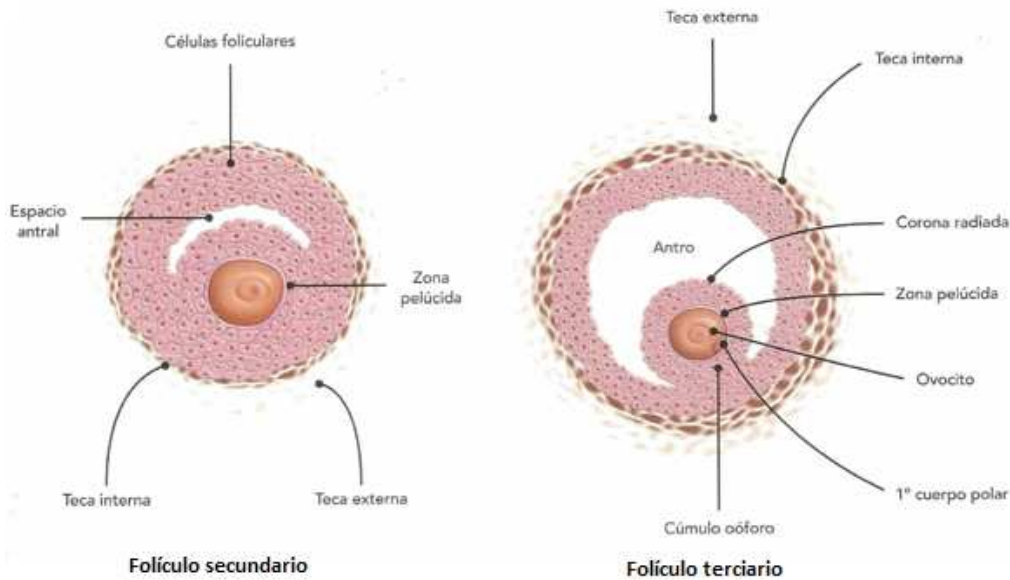


Figura 6. Desarrollo de los folículos secundarios (Arteaga & García, 2013).

La influencia de hormonas hipofisarias provoca que se acumule líquido folicular. Esta acumulación se traduce en un aumento del tamaño del folículo hasta los 2 o 3 cm de diámetro produciendo una zona de isquemia al protuir con la pared del ovario, denominándose en este estadio **folículo terciario** o **folículo maduro de De Graaf** que es el paso previo a la ovulación.

En esta etapa, la capa de células de la granulosa presenta un grosor uniforme alrededor del antro excepto en la zona en la cual se encuentra el ovocito, donde se genera una protuberancia denominada cúmulo oóforo u ovígero. Algunas de las células del cúmulo oóforo se organizan alrededor de la zona pelúcida, formando una estructura conocida como corona radiada.

Es importante destacar que la primera división meiótica del ovocito concluirá entre 10 y 12 horas antes de la ovulación. A partir de este momento, se generarán dos células hijas: el **ovocito secundario**, de gran tamaño, y el **primer cuerpo polar**, bastante pequeño.

Este ovocito secundario y las células foliculares que están a su alrededor quedan unidos a la pared del folículo por el cúmulo oóforo (Arteaga & García, 2013).

Hacia el día 14 del ciclo se produce la ovulación. En este momento, tanto el ovocito secundario como el primer cuerpo polar entrarán en la segunda división meiótica que se detendrá en metafase y sólo concluirá si el ovocito es fecundado, de lo contrario degenerará en 24 horas. Si se produce la fecundación, se reanudará la segunda división meiótica, obteniéndose dos células hijas: el óvulo u **ovocito fecundado** y el **segundo cuerpo polar** (Arteaga & García, 2013).

“De todos los folículos que comenzaron su desarrollo en cada ciclo, sólo uno de ellos llegará a la madurez total y el resto degenerará” (Arteaga & García, 2013).

4.2 Ciclo menstrual y su control hormonal

“El ciclo menstrual femenino consiste en cambios cíclicos que experimenta el aparato reproductor femenino cada 28 a 30 días. Se inicia en la pubertad, con la menarquia y termina en la menopausia” (Arteaga & García, 2013). Estos cambios son consecuencia de las hormonas secretadas por el hipotálamo, la adenohipófisis y los ovarios; su función es preparar al sistema reproductor para un posible embarazo.

Este ciclo se repite cada 28 días y engloba dos etapas: la fase folicular, que se produce del día 1 al día 14 y la fase lútea, del 15 al 28, ocurriendo la ovulación alrededor del día 14 (Figura 7).

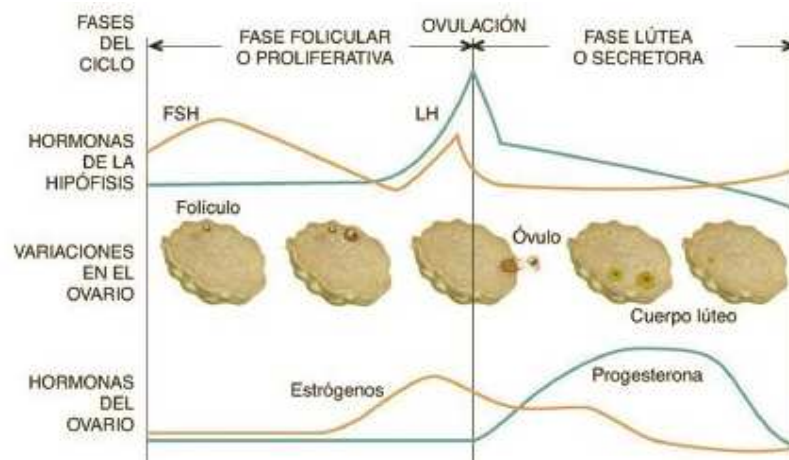


Figura 7. Esquema del ciclo menstrual y los cambios hormonales asociados a las diferentes fases (Educar hoy, 2015).

4.2.1 Fase folicular

La fase folicular se inicia el primer día de la menstruación. Durante la fase folicular temprana, que tiene lugar del primer al quinto día del ciclo, el hipotálamo secreta la hormona liberadora de gonadotropinas hipofisarias (**GnRH**) (Figura 8), la cual tendrá su efecto sobre la adenohipófisis que como respuesta producirá la hormona folículo estimulante (**FSH**) que inicia el desarrollo de folículos (Arce et al., 2006).

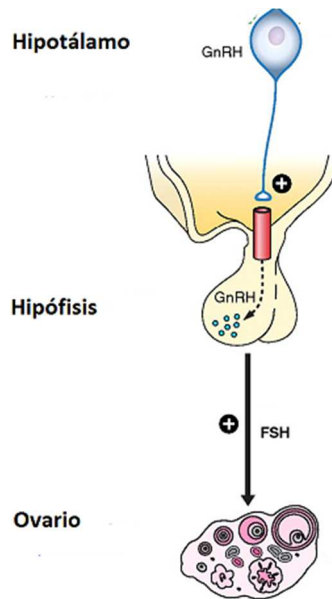


Figura 8. Esquema general del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Pinilla et al., 2012).

En este punto del ciclo es importante destacar el papel de la hormona anti-mülleriana (**AMH**), la cual se sintetiza por primera vez en las células de la granulosa de los folículos primarios unilaminares (Figura 9). Esta hormona continúa produciéndose en las células de la granulosa hasta que el folículo se transforma en un folículo primario multilaminar o preantral (Zylbersztein, 2004).

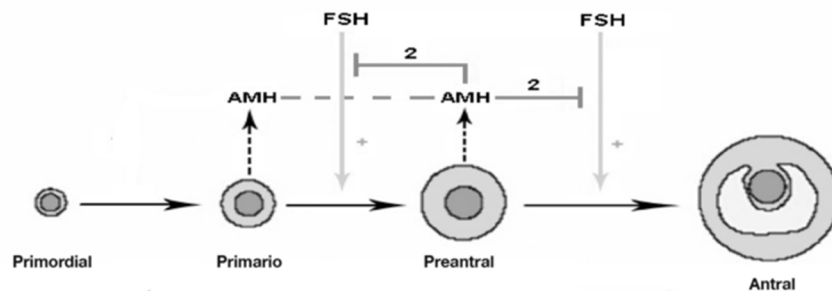


Figura 9. Esquema de la producción de AMH por los folículos primarios (Zylbersztein, 2004).

La AMH interfiere con la acción de la FSH impidiendo que se desarrollen más folículos y asegurando de este modo que se ovule un solo ovocito.

Del sexto al onceavo día del ciclo tiene lugar la fase folicular media, en la cual como consecuencia del desarrollo folicular comienza a aumentar el nivel de **estrógenos** e **inhibina B** (Figura 10), los cuales ejercen una retroalimentación negativa sobre el eje hipotálamo-hipófisis que determina una caída progresiva de FSH.

