

Niveles de hormona antimülleriana y factor neurotrófico derivado del cerebro como predictores de función ovárica

Rodrigo Carvajal G.⁽¹⁾, Juan F. Alba S.⁽¹⁾, Armando Cortínez C.⁽¹⁾, Antonio Carvajal M.⁽¹⁾, Cristián Miranda V.⁽¹⁾, Carmen Romero O.⁽²⁾ y David Vantman B.⁽¹⁾

⁽¹⁾Unidad de Medicina Reproductiva e Infertilidad, Depto. Ginecología y Obstetricia, HCUCH.

⁽²⁾Laboratorio de Endocrinología Reproductiva, Depto. Ginecología y Obstetricia, HCUCH.

SUMMARY

Infertility is now recognized as a disease by World Health Organization. It affects up to 15% of couples of childbearing age and un 4-8% of them will require high complexity assisted reproduction techniques. The delay of childbearing age involves the submission of the reproductive lifetime of the ovary. Determination of the ovarian reserve would save time and optimize resources for family planning. Antimülleriana hormone (AMH) is a marker of ovarian reserve, both quantitatively and qualitatively. It can be used in the research of premature ovarian failure, polycystic ovary syndrome (PCOS), menopause, as well as ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) and in vitro fertilization (IVF) poor responder patients. Brain derived neurotrophic factor (BDNF), member of growth factors family Neurotrophins, is produced by the granulosa cells and it is directly involved in the quality and timing of oocyte maturation. This review describes the reasons why the measurements of AMH and BDNF would be useful to predict the reproductive outcomes of patients undergoing IVF treatments.

INTRODUCCIÓN

La infertilidad es reconocida como una enfermedad por la Organización Mundial de la Salud y afecta al 15% de las parejas en edad fértil, de las cuales 4-8% requerirán técnicas de reproducción asistida de alta complejidad. Con la incorporación de la mujer a la vida laboral y la consiguiente postergación de la maternidad, la infertilidad probablemente aumentará su prevalencia con el

paso de los años. La infertilidad en menores de 20 años se estima en alrededor del 5%, comparado con un cerca del 30% en mayores de 35 años, es decir, el riesgo de ser subfértil es 6 veces mayor⁽¹⁾. El efecto deletéreo de la edad sobre la fertilidad también se ha demostrado en los tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad donde los nacidos vivos disminuyen al igual que las tasas de implantación por embrión transferido. La contrariedad de postergar la maternidad es que la

edad de claudicación del ovario se mantiene constante, por lo que determinar la reserva ovárica permitiría ahorrar tiempo y optimizar recursos frente a un futuro deseo de concepción.

La primera descripción de una paciente con una baja respuesta a la estimulación ovárica se realizó hace 28 años⁽²⁾. Desde entonces se han publicado múltiples revisiones sobre la fisiopatología, caracterización clínica y los posibles tratamientos⁽³⁾. La conclusión de los revisores es que existe insuficiente evidencia para identificar una intervención terapéutica en particular que mejore los resultados de los esquemas de estimulación ovárica porque la heterogeneidad de los trabajos no permite obtener conclusiones significativas. La principal razón de esta disparidad en los estudios y, por lo tanto, la imposibilidad de comparar resultados es por la evidente falta de una definición internacional de lo que significa baja respuesta ovárica.

El objetivo de una estimulación ovárica en un ciclo de IVF (*In Vitro Fertilization*) es el reclutamiento de múltiples folículos en un esfuerzo para compensar las ineficiencias de los cultivos embrionarios, la falta de criterios para la selección embrionaria y las alteraciones de la implantación⁽⁴⁾. La baja respuesta ovárica implica una inhabilidad intrínseca de los ovarios de las pacientes a reaccionar de acuerdo a una estimulación debidamente calculada para ella. En forma arbitraria cada estudio ha descrito diferentes criterios para definir lo que es baja respuesta ovárica. Algunas definiciones dadas son:

1. Niveles de estradiol menores de 300-500 pg/ml el día de la administración de gonadotropina coriónica (HCG)⁽⁵⁾ o estradiol del día 5 de la estimulación menores de 100 pg/ml⁽⁶⁾.
2. El número de folículos desarrollados y/o ovocitos recuperados luego de un protocolo de estimulación ovárica estándar, con un número de

3 a 6 folículos dominantes en el día de la administración de HCG⁽⁵⁾ y entre 3 a 5 ovocitos recuperados luego de la aspiración folicular⁽⁷⁾.

3. Niveles elevados (entre 7 y 15 mUI/ml) de la hormona folículo estimulante (FSH) en el día 3 del ciclo menstrual.
4. Edad materna mayor a 40 años.
5. Respuesta deficiente al test de clomifeno.
6. Respuesta alterada al test de estimulación con análogos a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).
7. Un ciclo previo fallido con dosis de gonadotropinas crecientes hasta 300 UI/día.
8. Un ciclo de estimulación ovárica prolongada⁽⁷⁾.

Por otra parte, existen factores de riesgo que nos permiten predecir cuáles pacientes tendrán una pobre respuesta. Es ampliamente aceptado que la propia estimulación ovárica es el mejor test funcional del *pool* de folículos remanentes y que el tamaño de la cohorte de folículos reclutados es un reflejo dinámico del tamaño de folículos restantes en los ovarios⁽⁸⁾. Secundariamente al menor tamaño del *pool* de folículos ováricos, la respuesta a la estimulación con gonadotropinas también es menor. Así en mujeres mayores de 40 años, la prevalencia de baja respuesta ovárica alcanza el 50%, considerándose el factor de riesgo de mayor importancia, debiendo confirmarse con otros test de reserva ovárica. Por otro lado, es importante saber que una paciente que ha tenido una pobre respuesta ovárica, en al menos un tercio de los casos tendrá una respuesta adecuada en un ciclo subsiguiente⁽⁹⁾. La razón de lo anterior se debería a la variabilidad que existe en el número de folículos antrales detectados por ultrasonido entre ciclos continuos⁽¹⁰⁾.

Es así como en el 2010, un grupo de trabajo de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) se reunió en Bologna para

Tabla 1. Definición de pobre respuesta ovárica.

CRITERIOS ESHRE PARA DEFINIR UNA PACIENTE COMO POBRE RESPONDEDORA⁽¹¹⁾
A) Dos episodios previos de pobre respuesta ovárica (≤ 3 ovocitos recuperados en un esquema convencional) en ausencia de edad materna avanzada o test de baja reserva ovárica.
B) Al menos dos de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> (i) Edad materna >40 años o cualquier otro factor de riesgo de baja reserva ovárica (sd. Turner, sd. X frágil, galactosemia, quimioterapia, radioterapia pélvica, cirugías ováricas, síndromes pluriglandular, etc.) (ii) Un ciclo previo con pobre respuesta ovárica (≤ 3 ovocitos recuperados en un esquema convencional). (iii) Test de reserva ovárica alterados (recuento de folículos antrales <6; FSH día 3 > 10mUI/ml; estradiol día HCG < 500pg/ml; test clomifeno alterado; test de luprón alterado; AMH $< 0,5-1,1$ng/ml).
<ul style="list-style-type: none"> • El criterio A) ó B) son válidos para la definición.

lograr un consenso respecto al tema⁽¹¹⁾ (Tabla 1). En esta ocasión se acordó que tener más de 40 años es el factor de riesgo más importante para una respuesta ovárica pobre a la inducción de ovulación en los programas de reproducción asistida. Asimismo se definió pobre respuesta ovárica como el desarrollo de menos de 3 folículos dominantes con al menos 150 UI/día de FSHr (hormona folículo estimulante recombinante) o la recuperación de menos de 4 ovocitos el día de la aspiración folicular. Los parámetros de maduración ovocitaria no están incluidos en la definición. Es importante diferenciar entre esquemas de estimulación convencional y suave, ya que menos de 4 ovocitos recuperados en un esquema de estimulación suave para IVF no podría ser considerado como pobre respuesta. Hasta los mejores marcadores de reserva ovárica, con las mejores sensibilidades y especificidades, tienen una tasa de falsos positivos de 10-20%⁽¹²⁾.

A medida que las mujeres tienden a postergar su maternidad, la fertilidad disminuye en forma inversa y los test de reserva ovárica se convertirán con el tiempo en un elemento cada vez más relevante. Si a esto se le agrega la posibilidad de criopreservar ovocitos y/o embriones con técnicas tan eficientes como la vitrificación, conocer la reserva ovárica se convertirá en una necesidad de información personal y no sólo de pareja. Por otro lado, la habilidad que tenga un test de proveer información fidedig-

na nos permitirá planificar una estrategia de tratamiento individualizada con un pronóstico preciso y veraz.