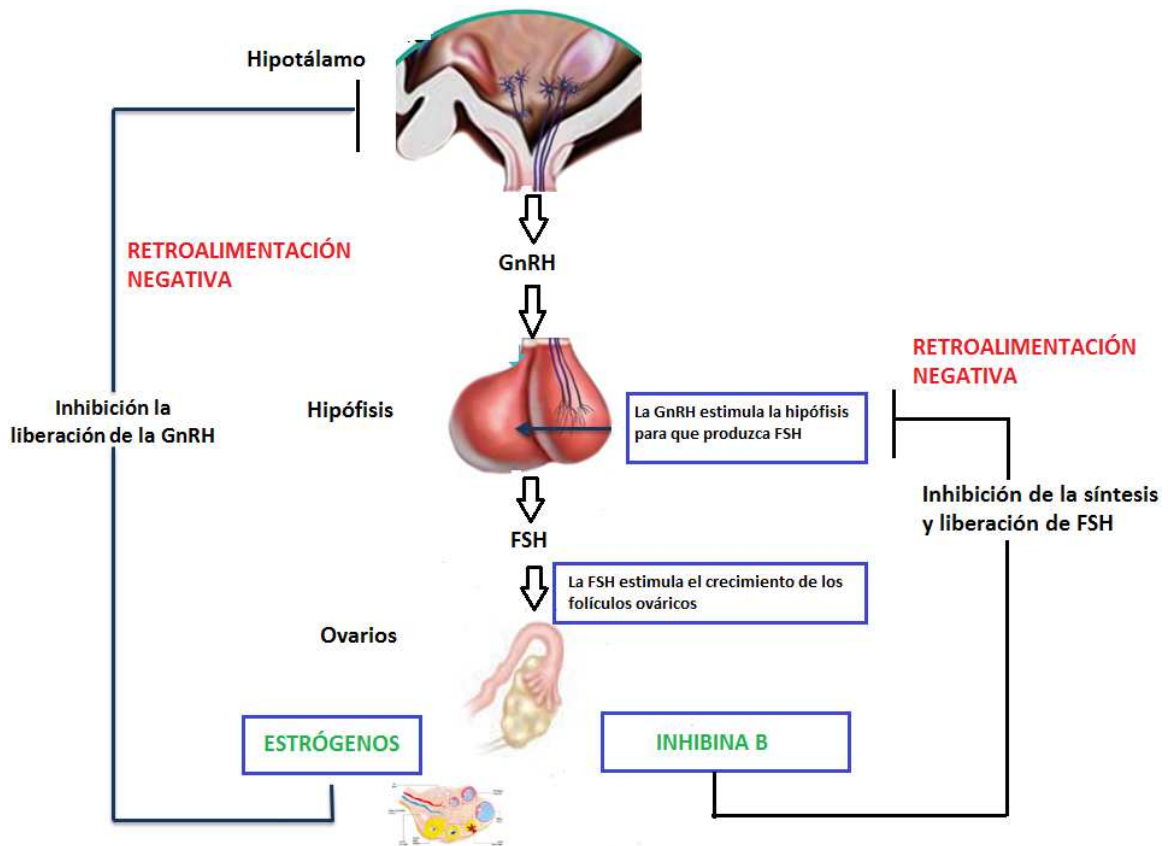


Figura 10. Esquema del eje hipotálamo-hipófisis-ovario durante la fase folicular media (Martínez, 2014).

La producción de estrógenos comienza en las células de la teca que convierten el colesterol en testosterona (Figura 11). Este andrógeno difunde a las células de la granulosa donde se convierte en estradiol por acción de la enzima aromatasa. El estradiol es capaz de unirse a receptores hipotalámicos provocando una caída en la producción de GnRH.

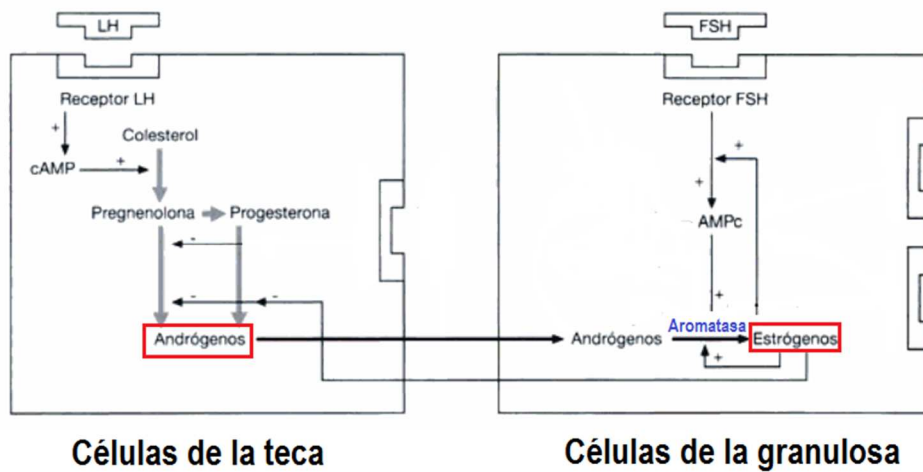


Figura 11. Producción de estrógenos en el folículo (González-Merlo et al., 2003).

Por su parte, la inhibina B es producida por las células de la granulosa de los folículos antrales y preantrales. Esta hormona actúa a nivel de la hipófisis mediante un mecanismo de retroalimentación negativa que interfiere en la expresión del gen que codifica la FSH (Kronenberg, 2009).

Inmediatamente después, comienza la fase folicular tardía que comprende del día once al día trece del ciclo. En este punto, cuando los niveles de estradiol alcanzan una concentración crítica, su acción inhibitoria pasa a ser activadora lo que induce un aumento de los niveles de la hormona luteinizante (**LH**) (Figura 12) (De la Torre, 2008).

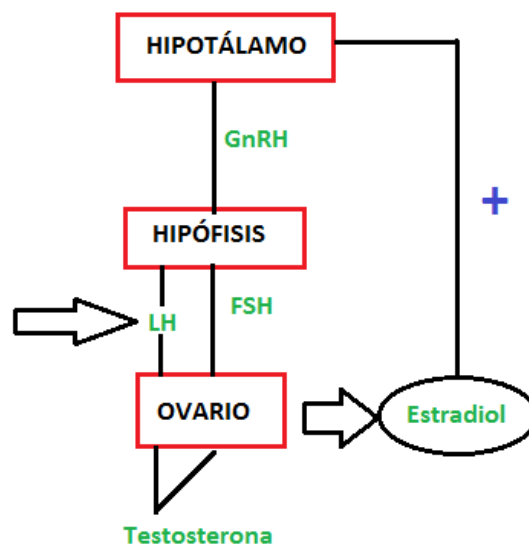


Figura 12. Cambios hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario durante la fase folicular tardía.

Este aumento de LH potencia la síntesis de testosterona por parte de las células de la teca. En consecuencia, se produce un gran aumento de la concentración de estrógenos (Donnersberger & Lesak, 2002). Esta producción de estradiol es tan importante que hacia el día 11 del ciclo determina un efecto de retroalimentación positivo sobre el eje hipotalámico que se manifiesta dado que a las 36 horas, la hipófisis responde con un pico muy alto de LH que causará la ovulación (Figura 13).

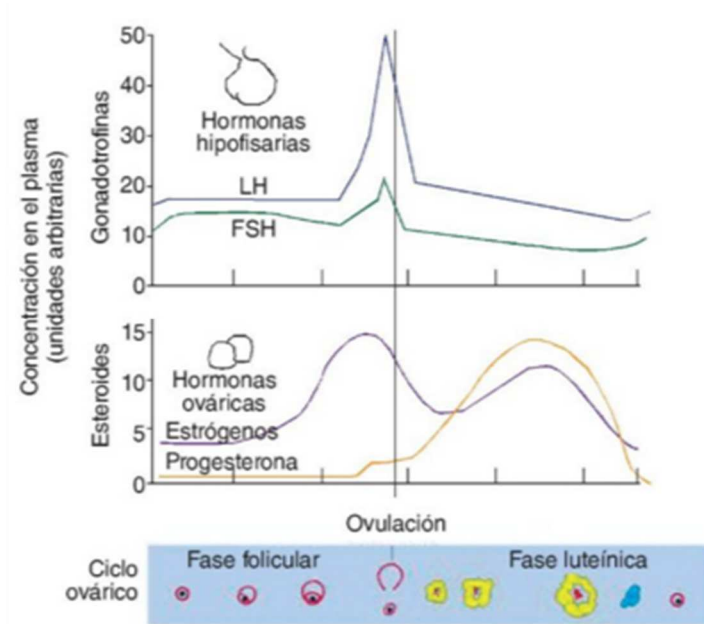


Figura 13. Cambios hormonales durante el ciclo menstrual. Obsérvese el aumento de los niveles de estrógenos que provocan el pico ovulatorio de LH (Mejía, 2013).

De manera general se puede afirmar que en este instante del ciclo sólo un folículo se está desarrollando, el resto ha sufrido un proceso de atresia folicular.

4.2.2 Ovulación

Este abrupto incremento de los niveles de LH lleva al ovocito a terminar la meiosis I y comenzar la meiosis II, pero se detendrá en esta fase 3 horas antes de que comience la ovulación. Por otro lado, como respuesta a los altos niveles de LH, se produce un aumento en los niveles de prostaglandinas que provocan contracciones musculares de la pared del ovario. El ovocito, junto con las células de la granulosa que lo rodean, es expulsado del ovario como consecuencia de dichas contracciones (Figura 14).

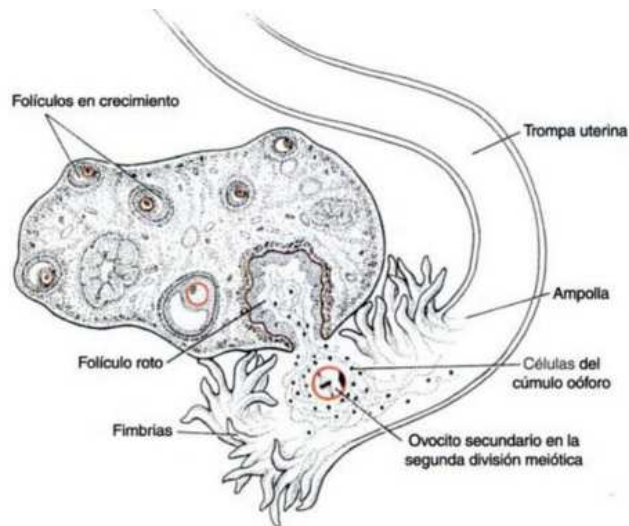


Figura 14. Esquema de la liberación del ovocito hacia las trompas uterinas (Sadler & Langman, 2007).

El ovocito secundario liberado es capturado por las fimbrias de las trompas de Falopio para ser llevado hacia el útero por las contracciones musculares de las trompas.

4.2.3 Fase lútea

El folículo, una vez expulsado el ovocito secundario, se llena de sangre coagulada transformándose en una estructura conocida como folículo hemorrágico que posteriormente dará lugar a un cuerpo lúteo (Figura 15). Este cuerpo lúteo secreta **progesterona** y **estrógenos** que tienen como función actuar sobre el endometrio del útero para prepararlo para posible la implantación del embrión (Sadler & Langman, 2007).

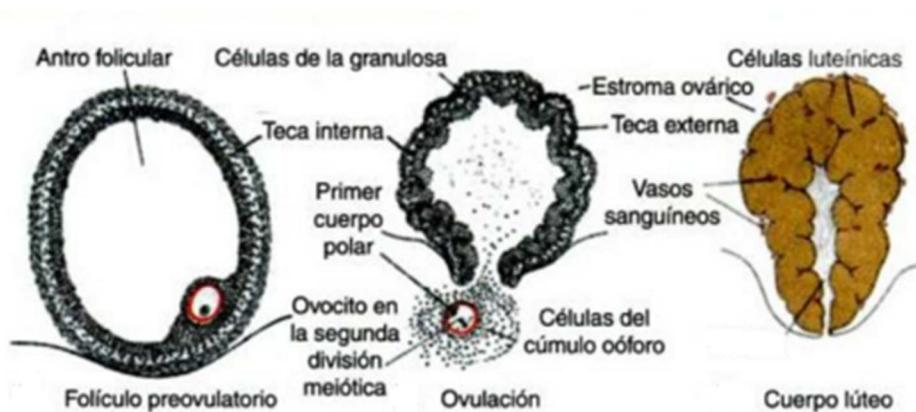


Figura 15. Evolución de un folículo preovulatorio hasta cuerpo lúteo (Sadler & Langman, 2007).

Lo más frecuente es que el ovocito no sea fecundado, por lo que el cuerpo lúteo disminuye de tamaño formando un tejido fibroso que recibe el nombre de cuerpo albicans. Este proceso produce una disminución de la cantidad de progesterona secretada, lo que desencadena la hemorragia menstrual (Sadler & Langman, 2007).

Existe la posibilidad de que el ovocito sea fecundado, por lo que alrededor de seis días después de la ovulación el embrión quedará implantado en el útero y comienza a producir **gonadotropina coriónica humana (GCH)** que va a estimular al cuerpo lúteo a transformarse en cuerpo lúteo de la gestación para que siga produciendo estrógenos y progesterona. De esta manera, esta hormona secretada por el embrión evita que se produzca la menstruación.

4.3 Baja reserva ovárica

La reserva ovárica puede definirse como “el potencial reproductivo de la mujer en términos de número de folículos ováricos y calidad ovocitaria” (Callejo & Coroleu, 2007).

Es una realidad que conforme aumenta la edad de la mujer se produce una disminución de la probabilidad de conseguir una gestación. Precisamente, esta disminución de la fertilidad femenina que está asociada con la edad está causada, en un gran número de casos, por la disminución de la reserva ovárica ya que el número de células germinales presentes en los ovarios disminuye progresivamente con la edad de la mujer (Figura 16) (Carlson, 2009).

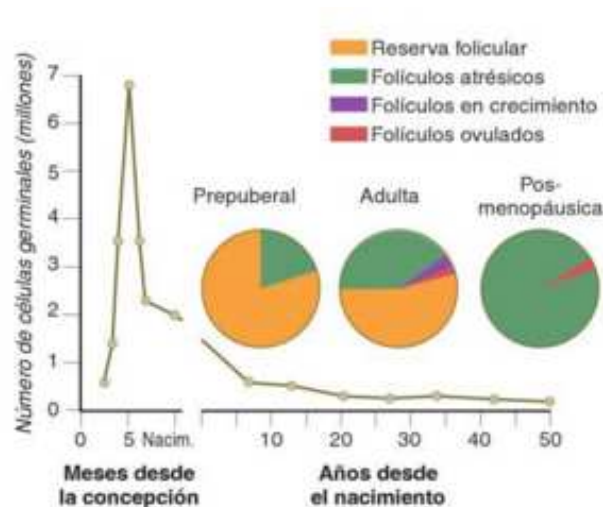


Figura 16. Variación en el número de células germinales presentes en los ovarios de la mujer desde la concepción hasta los 50 años de vida (Carlson, 2009).

Aunque es evidente que existe un paralelismo entre el aumento de la edad cronológica de una mujer y la disminución de su reserva ovárica, con frecuencia existe una discrepancia entre la denominada “edad biológica o gonadal” y la edad cronológica. Por esta razón, actualmente se están intentando dilucidar otras posibles causas de este problema (Urbina & Lerner, 2009).

Esta condición es asintomática y en general sólo se manifiesta cuando se produce una baja respuesta a la estimulación ovárica en el transcurso de alguna técnica de reproducción asistida. Estas pacientes, que en el marco de una hiperestimulación hormonal presentan una respuesta ovárica escasa, reciben el nombre de “bajas respondedoras” (Bajo, 2009).

4.3.1 Causas de baja reserva ovárica

Hasta la fecha, la baja reserva ovárica se ha asociado a numerosos factores como causas genéticas, tratamientos farmacológicos o cáncer; sin embargo, la mayoría de causas están todavía por dilucidar (Bajo, 2009).

Genéticas

Aproximadamente entre un 20-30% de las mujeres que presentan baja reserva ovárica tienen en su familia otra mujer afectada por la misma patología, lo que sugiere que esta enfermedad puede tener una predisposición genética (Martínez, 2012).

Existen numerosos estudios que indican que existe una relación entre en el gen *fragile X mental retardation 1 (FMR1)* y la baja reserva ovárica. Este gen es el causante del síndrome del X-Frágil y se caracteriza por presentar un número variable de repeticiones del triplete CGG (Figura 17). Cuando el número de repeticiones se encuentra entre 6 y 54, el fenotipo resultante es normal. Aquellos alelos que tienen un número de repeticiones entre 55 y 200 presentan el estado de “premutación” que no causaría el síndrome pero sí podría causar la enfermedad a su descendencia, ya que el número de repeticiones tiende a aumentar. Cuando el número de repeticiones excede de 200 se produce el síndrome de X-Frágil.

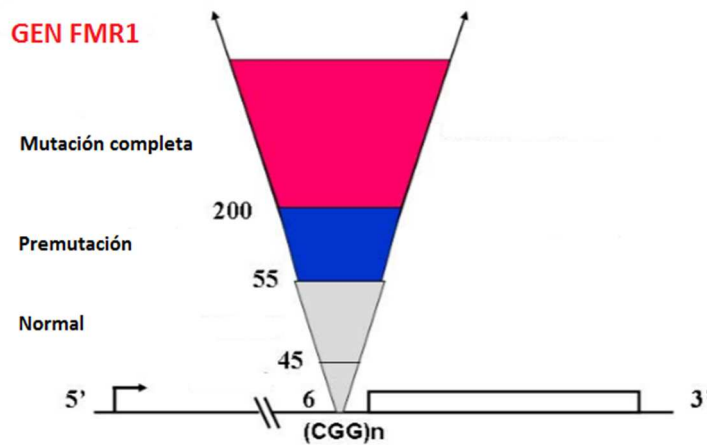


Figura 17. Esquema del gen FMR1 situado en el cromosoma X (Pintado, 2014).