Los actuales test de reserva ovárica están diseñados para predecir cómo una paciente es capaz de responder a una hiperestimulación ovárica controlada y es mejor, por lo tanto, considerarlos como test para evaluar reserva funcional del ovario. Es importante notar que si bien los test de reserva ovárica, como FSH basal y recuento de folículos antrales del día 3 del ciclo menstrual, se asocian a mayores éxitos en las IVF y a mayores tasas de embarazo; sin embargo, no son capaces de predecir la calidad ovocitaria.

La evaluación de la calidad de los ovocitos es uno de los objetivos principales para todos aquellos que se dedican a la embriología. Actualmente, la IVF clásica no incluye procesos para la selección de ovocitos más que la selección de éstos por medio de su morfología. Este es un proceso rápido y simple; sin embargo, conlleva a una alta tasa de falsos negativos por lo que su utilidad no es totalmente satisfactoria^(13,14). La tendencia general en las diferentes unidades donde se llevan a cabo los tratamientos de IVF, es limitar la sobreproducción de embriones y mejorar los resultados de la criopreservación de gametos. Estas prácticas, junto con leyes restrictivas que se imponen

en algunos países, han creado a los embriólogos un reto para lograr identificar criterios de selección ovocitaria con el fin de escoger al ovocito más competente para poder inseminar y limitar la congelación de embriones^(13,14). Entre los criterios que se utilizan para la selección de ovocitos se encuentran: la expresión de genes en las células de la granulosa o en el ovocito⁽¹⁵⁾, la biopsia del cuerpo polar⁽¹⁶⁾, el análisis por microscopía polarizante⁽¹³⁾, el estudio del líquido folicular⁽¹⁷⁾, la ecografía y sus diferentes tecnologías^(18,19) y las metabolómicas, o bien, el estudio de sustancias contenidas en los fluidos foliculares. Estas técnicas han sido ampliamente estudiadas, pero requieren de equipos de laboratorio costosos, necesitan mucho tiempo para realizarse y, por lo tanto, no son aplicables en este momento en la práctica clínica⁽¹³⁾. Esto conlleva a la búsqueda de marcadores de bajo costo, simples y poco invasivos que nos permitan ser más objetivos a la hora de escoger los ovocitos a inseminar y que puedan demostrar una relación entre la calidad del ovocito y su potencial de desarrollo en embrión, de implantación, de embarazo y llegar a tener un recién nacido sano.

Así, todas estas metodologías de test funcionales permiten determinar potencialmente una baja respuesta ovárica, pero poseen además una gran variabilidad entre ciclos menstruales, siendo modificables además por el uso de anticonceptivos orales y otras hormonas, lo cual les confiere un bajo rendimiento para detectar pacientes con baja respuesta a la estimulación ovárica. Lo anterior hace necesario el descubrimiento de mejores predictores de respuesta ovárica al uso de gonadotropinas para individualizar los esquemas de tratamiento y ofrecer la mejor terapia a las parejas que consultan por infertilidad. Recientemente, se ha descrito que la AMH y BDNF podrían considerarse como predictores de la reserva ovárica, tema que será motivo de esta revisión.

HORMONA ANTIMÜLLERIANA (AMH)

La AMH es una glicoproteína que pertenece a la superfamilia de los factores de crecimiento TGF- β . Actúa a través de la vía de señalización intracelular de las proteínas Smads y se expresa específicamente en las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales pequeños menores de 8 mm. Previamente se pensaba que AMH sólo poseía un rol en la diferenciación sexual masculina durante el período embrionario; sin embargo, hoy en día existe suficiente evidencia que indica su participación en la función ovárica de la mujer adulta⁽²⁰⁾. Se postula que su función fisiológica sería regular el paso de los folículos preantrales, independientes del nivel de gonadotropinas, a folículos antrales que son dependientes de los niveles de LH y FSH por lo que sus niveles representarían teóricamente la reserva de folículos primordiales⁽²⁰⁾. Además, recientemente se ha descrito a AMH como un posible marcador de la reserva ovárica, tanto cuantitativa como cualitativamente, en técnicas de reproducción asistida. Aún más, se ha descrito que puede ser utilizado como marcador de falla ovárica prematura, PCOS, menopausia, además de OHSS y pacientes pobres respondedoras a IVF (Tabla 2). En el PCOS, incluso se han descrito niveles 3 veces superiores a las pacientes controles por su conocida condición de mayor número de folículos⁽¹⁸⁾.

Tabla 2. Cambios descritos en los niveles de AMH en diferentes condiciones clínicas.