Según diversos autores esta premutación del gen FMR1 aumenta el riesgo de padecer esta patología. Sin embargo, de manera sorprendente, las mujeres que presentan el síndrome X-Frágil no ven aumentada su probabilidad de padecerla. El mecanismo mediante el cual esta mutación aumenta el riesgo de sufrir baja reserva ovárica no es todavía conocido (Allingham-Hawkins et al., 1999; Marozzi et al., 2000; Murray et al., 1999).

También se ha encontrado una relación entre mujeres con baja reserva ovárica y polimorfismos en el gen del receptor de estrógenos 1 (**ESR1**) (Figura 18). Este gen codifica el receptor de estrógenos alfa que es un factor de transcripción que cuando se une a los estrógenos es capaz de inducir la expresión de determinados genes.

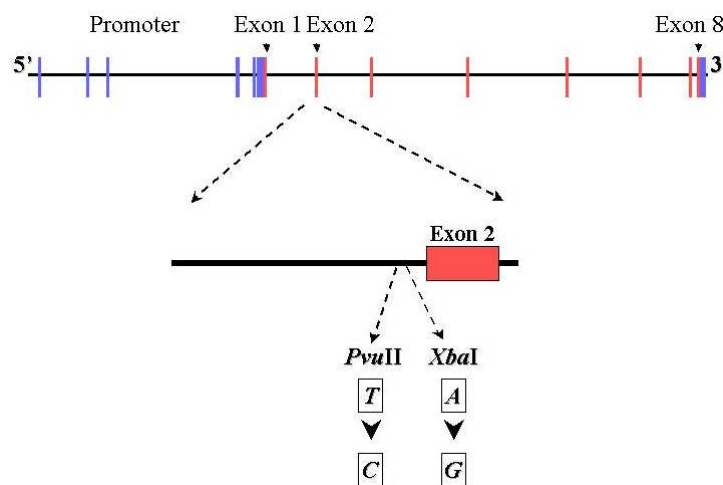


Figura 18. Esquema del gen ESR1 situado en el cromosoma 6 (Bone, 2006).

Existen dos polimorfismos en este gen que pueden aumentar la predisposición de una mujer a sufrir esta patología. Se ha propuesto que la proteína resultante tendría menor actividad, por tanto, la acción de los estrógenos en el hipotálamo se vería debilitada. Esto podría afectar a la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal y al correcto desarrollo folicular (Yang et al., 2010).

También existen evidencias de que el receptor de la hormona FSH puede estar implicado en esta patología. Este receptor está codificado por el gen *follicle stimulating hormone receptor* (**FSHR**). Se ha identificado un polimorfismo en la posición 680 cuya frecuencia es diferente entre mujeres fértiles y mujeres que han sido diagnosticadas con baja reserva ovárica. El cambio consiste en la permutación de un residuo de asparragina por uno de serina lo que afecta a la actividad del receptor y por tanto al correcto desarrollo de los folículos (Hasan et al., 2011).

Otro gen implicado es el gen **GALT** que codifica la enzima galactosa-1-P-uridiltransferasa implicada en el metabolismo de la galactosa. Una mutación en esta enzima produce galactosemia. En concreto, se ha encontrado una mutación en el residuo 188 (Q188R) que aumenta el riesgo de que la mujer presente baja reserva ovárica (Guerrero et al., 2000). La hipótesis propuesta afirma que las mujeres que presenten dicha mutación pueden tener variaciones en el patrón de glicosilación de la FSH, lo que hace que varíe la actividad de esta hormona (Prestoz et al., 1997).

Tratamientos farmacológicos

Recientemente se han descrito diversos tratamientos farmacológicos que tienen como consecuencia una disminución de la reserva ovárica. Un primer caso es el empleo de agentes antineoplásicos, entre los que destacan los agentes alquilantes como la **ciclofosfamida** para el tratamiento de la granulomatosis de Wegener. “El tratamiento oral con ciclofosfamida, incluso cuando es administrada por menos de seis meses, causa disminución de la reserva ovárica” (Clowse et al., 2011). Otro de los fármacos recientemente descritos que pueden provocar esta patología es la **isotretionina**, empleada actualmente para el tratamiento de acné severos (Aksoy et al., 2015).

Cáncer y tratamientos oncológicos

Aunque presentar baja reserva ovárica puede ocurrir como consecuencia de la exposición a agentes tóxicos o ambientales tales como el tabaco, la causa más común en cuanto a factores externos es la quimioterapia o la radioterapia ya que muchos de los agentes empleados son gonadotóxicos y provocan la apoptosis de los folículos maduros (Strier, 2014).

El tipo de cáncer, el tipo de fármaco empleado, la intensidad del tratamiento y la edad de la paciente son factores que determinan el riesgo de padecer baja reserva ovárica. Entre los agentes empleados, los alcaloides como vinblastina o los antimetabolitos como metrotexato tienen menos toxicidad gonadal que los agentes alquilantes como la ciclofosfamida (Strier, 2014).

Es importante destacar que se ha demostrado que mujeres que han sobrevivido a diversos tipos de cáncer infantil han sufrido una disminución de la reserva ovárica (Bath et al., 2003). De manera análoga, las pacientes que han sido sometidas a tratamientos de quimioterapia presentan niveles más bajos de la hormona AMH, lo que puede estar ligado a un descenso en su reserva ovárica (Charpentier et al., 2014; Gracia et al., 2012).

Autoinmunidad

Se han encontrado evidencias de que en algunos casos aislados la baja reserva ovárica se debe a falta de reconocimiento del sistema inmune hacia el propio ovario. En estos casos se han identificado anticuerpos circulantes contra el receptor de gonadotropinas, contra la zona pelúcida o contra el receptor de estrógenos (Robin, 2015).

Otras patologías

Hay numerosos estudios que indican que determinadas enfermedades provocan una disminución de la reserva ovárica, como es el caso de la tuberculosis genital (Malhotra et al., 2012), el síndrome metabólico (Balkan et al., 2014) o la diabetes tipo II (Isik et al., 2012) aunque las causas no están dilucidadas. Por otro lado, también es ampliamente cuestionado el papel de la obesidad en la fertilidad ya que se ha postulado que las mujeres con sobrepeso muestran niveles menores de gonadotropinas e inhibina, lo que sugiere efectos directos del índice de masa corporal sobre su reserva ovárica (De Pergola et al., 2006).

4.3.2 Estrategias diagnósticas: marcadores de reserva folicular

Es muy importante poder diagnosticar a las posibles pacientes para poner en marcha mecanismos que sean capaces de optimizar los resultados en un tratamiento de reproducción asistida (Bajo, 2009). El marcador idóneo de reserva folicular tiene que ser capaz de predecir la posibilidad de embarazo tras una técnica de reproducción asistida en aquellas pacientes en las cuales su esterilidad sólo es atribuible a una disminución de la reserva ovárica (Calderón et al., 2011).

Estas técnicas se engloban en dos grandes grupos dependiendo de los marcadores utilizados: ecográficos u hormonales (Bajo, 2009; Calderón et al., 2011).

Marcadores ecográficos

Se trata de técnicas que no son invasivas y son de fácil realización.

Medida del volumen ovárico

“La valoración ecográfica del volumen ovárico se ha relacionado con la respuesta ovárica en las técnicas de reproducción asistida” (Calderón et al., 2011), de forma que su reducción se acompaña de bajas tasas de ovocitos desarrollados. Se necesitan más estudios para poder concretar dicha relación aunque esta técnica se puede incluir en los protocolos de valoración inicial de aquellas pacientes potenciales a tratamientos de reproducción asistida.

Contaje de folículos ováricos

Esta técnica, junto con la medida del volumen ovárico, se pueden considerar marcadores muy precisos de reserva ovárica (Jayaprakasan et al., 2010; Laszlo et al., 2002). No obstante, es importante destacar que existen estudios que afirman que la precisión del contaje de folículos ováricos es ligeramente superior a la medida del volumen ovárico (Hendriks et al., 2007; Klinkert et al., 2005; Kwee et al., 2007). Esto, unido a la facilidad de realización de dicha técnica, sitúan esta estrategia como un procedimiento que se debe realizar de manera rutinaria a aquellas pacientes que se van a someter a un tratamiento de reproducción asistida así como a mujeres que desean posponer su maternidad (Calderón et al., 2011).

Marcadores hormonales

Los marcadores hormonales pueden diferenciarse a su vez en dos subgrupos fundamentales.

A. Pruebas estáticas

Están basadas en la determinación basal de algunas hormonas en el suero de la paciente. Según las recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, estos niveles sólo tienen un valor orientativo en la predicción de la reserva ovárica.

FSH

Esta estrategia consiste en la determinación en suero de los niveles de FSH en el segundo o tercer día del ciclo (Calderón et al., 2011). Los valores de FSH de una paciente sana en estos días se encuentran entre 3 y 8 mIU/ml. Sin embargo, se ha postulado que en mujeres donde la reserva ovárica es insuficiente la hipófisis intenta compensar esta situación produciendo mayores cantidades de FSH para intentar estimular a los folículos. En consecuencia, las pacientes que presentan niveles de FSH por encima de 10 mIU/ml en estos días del ciclo podrían presentar una baja reserva ovárica (De Koning et al., 2008).