CONDICIÓN CLÍNICA	NIVELES DE AMH
Perimenopausia	Bajos
Postmenopausia	Indetectables
Embarazo	Sin cambios
PCOS	Altos
Falla ovárica prematura	Bajos
Hipogonadismo hipotalámico	Sin cambios
Cáncer de ovario células de la granulosa	Altos
Baja respondedora	Bajos
Híper respondedora	Altos

El envejecimiento ovárico se caracteriza por una gradual disminución tanto en la cantidad como en la calidad de los ovocitos contenidos en los folículos.

Además, se ha descrito que la AMH traduce la funcionalidad de las células de la granulosa e indirectamente la calidad ovocitaria al producir factores de crecimiento que se modifican durante la folículoogénesis⁽¹⁹⁾. Sin embargo, si bien hay estudios que logran correlacionar los niveles de la AMH con reserva ovárica, no se ha logrado demostrar lo mismo con el número de aneuploidías ovocitarias o embrionarias⁽²¹⁾.

La AMH reduce la proliferación de las células de la granulosa. Se ha descrito en células de la granulosa que reduce la expresión de receptores LH y reduce la actividad de la enzima P450aromatasa. Además, AMH no estaría controlada por gonadotropinas, por lo que sería un marcador útil para evaluar durante los ciclos de estimulación ovárica. Por otro lado, permanece estable durante todo el ciclo menstrual, a diferencia de los niveles de FSH, y posee muy poca variabilidad entre ciclos menstruales diferentes. Estudios recientes le atribuyen una sensibilidad de alrededor del 90% y una especificidad del 80% para pacientes híper respondedoras y en el OHSS, ya que tendrían mayor población de folículos antrales y, por lo tanto, mayor número de células de la granulosa.

Sin embargo, existe un problema metodológico porque no existen normogramas (niveles de referencia) internacionales aprobados, ajustados por edad y por la presencia de síndrome de ovario poliquístico con lo que se pueda establecer un punto de corte para su uso clínico rutinario. De la misma forma, la confección de normogramas locales es fundamental para el inicio de su implementación en Chile. Otra dificultad a su implementación clínica es la diferencia en las sensibilidades con los *kits* de ELISA utilizados debido a anticuerpos dirigidos

contra diferentes epítopes de AMH. Dos compañías, Inmunotech-Beckman Coulter (BREA, CA) y Diagnostic System Laboratories (DSL), son los proveedores disponibles actualmente. Inicialmente se describían diferencias de hasta 4 a 5 veces menor para DSL; sin embargo, actualmente se han presentado correlaciones muy altas entre ambos *kits*⁽²²⁾. Existe una diferencia vertical en los niveles detectados entre ambos de 0,4 ng/ml menor para DSL que hay que tener en consideración al momento de comparar los resultados⁽²³⁾. Almong *et al* (2011) publicaron un normograma según edad de los niveles de AMH de pacientes infértiles no PCOS, estableciendo el percentil 3 en 0,35 ng/ml, que podría ser un punto de corte a utilizar en este tipo de pacientes⁽²³⁾. Un interesante punto de discusión respecto a los normogramas que se aplican mucho en las curvas de crecimiento fetales y pondoestaturales en los niños, es la interpretación de mediciones seriadas y detectar cambios en intervalos de tiempo. Así, la pesquisa de caídas en los niveles de la AMH a lo largo del tiempo, mayor a lo esperado por tener una mayor edad, podría ayudar a predecir una inminente o próxima disminución de la fertilidad. Además, los niveles de AMH se asocian independientemente con variables como la edad, recuento de folículos antrales, el *kit* utilizado y los niveles basales de FSH. De esta forma, se presentan en la Tabla 3 las ventajas y desventajas de AMH respecto a otros test de reserva ovárica comúnmente utilizados.

FACTOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DE CEREBRO (BDNF)

El BDNF es una proteína involucrada en el desarrollo folicular, producida por las células de la granulosa y perteneciente a la familia de las neurotrofinas. Las neurotrofinas son una familia de factores de crecimientos polipeptídicos solubles, reconocidos ampliamente por sus roles en la diferenciación del sistema nervioso central y periférico de mamíferos⁽²⁴⁾.

Tabla 3. Comparación entre diferentes marcadores de reserva ovárica utilizados en la práctica clínica.

VARIABLE	EDAD ^a	AMH ^b	FSH ^c	AFC ^d
Predecir pobre respuesta ^e	regular	bueno	regular	moderado
Predecir hiper respuesta ^f	regular	bueno	malo	moderado
Variabilidad del marcador entre diferentes ciclos menstruales	no	no	sí	sí
Variabilidad del marcador entre distintos días del mismo ciclo menstruales	no	no	sí	sí
Operador dependiente	no	no	no	sí
Precio	no	moderado	moderado	moderado
Independencia de anticonceptivos o a GnRH ^g	sí	sí	no	no

a.- Mayor o menor de 40 años para bajas respondedoras o hiperrespondedoras respectivamente. b.- Hormona antimülleriana. c.- Hormona folículo estimulante del día 3 del ciclo menstrual. d.- Recuento de folículos antrales día 3 del ciclo menstrual. e.- Menos de 4 ovocitos recuperados al momento de la aspiración folicular. f.- Más de 15 ovocitos recuperados al momento de la aspiración folicular. g.- Análogos de la hormona liberadora de gonadotrofinas.

Sin embargo, recientemente se ha demostrado su expresión en una variedad de tejidos no neuronales como el sistema endocrino y reproductor. Estudios en ovario humano han permitido detectar la expresión de neurotrofinas, las cuales antes se pensaba sólo tenían un rol en la supervivencia neuronal. Estudios en animales apoyan el rol de las neurotrofinas en el desarrollo ovárico y su posterior funcionalidad⁽²⁵⁾. En la familia de las neurotrofinas se incluyen además del BDNF, el factor de crecimiento nervioso (NGF), la neurotrofina 4/5 (NT 4/5) y la neurotrofina 3 (NT3). Estas proteínas actúan a través de sus respectivos receptores de membrana tirosina kinasa: TrkA para NGF, TrkB para BDNF y NT4/5 y TrkC para NT-3. Interesantemente, estos receptores han sido descritos en el ovario^(24,25).

El mecanismo de maduración ovocitaria es complejo e involucra no sólo la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, sino también la modulación de una serie de factores de crecimiento en el microambiente intraovárico como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento insulino similar (IGF-1), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)^(17,24).

Se ha descrito en ensayos *in vitro* que la acción paracrina de factores de crecimiento, como la BDNF producidos por las células de la granulosa, incide directamente sobre la calidad de la maduración ovocitaria por lo que una deficiencia en la producción de este factor determinará la probabilidad de fecundación y embarazo⁽²⁵⁻²⁷⁾.

BDNF y su mecanismo de acción a través del receptor TrkB y de su receptor de menor afinidad p75, que se encuentra aumentado en la fase preovulatoria, hace pensar que BDNF tendría un rol en este importante proceso. Kawamura *et al* (2005) observaron que la adición de BDNF a cultivos *in vitro* aumentaría la extrusión del primer cuerpo polar, lo que se traduce en la reanudación de la meiosis ovocitaria y favorecería el desarrollo hacia embriones preimplantacionales⁽²⁸⁾. Además, otros autores describen incluso un aumento en las tasas de implantación de esos embriones madurados *in vitro*⁽²⁹⁾.

Además, Zhao *et al* (2011) demostraron que el tratamiento de complejos cúmulo-oóforos inmaduros con FSH y HCG produjo un aumento en la expresión de BDNF y del factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) por parte de las células de la granulosa y que estos factores

paracrinos fueron capaces de inducir la maduración ovocitaria⁽³⁰⁾.

En conclusión, resulta probable conforme a la evidencia disponible, que la medición de factores de crecimiento producidos por las células de la granulosa, como la AMH y el BDNF, cuya acción paracrina determina el desarrollo folicular y la maduración ovocitaria, puede predecir el resultado reproductivo de las pacientes que serán

sometidas a tratamientos de IVF. Todo ello siempre y cuando se encontrase una buena correlación entre los niveles de AMH y/o BDNF y los marcadores de respuesta ovárica. Establecer marcadores de pronóstico con una buena respuesta ovárica a los tratamientos de IVF contribuiría a tener elementos de selección para personalizar esquemas de estimulación ovárica y así evitar suspensiones por baja respuesta a la misma o incluso complicaciones como el OHSS.