Estradiol

Esta técnica se basa en medir los valores de estradiol el tercer día del ciclo. Los valores normales de esta hormona en la fase folicular temprana son de 25-70 pg/ml. En contraposición, cuando dichos valores se encuentran por encima de 70-80 pgr/ml se predice una baja reserva ovárica. Esto se debe a que los altos niveles de FSH producidos por la hipófisis provocan que los folículos se desarrollen demasiado rápido, por lo que se incrementan los niveles de estradiol los primeros días del ciclo (Roberts et al., 2005).

Hormona antimülleriana (AMH)

Los niveles séricos de AMH sufren una mínima fluctuación a lo largo del ciclo tal y como se demostró en un estudio en el cual se midieron los niveles de esta hormona en 12 mujeres durante todo el ciclo menstrual (Figura 19) (La Marca et al., 2003). En consecuencia, es indiferente el día en el que se tome la muestra lo que supone una ventaja frente a otras técnicas.

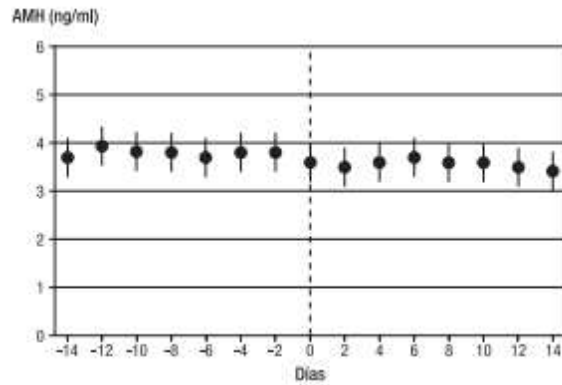


Figura 19. Representación de la variación de los niveles de AMH durante el ciclo menstrual femenino (La Marca et al., 2006).

En este caso el valor descrito para presentar baja reserva ovárica se encuentra en 1,4 ng/ml aunque el problema es que no existe un valor límite de referencia que sea admitido de manera internacional, por lo que los resultados encontrados en la bibliografía son dispares (Bonilla et al., 2009).

Tal y como se indicó anteriormente, su función consiste en regular el paso de los folículos preantrales a folículos antrales por lo que su nivel representaría teóricamente la reserva de folículos primarios (Carvajal et al., 2012; Unger & Pizzoglio, 2010). Por tanto, sus niveles descienden de manera progresiva con la edad, llegando a ser nulos e indetectables en la menopausia (Figura 20) (La Marca et al., 2009).

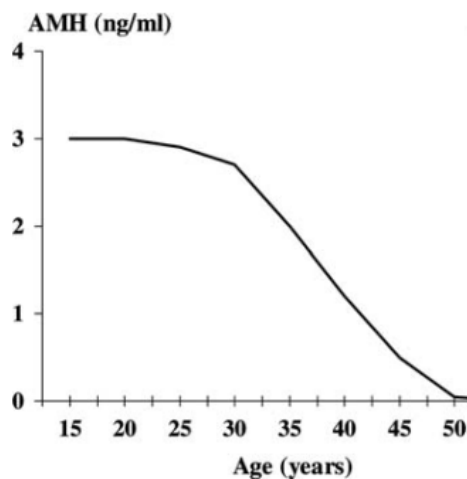


Figura 20. Reducción de los niveles de AMH en suero a lo largo de la vida de una mujer (La Marca et al., 2009).

Inhibina B

Esta técnica consiste en medir los niveles de esta hormona el tercer día del ciclo. Cuando el valor se encuentre por debajo de 45 pg/ml podrá ser predictor de un número menor de folículos presentes y por tanto de una menor reserva ovárica (Calderón et al., 2011). Tal y como se afirmó anteriormente, la inhibina B es secretada por las células de la granulosa de los folículos antrales y preantrales, por tanto, su concentración sérica va disminuyendo con la edad. De manera análoga, se puede afirmar que los niveles de esta hormona son más bajos en mujeres con baja reserva ovárica en comparación con pacientes sanas (Hofmann et al., 1998; Tan et al., 2011).

B. Pruebas dinámicas

Este conjunto de pruebas están basadas en la determinación de FSH y estradiol antes y después de someter al eje hipotálamo-hipófisis-ovario a un estímulo.

Test de estimulación con citrato de clomifeno

El citrato de clomifeno es un antagonista de los estrógenos y actúa uniéndose a los receptores estrogénicos que se encuentran en el hipotálamo (Figura 21). Esta unión interfiere con el mecanismo de retroalimentación negativa de los estrógenos, provocando que aumente la secreción de GnRH, lo que se traduce en un aumento en la síntesis de FSH (Fleischer, 1999; Matorras et al., 2008).

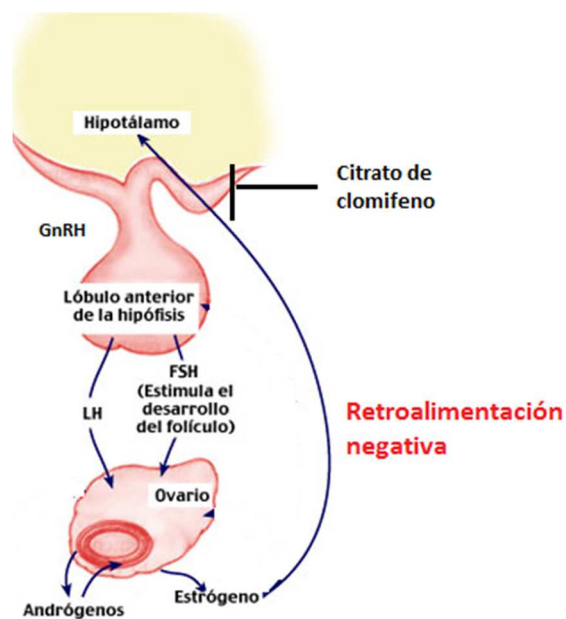


Figura 21. Regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario con citrato de clomifeno.

(De la Cruz, 2015).

Esta técnica se lleva a cabo administrando el citrato de clomifeno los días quinto a noveno del ciclo. La determinación de los niveles de FSH se realiza los días tercero y décimo de ese mismo ciclo (Figura 22).

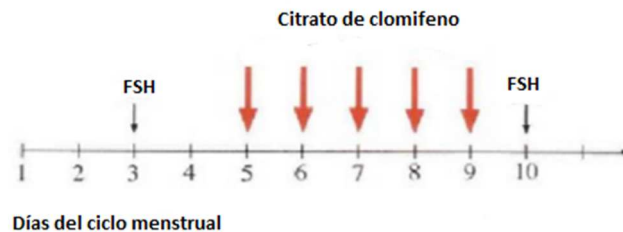


Figura 22. Esquema de aplicación del citrato de clomifeno y mediciones del nivel de FSH (Sovino et al., 2003).

Se define un resultado normal, en el que los ovarios responden correctamente, cuando el aumento de FSH producido por este fármaco es contrarrestado por el efecto de la inhibina que se produce en los folículos. Sin embargo, en mujeres con baja reserva ovárica, como existen menos folículos se producen niveles más bajos de inhibina B y no tiene lugar una disminución en los niveles de FSH (Hofmann et al., 1998). En consecuencia, en este caso se consideran mujeres con baja reserva ovárica aquellas que tienen un nivel de FSH mayor de 26 mUI/ml cuando se suman los valores del día tercero y décimo (Bonilla et al., 2009).

Estimulación con análogos de la GnRH

Esta prueba de estimulación con análogos de la GnRH se basa en la capacidad de estos fármacos de estimular la liberación de las hormonas FSH y LH (Figura 23) lo que se traduce en una elevación del nivel de estrógenos en sangre (Vital, 2010).

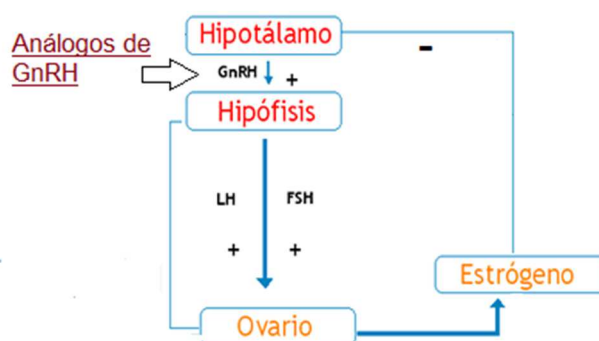


Figura 23. Regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario con análogos de GnRH (Ríos, 2005).

En cuanto al modo de administración, éste consiste en medir el estradiol basal y aplicar el análogo los días 3, 4 o 5 del ciclo menstrual y realizar de nuevo las medidas 24 horas después (Figura 24) (Calderón et al., 2011).

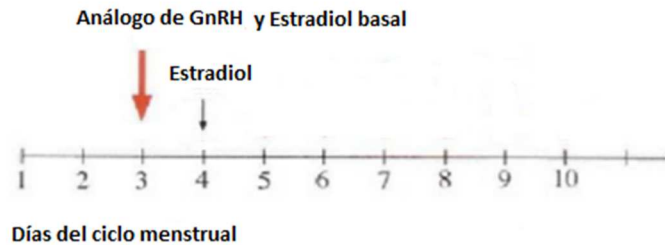


Figura 24. Esquema de aplicación de análogo de GnRH y mediciones del nivel de estradiol basal.