REFERENCIAS

1. Abma J, Chandra A, Mosher W, Peterson L. Fertility, family planning and women's health: new data from the 1995 National Survey of Family Growth. *Vital Health Stat* 1995;23:1-114.
2. Garcia J, Jones G, Acosta A, Wright G. HMG/hCG follicular maturation for oocytes aspiration: phase II, 1981. *Fertil Steril* 1983;39:174-9.
3. Tarlatzis B, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2003;9:61-76.
4. Macklon N, Stouffer R, Giuduce L, Fauser B. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev* 2006;27:170-207.
5. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. *Hum Reprod* 1999;14:1431-4.
6. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro low ovarian response to stimulation for IVF fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone are, growth hormone protocol. *Fertil Steril* 1997;67:93-7.
7. Surrey E, Schoolcraft W. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000;73:667-76.
8. Beckers N, Macklon N, Eijkemans M, Fauser B. Women with regular menstrual cycles and a poor response to ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization exhibit follicular phase characteristics suggestive of ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;78:291-7.
9. Klinker E, Frank J, Broekmans F, Casper W, Looman M, Te Velde ER. A poor response in the first cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles. *Fertil Steril* 2004;81:1247-53.

10. Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CW, Eijkemans MJ, Fauser BC *et al.* Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod* 2010;25:221-7.
11. Ferraretti, La Marca, Fauser, Tarlatzis, Nargund, Gianaroli. ESHRE consensus on poor ovarian response definition. *Human Reproduction* 2011;26:1616-24.
12. Broekmans F, Kwee J, Hendriks D, Mol B, Lambalk C. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12:685-718.
13. Revelli A, Delle Piane L, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:40.
14. Baiaban B, Urman B. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reproductive BioMedicine Online* 2006;12:608-15.
15. Patrizio P, Fragouli E, Bianchi V, Borini A, Wells D. Molecular methods for selection of the ideal oocyte. *Reprod BioMedicine Online* 2007;15:346-53.
16. Dawson A, Griesinger G, Diedrich K. Screening oocytes by polar body biopsy. *Reprod BioMed Online* 2006;13:104-9.
17. Fortune J. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod* 1994;50:225-32.
18. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum Antimullerian Hormone as surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:941-5.
19. Gilchrist RB, Ritter LJ, Armstrong DT. Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Anim Reprod Sci* 2004;83:431-46.
20. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod Update* 2005;11:461-71.
21. Thum MY, Abdalla HI, Taylor D. Relationship between women's age and basal follicle stimulating hormone levels with aneuploidy risk in in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril* 2008;90:315-21.
22. Streuli I, Fraisse T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof, de Ziegler. Clinical uses of AMH assays: pitfalls and promises. *Fertil Steril* 2009;91:226-30.
23. Almog B, Shehata F, Suissa S, Holzer H, Shalom-Paz E, La Marca A *et al.* Age Related normograms of serum antimullerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. *Fertil Steril* 2011;95:2359-63.
24. Ojeda SR, Romero C, Tapia V, Dissen GA. Neurotrophic and cell-cell dependent control of early follicular development. *Mol Cell Endocrinol* 2000;163:67-71.
25. Seifer, Feng, Shelden, Chen, Dreyfus. BDNF: A Novel Ovarian Follicular Protein. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:655-9.
26. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Schneyer AL. Ovarian brain-derived neurotrophic factor is present in follicular fluid from normally cycling women. *Fertil Steril* 2003;79:451-2.
27. Xue Wang, Zhengyi Sun, Jingran Zhen, Qi Yu. Brain-derived neurotrophic factor from follicular fluid is positively associated with rate of mature oocytes collected and cleavage rate in intracytoplasmic sperm injection patients. *J Assist Reprod Genet* 2011;28:1053-4.
28. Kawamura K, Kawamura N, Mulders SM, Sollewijn GMD, Hsueh AJ. Ovarian brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes the development of oocytes into preimplantation embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:9206-11.

29. Anderson, Bayne, Gardner, De Sousa. Brain-derived neurotrophic factor is a regulator of human oocyte maturation and early embryo development. *Fertility and Steril* 2010;93:1394-406.
30. Ping Zhao, Jie Qiao, Shuo Huang, Ying Zhang, Shuang Liu, Li-Ying Yan *et al.* Gonadotrophin-induced paracrine regulation of human oocyte maturation by BDNF and GDNF secreted by granulosa cells. *Human Reproduction* 2011;26:695-702.

CORRESPONDENCIA



Dr. Rodrigo Carvajal Gavilán
Unidad de Medicina Reproductiva e Infertilidad,
Departamento de Obstetricia y Ginecología,
Hospital Clínico de la Universidad de Chile
Santos Dumont 999, Independencia, Santiago
Fono: 978 8307
E-mail: ra_carvajal@med.uchile.cl