Se considera que los resultados son adecuados cuando se puede apreciar un aumento significativo de los niveles de estradiol, superior a 80 pg/ml ya que es indicativo de que existe un buen número de folículos así como una buena actividad folicular esteroidogénica (Scheffer et al., 2003). Sin embargo, no existen suficientes evidencias que apoyen esta prueba en la evaluación de la reserva ovárica ya que los resultados no son capaces de predecir de una manera fiable el logro de embarazo. Por otro lado, también presenta numerosas críticas debido a su elevado precio (Broekmans et al., 2006).

Estimulación con FSH

Esta técnica consiste en evaluar la reserva ovárica de manera indirecta, es decir, mediante la capacidad esteroidogénica folicular que presenta la paciente (Broekmans et al., 2006). En cuanto al modo de administración, se miden las concentraciones basales de estradiol el segundo día del ciclo y 24 horas después se añade la FSH. El quinto día del ciclo se realiza la medida del nivel de estradiol (Figura 25).

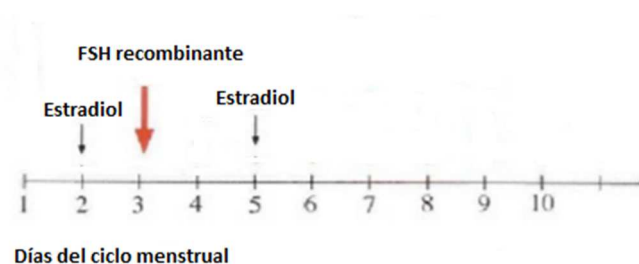


Figura 25. Esquema de la aplicación de FSH recombinante.

Una paciente que presente una reserva ovárica adecuada sufrirá un aumento del nivel de estradiol hasta 30 pg/ml como consecuencia de la FSH administrada. En contraposición, si el nivel de estrógenos se mantienen sin variación puede ser un indicador de que existe baja reserva ovárica (Broekmans et al., 2006).

Es importante destacar que este test no está indicado para su empleo rutinario, debido a los altos costes y al alto riesgo que posee de inducir hiperestimulación ovárica (Kwee et al., 2006).

4.3.3 Posibles tratamientos u opciones terapéuticas en pacientes con baja reserva ovárica

Tal y como se indicó anteriormente, la baja reserva ovárica suele ser diagnosticada cuando en el transcurso de una estimulación ovárica no se obtienen suficientes óvulos o éstos son de mala calidad. Por tanto, todas las estrategias descritas son terapias coadyuvantes que se emplearían junto con el proceso de estimulación y están enfocadas a aumentar el desarrollo folicular y obtener así un mayor número de óvulos (García & Callejo, 2010).

En la actualidad no se dispone de una opción terapéutica que se emplee de manera general y rutinaria en estas pacientes. Se exponen a continuación las estrategias disponibles.

Inhibidores de la aromatasa

La aromatasa, tal y como se describió anteriormente, es una enzima que cataliza la aromatización de los andrógenos convirtiéndolos en estrógenos. Esta enzima se encuentra en múltiples tejidos por lo que los inhibidores utilizados en las técnicas de reproducción son selectivos de la aromatasa que se encuentra en las células de la granulosa (Delgado et al., 2003).

Este inhibidor debería usarse durante la fase folicular media ya que esta estrategia se sustenta sobre dos pilares: en primer lugar, al bloquear a la aromatasa disminuye el estradiol circulante por lo que se libera al hipotálamo del feed-back negativo al que está sometido, se libera más GnRH y por tanto se produce un aumento en la secreción de FSH (Figura 26). En segundo lugar, se produce una acumulación de andrógenos en los

folículos lo que podría aumentar la respuesta de ellos a la estimulación ya que se induce la síntesis de receptores para FSH (Mitwally & Casper, 2003).

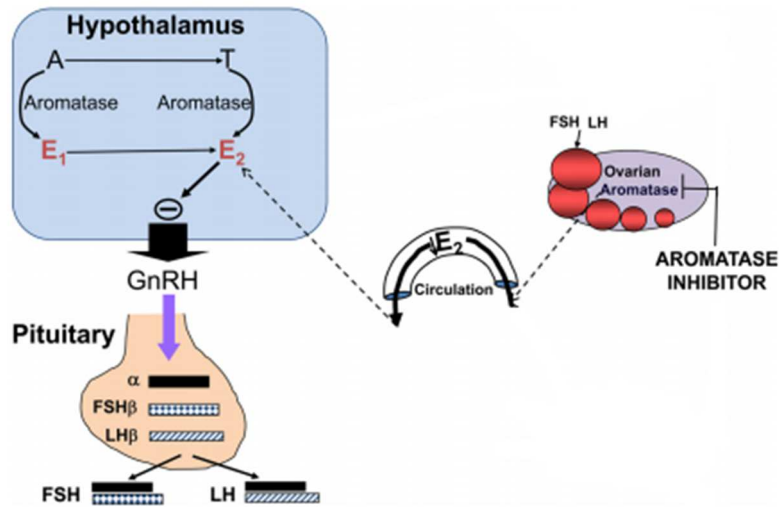


Figura 26. Actuación del inhibidor de la aromatasa sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Pavone & Bulun, 2013).

Por estas razones se propone su utilización en mujeres que presentan baja reserva ovárica aunque actualmente no hay datos que evidencien su éxito en dichas pacientes. Sin embargo, existen estudios que indican que esta técnica presenta buenos resultados en pacientes que previamente no habían conseguido un embarazo con otras técnicas de estimulación (García-Velasco et al., 2005).

Deshidroepiandrosterona

La deshidroepiandrosterona (DHEA) es una hormona adrenocortical que actúa como precursor de las hormonas esteroideas naturales como la testosterona o los estrógenos. Presenta un pico entorno a los 25 años y su concentración disminuye progresivamente con la edad (Bajo, 2009). A partir del conocimiento de este hecho se propuso que podría actuar como precursora de la fertilidad ya que si su nivel es bajo, los niveles de estrógenos también lo serán (Casson et al., 2000; Mamas & Mamas, 2009).

Actualmente, existen evidencias de cinco mujeres que presentaban baja reserva ovárica y tras el tratamiento con DHEA han logrado tener descendencia (Mamas & Mamas, 2009).

Donación de óvulos

Cuando con las técnicas descritas previamente no se consigue obtener suficientes óvulos o éstos no son de buena calidad, la única alternativa disponible para conseguir un embarazo sería recurrir a la donación de óvulos. Esta técnica aumenta hasta en un 80% las posibilidades de lograr un embarazo.

La donación de óvulos es la entrega altruista y anónima de óvulos de una mujer a otra con el objetivo de que ésta última pueda quedar embarazada y tener un hijo. En este proceso se emplean los óvulos de una mujer que sea fenotípicamente similar e inmunológicamente compatible con la receptora. El equipo médico escogería aquellos óvulos que sean de mejor calidad y mediante la técnica de Fecundación In Vitro se fertilizaría este óvulo en el laboratorio para posteriormente implantarlo en el útero de la mujer aceptora (García, 2012).

4.3.4 Nuevas perspectivas de futuro para el tratamiento de baja reserva ovárica: células madre ováricas

En el año 2004, el descubrimiento de la existencia de unas células madre ováricas en la corteza ovárica de ratón supuso un avance muy importante en el campo de la fecundación asistida (Johnson et al., 2004). Posteriormente se consiguió aislar estas células murinas, mantenerlas en cultivo y trasplantarlas en ratones infértiles. Estos ratones lograron tener descendencia, lo que demostraba su potencial (Zou et al., 2009).

Este hecho abrió una puerta en la búsqueda de una solución definitiva a este problema ya que si se encontraban células madre ováricas humanas podrían ser una fuente inagotable de óvulos. Un estudio afirmó que las mujeres tenían la misma capacidad que las hembras de ratón, es decir, defendía la existencia de células madre ováricas humanas que eran capaz de generar óvulos de una manera ilimitada (White et al., 2012). Estas células se encontrarían en la corteza del ovario en muy pequeña proporción. Este grupo empleó tejido ovárico de pacientes a las que se les había extirpado los ovarios como parte de una cirugía de reasignación sexual. Estas células se cultivaban y espontáneamente generaban colonias de células germinales similares a los ovocitos. Posteriormente, estas células se transferían a tejidos ováricos injertados en ratones y eran capaces de desarrollar folículos.

Este descubrimiento refutaría una longeva teoría científica ya que de este modo las mujeres no nacerían con una cantidad de óvulos determinada que se va agotando hasta alcanzar la menopausia, sino que estas células podrían servir como una fuente inagotable de los mismos.

La gran utilidad clínica que tendrían las células madre ováricas para reponer los ovocitos en mujeres que presenten baja reserva ovárica ha supuesto una gran esperanza tanto para pacientes como para especialistas en medicina reproductiva. Sin embargo, es una solución que sólo podría aplicarse a largo plazo: en primer lugar, sería necesario comprender y dilucidar las vías por las cuales estas células son capaces de generar ovocitos en el ovario. En segundo lugar, se tendría que demostrar que estos ovocitos obtenidos pueden ser fertilizados y son capaces de dar lugar a embriones sanos.

A pesar de todos los inconvenientes, es una opción muy prometedora con la que se pretende dar solución a un problema de tanta importancia actual como es la baja reserva ovárica.

5. Conclusiones

La infertilidad en una pareja puede radicar en la mujer, en el hombre o en ambos. En cuanto a la infertilidad femenina, esta puede ser debida a diferentes motivos, siendo la baja reserva ovárica uno de los problemas más estudiados actualmente. Esta está causada por diversos factores, entre los que destacan los factores genéticos, tratamientos farmacológicos, tratamientos oncológicos y en menor medida, problemas autoinmunes.

En cuanto a las estrategias diagnósticas, se ha demostrado que los marcadores ecográficos son los que más ventajas presentan debido a la fiabilidad de los resultados y a la facilidad de realización de la técnica. Por su parte, los marcadores hormonales estáticos sólo tienen un valor predictivo, en ningún caso pueden ser empleados para la valoración de la reserva ovárica de una paciente. En el caso de los marcadores hormonales dinámicos, sólo el citrato de clomifeno podría ser empleado de manera rutinaria ya que la estimulación con FSH exógena tiene un alto riesgo de causar hiperestimulación ovárica y no existen evidencias de que el empleo de análogos de GnRH ofrezca resultados fiables.

Actualmente ninguno de los métodos terapéuticos disponibles ofrecen una solución universal o generalizada para las pacientes que presentan baja reserva ovárica, sólo se pueden emplear como terapias auxiliares en la estimulación ovárica ya que ninguna de las técnicas es capaz de regenerar u aumentar la cantidad de óvulos disponibles. Sin embargo, el descubrimiento en el año 2012 de la existencia de células madre ováricas humanas se propone como una solución muy prometedora y posiblemente definitiva para el problema de la baja reserva ovárica, aunque la realidad es que desafortunadamente queda un largo camino todavía para que estas células puedan ser usadas de manera segura para preservar la fertilidad.

6. Bibliografía

Aksoy, H., Cinar, L., Acmaz, G., Aksoy, U., Aydin, T., Vurdem, U. E., ... Kartal, D. (2015).

The effect of isotretinoin on ovarian reserve based on hormonal parameters, ovarian volume, and antral follicle count in women with acne. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 79(2), 78–82. doi: 10.1159/000371551.

Allingham-Hawkins, D. J., Babul-Hirji, R., Chitayat, D., Holden, J. J., Yang, K. T., Lee, C., ...

Vieri, F. (1999). Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International Collaborative POF in Fragile X study--preliminary data. *American Journal of Medical Genetics*, 83(4), 933–325.

Arce, V., Pablo, C. & Mallo, F. (2006). *Endocrinología* (1ª ed.). Santiago de Compostela:

Universidad Santiago de Compostela.

Arteaga, M. & García, M. I. (2013). *Embriología Humana y Biología Del Desarrollo*.

México DF: Panamericana.

Bajo, J. M. (2009). *Fundamentos de Reproducción* (1ª ed.). Madrid: Panamericana.

Balkan, F., Cetin, N., Usluogullari, C. A., Unal, O. K. & Usluogullari, B. (2014). Evaluation of the ovarian reserve function in patients with metabolic syndrome in relation to healthy controls and different age groups. *Journal of Ovarian Research*, 7(1).

doi:10.1186/1757-2215-7-63.

Bath, L. E., Wallace, W. H. B., Shaw, M. P., Fitzpatrick, C. & Anderson, R. A. (2003).

Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in

childhood: Detection by anti-müllerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Human Reproduction*, 18(11), 2368–2374.
doi: 10.1093/humrep/deg473.

Bone, J. (2006). Genes & Polymorphisms. Disponible en <http://www.genomos.eu/?page=history#ESR1> (accedido el 1 de mayo de 2016).

Bonilla, F., Dolz, M., Moreno, J. & Raga, F. (2009). *Reproducción Asistida* (1ª ed.). Madrid: Panamericana.

Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J., Mol, B. W. & Lambalk, C. B. (2006). A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update*, 12(6), 685–718. doi: 10.1093/humupd/dml034.

Calderón, M. A., Romero, B. & Moreno, M. D. (2011). Marcadores de reserva folicular. Disponible en http://www.hvn.es/servicios_asistenciales/ginecologia_y_obstetricia/ficheros/curso2011_reprod_02_marcadores_reserva_folicular.pdf (accedido el 13 de marzo de 2016).

Callejo, J. & Coroleu, B. (2007). *Fallo ovárico prematuro*. Madrid: Panamericana.

Carlson, B. (2009). *Embriología Humana y Biología del Desarrollo* (4ª ed.). Madrid: Elsevier.

Carvajal, R., Alba, J. F., Cortínez, A., Carvajal, A., Miranda, C., Romero, C. & David, B. (2012). Niveles de hormona antimülleriana y factor neurotrófico derivado del cerebro como predictores de función ovárica. *Revista Hospital Clínico Universidad de Chile*, 23(1), 159–167.

Casson, P., Lindsay, M., Pisarska, M. & Buster, J. (2000). Dehydroepiandrosterone supplementation augments ovarian stimulation in poor responders: a case series. *Human Reproduction*, 15(10), 2129–2132.

Charpentier, A. M., Chong, A. L., Gingras-Hill, G., Ahmed, S., Cigsar, C., Gupta, A. A., ... Hodgson, D. C. (2014). Anti-müllerian hormone screening to assess ovarian reserve among female survivors of childhood cancer. *Journal of Cancer*

Survivorship, 8(4), 548–554. doi: 10.1007/s11764-014-0364-4.

Clowse, M., Copland, S., Hsieh, T., Chow, S., Hoffman, G., Merkel, P., ... Stone, J. (2011). Oral Cyclophosphamide Therapy diminishes ovarian reserve in women with Granulomatosis with polyangiitis. *Arthritis Care Research*, 63(12), 1777–1781. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3593-07.2007.Omega-3.

De Koning, C. H., McDonnell, J., Themmen, A. P. N., De Jong, F. H., Homburg, R. & Lambalk, C. B. (2008). The endocrine and follicular growth dynamics throughout the menstrual cycle in women with consistently or variably elevated early follicular phase FSH compared with controls. *Human Reproduction*, 23(6), 1416–1423. doi: 10.1093/humrep/den092.

De la Cruz, C. (2015). Fisiología del sistema reproductor femenino. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos85/fisiologia-sistema-reproductor-femenino/fisiologia-sistema-reproductor-femenino.shtml#top> (accedido el 3 de febrero de 2016).

De la Torre, M. (2008). *Regulación neurohormonal de la función reproductora*. Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

De Pergola, G., Maldera, S., Tartagni, M., Pannacciulli, N., Loverro, G. & Giorgino, R. (2006). Inhibitory effect of obesity on gonadotropin, estradiol, and inhibin B levels in fertile women. *Obesity*, 14(11), 1954–1960. doi: 10.1038/oby.2006.228.

Delgado, A., Minguillón, C. & Joglar, J. (2003). *Introducción a la química terapéutica* (2ª ed.). Madrid: Ediciones Díaz de Santos.

Donnersberger, A. & Lesak, A. (2002). *Libro de laboratorio de anatomía y fisiología* (1ª ed.). Barcelona: Paidotribo.

Educar hoy. (2015). ¿Cómo es el ciclo menstrual femenino?. Disponible en <http://www.educarhoy.org/respuestas/detalle/454> (accedido el 25 de febrero de 2016).

Fleischer, A. (1999). *Imágenes en ginecología* (1ª ed.). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

- García, J. A. (2012). *Quiero ser madre: Los secretos de la fertilidad* (1ª ed.). Madrid: Grupo Planeta.
- García, J. A. & Callejo, J. (2010). *Estimulación ovárica en técnicas de reproducción asistida* (1ª ed.). Madrid: Glosa.
- García-Velasco, J. A., Moreno, L., Pacheco, A., Guillén, A., Duque, L., Requena, A. & Pellicer, A. (2005). The aromatase inhibitor letrozole increases the concentration of intraovarian androgens and improves in vitro fertilization outcome in low responder patients: A pilot study. *Fertility and Sterility*, *84*(1), 82–87. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.01.117.
- González-Merlo, J., González, E. & González, J. (2003). *Ginecología*. Madrid: Elsevier.
- Gracia, C., Sammel, M., Freeman, E., Prewitt, M., Carlson, C., Ray, A., ... Ginsberg, J. P. (2012). Impact of cancer therapies on ovarian reserve. *Fertility and Sterility*, *97*(1), 134–140. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.040.
- Guerrero, N., Singh, R., Manatunga, A., Berry, G., Steiner, R. & Elsas, L. (2000). Risk factors for premature ovarian failure in females with galactosemia. *Journal of Pediatrics*, *137*(6), 833–841. doi: 10.1067/mpd.2000.109148.
- Hasan, M., Eftekhar, M. & Mehdi, S. (2011). Investigating the association between polymorphism of follicle-stimulating hormone receptor gene and ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation. *Human Reproduction*, *4*(2), 86–90.
- Hendriks, D. J., Kwee, J., Mol, B. W. & Broekmans, F. J. (2007). Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertility and Sterility*, *87*(4), 764–775. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.11.006.
- Hofmann, G. E., Danforth, D. R. & Seifer, D. B. (1998). Inhibin-B: The physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertility and Sterility*, *69*(3), 474–477. doi: 10.1016/S0015-0282(97)00531-1.
- Isik, S., Ozcan, H. N., Ozuguz, U., Tutuncu, Y. A., Berker, D., Alimli, A. G., ... Guler, S.

- (2012). Evaluation of ovarian reserve based on hormonal parameters, ovarian volume, and antral follicle count in women with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(1), 261–269.
- Jayaprakasan, K., Campbell, B., Hopkisson, J., Johnson, I. & Raine-Fenning, N. (2010). A prospective, comparative analysis of anti-müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertility and Sterility*, 93(3), 855–864.
- Johnson, J., Canning, J., Kaneko, T. & Tilly, J. (2004). Germinal stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature*, 428(6979), 145–150.
- Junqueira, L. & Carneiro, J. (2005). *Histología Básica* (6ª ed.). Barcelona: Masson.
- Klinkert, E. R., Broekmans, F. J. M., Looman, C. W. N., Habbema, J. D. F. & Te Velde, E. R. (2005). The antral follicle count is a better marker than basal follicle-stimulating hormone for the selection of older patients with acceptable pregnancy prospects after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 83(3), 811–814.
- Kronenberg, H. (2009). *Williams: Tratado de endocrinología* (9ª ed.). Madrid: Elsevier.
- Kwee, J., Elting, M. E., Schats, R., McDonnell, J. & Lambalk, C. B. (2007). Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 5(9). doi: 10.1186/1477-7827-5-9
- Kwee, J., Schats, R., McDonnell, J., Schoemaker, J. & Lambalk, C. B. (2006). The clomiphene citrate challenge test versus the exogenous follicle-stimulating hormone ovarian reserve test as a single test for identification of low responders and hyperresponders to in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 85(6), 1714–1722. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.11.053.
- La Marca, A., Sighinolfi, G., Radi, D., Argento, C., Baraldi, E., Arsenio, A. C., ... Volpe, A. (2009). Anti-müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update*, 16(2), 113–30.

- La Marca, A., Stabile, G., Carducci, A. & Volpe, A. (2006). Serum anti-müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Human Reproduction*, 21(12), 3103–3107. doi: 10.1093/humrep/del291.
- Laszlo, F., Bancsi, L. F., Broekmans, F. J., Eijkemans, M. J. C., De Jong, F. H., Habbema, J. D. & Te Velde, E. R. (2002). Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: A prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertility and Sterility*, 77(2), 328–336.
- Malhotra, N., Sharma, V., Bahadur, A., Sharma, J. B., Roy, K. K. & Kumar, S. (2012). The effect of tuberculosis on ovarian reserve among women undergoing IVF in India. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 117(1), 40–44. doi: 10.1016/j.ijgo.2011.10.034.
- Mamas, L. & Mamas, E. (2009). Premature ovarian failure and dehydroepiandrosterone. *Fertility and Sterility*, 91(2), 644–646.
- Marozzi, A., Vegetti, W., Manfredini, E., Testa, G., Ginelli, E., Meneveri, R. & Dalpà, L. (2000). Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Human Reproduction*, 15(1), 197–202.
- Martínez, V. M. (2014). Fisiología para medicina. Disponible en: <http://victorgrupo5.blogspot.com.es/search?q=eje+hipotalamo+hipofisis> (accedido el 15 de febrero de 2016).
- Martínez, M. C. (2012). Genética aplicada a la reproducción humana. *Eubacteria*. Disponible en http://www.um.es/eubacteria/genetica_reproduccion_humana.pdf (accedido el 16 de marzo de 2016).
- Matorras, R., Hernández, J. & Molero, D. (2008). *Tratado de Reproducción Humana para Enfermería*. Buenos Aires: Panamericana.
- Mejía, M. (2013). Regulación hormonal del ciclo menstrual femenino. Madrid. Disponible en <http://www.apotecalia.es/blog/regulacion-hormonal-del-ciclo-menstrual-femenino/> (accedido el 25 de Marzo de 2016).
- Mitwally, M. & Casper, R. (2003). Aromatase inhibitors for the treatment of infertility.

Expert Opinion on Investigational Drugs, 12(3), 353–371.

- Morales Martínez F. (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.
- Murray, A., Webb, J., Dennis, N., Conway, G. & Morton, N. (1999). Microdeletions in FMR2 may be a significant cause of premature ovarian failure. *Journal of Medical Genetics*, 36(10), 767–770. doi: 10.1136/jmg.36.10.767.
- Pavone, M. E. & Bulun, S. E. (2013). The use of aromatase inhibitors for ovulation induction and superovulation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(5), 1838–1844. doi: 10.1210/jc.2013-1328.
- Pinilla, L., Aguilar, E., Dieguez, C., Millar, R. P. & Tena-Sempere, M. (2012). Kisspeptins and reproduction: Physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiological Reviews*, 92(3), 1235–1316. doi: 10.1152/physrev.00037.2010.
- Pintado, E. (2014). *El gen del X frágil y sus patologías*. Universidad de Sevilla.
- Prestoz, L., Couto, A., Shin, Y. & Petry, K. (1997). Altered follicle stimulating hormone isoforms in female galactosaemia patients. *European Journal of Pediatrics*, 156(2), 116–120. doi: 10.1007/s004310050568.
- Ríos, R. (2005). *Endocrinología- Hipogonadismo*. Universidad de Chile. Disponible en http://www.basesmedicina.cl/endocrinologia/421_endocrinologia/contenidos.htm (accedido el 19 de marzo de 2016).
- Roberts, J. E., Spandorfer, S., Fasouliotis, S. J., Kashyap, S. & Rosenwaks, Z. (2005). Taking a basal follicle-stimulating hormone history is essential before initiating in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 83(1), 37–41. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.06.062.
- Robin, A. (2015). *Fallo ovárico prematuro y autoinmunidad*. Instituto de Análisis Fares TAIE.
- Sadler, T. & Langman, J. (2007). *Embriología Médica* (10ª ed.). Buenos Aires:

Panamericana.

Scheffer, G. J., Broekmans, F. J., Looman, C. W. N., Blankenstein, M., Fauser, B. C. J. M., DeJong, F. H. & Te Velde, E. R. (2003). The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Human Reproduction*, 18(4), 700–706. doi: 10.1093/humrep/deg135.

Sovino, H., Peterman, T. & Devoto, L. (2002). Clomiphene citrate and ovulation induction. *Reproductive Biomedicine Online*, 4(3), 303–310.

Strier, S. (2014). Falla ovárica prematura. Disponible en http://www.osecac.org.ar/documentos/guias_medicas/GPC%202008/Ginecologia/Gin-47%20Falla%20Ov%C3%A1rica%20Precoz_v1-14.pdf (accedido el 4 de febrero de 2016).

Tan, R., Pu, D., Liu, L., Liu, J. & Wu, J. (2011). Comparisons of inhibin B versus antimüllerian hormone in poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 96(4), 905–911. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.07.1102.

Unger, S. & Pizzoglio, H. B. (2010). Hormona antimülleriana . Reserva ovárica y reserva testicular. *Reproducción*, 25(3), 137–153.

Urbina, M. T. & Lerner, J. (2009). *Fertilidad y Reproducción Asistida*. Caracas: Panamericana.

Vital, V. S. (2010). Evaluación de la reserva ovárica. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción*, 2(4), 89–95.

White, Y. a R., Woods, D., Takai, Y., Ishihara, O., Seki, H. & Tilly, J. L. (2012). Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nature Medicine*, 18(3), 413–421. doi: 10.1038/nm.2669.

Yang, J. J., Cho, L. Y., Lim, Y. J., Ko, K.-P., Lee, K.-S., Kim, H., ... Park, S. K. (2010). Estrogen receptor-1 genetic polymorphisms for the risk of premature ovarian failure and early menopause. *Journal of Women's Health*, 19(2), 297–304. doi: 10.1089=jwh.2008.1317.

Zou, K., Yuan, Z., Yang, Z., Luo, H., Sun, K., Zhou, L., ... Wu, J. (2009). Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nature Cell Biology*, 11(5), 631–636. doi: 10.1038/ncb1869.

Zylbersztein, C. (2004). Hormona anti-mülleriana. Su influencia en la salud reproductiva en la mujer. *Revista de Endocrinología Ginecológica Y Reproductiva*. Disponible en http://www.saegre.org.ar/revista/numeros/2008/n1/2_hormona.pdf (accedido el 18 de abril de 2016).