



PROGRESOS de OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

www.elsevier.es/pog



ORIGINAL

Valores de hormona antimülleriana (HAM) y recuento de folículos antrales (RFA) en casos con fallo reproductivo previo

Fernando Bonilla-Musoles*, Juan Carlos Castillo, Francisco Raga, Oscar Caballero, Luiz Eduardo Machado, Jordi Pérez-Panades, Francisco Bonilla Jr. y Miguel Dolz

Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina de Valencia, Valencia, España

Recibido el 4 de abril de 2011; aceptado el 23 de agosto de 2011

Accesible en línea el 26 de octubre de 2011

PALABRAS CLAVE

Hormona antimülleriana;
Recuento de folículos antrales;
Ultrasonidos 3D modos inverso;
Automatic volume calculation;
Virtual semi-automatic organ calculation;
Imagen tomográfica ultrasónica;
Bajas respondedoras

Resumen

Objetivo: Determinar si la HAM y el RFA pueden emplearse para predecir reserva ovárica.

Sujetos y métodos: Se compara el RFA y los valores de la HAM en FIV/ICSI: bajas, normo y altas respondedoras, las primeras con fallos de TRA previos (un FIV/ICSI).

El RFA se llevó a cabo con US 3D con modos superficie, inverso y AVC.

Resultados: Existió correlación entre HAM y RFA. Ambos reflejan la reserva ovárica. Las diferencias entre normo y bajas respondedoras fueron significativas. RFA, HAM y edad mostraron ser los mejores parámetros.

Las diferencias entre normo y altas respondedoras fueron igualmente significativas, mostrando ser predictivos de hiperestimulación.

El grupo de número de ovocitos recuperados (≤ 5 vs > 5) mostró ser predictivo de maduración, no de calidad embrionaria ni de pronóstico reproductivo.

Conclusiones: Valores bajos de HAM ($< 9,28$ pmol/L) predicen mal pronóstico con un 72,7 y 64,5% de sensibilidad y especificidad. La mejor aproximación predictiva es la combinación HAM más RFA, con un área bajo la curva de 82%.

Valores de HAM y RFA superiores a 27,21 pmol/L y 15 folículos son riesgo de hiperestimulación.

El pronóstico reproductivo muestra alto índice de cancelaciones (22% de ciclos iniciados) muy bajo de gestaciones (16,7%), con solo un 6,2% de embarazos evolutivos.

La determinación de HAM y RFA no permite negar un nuevo intento FIV, pero obligan a informar a la pareja de las bajas probabilidades de éxito.

© 2011 SEGO. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: profesorbonillamusoles@hotmail.com (F. Bonilla-Musoles).

KEYWORDS

Anti-Müllerian hormone;
Antral follicle count;
3D ultrasound;
Automatic volume
calculation;
Virtual semi-automatic
organ calculation;
Inverse mode;
Low responders

Anti-Müllerian hormone values and antral follicle count in patients with prior reproductive failure**Abstract**

Objective: To determine whether anti-Müllerian hormone (AMH) and antral follicle count (AFC) could be used as predictors of ovarian reserve.

Subjects and methods: We compared AFC and AMH values in IVF/ICSI in low, normal and high responders. Low responders had undergone previous assisted reproduction technologies (ART) and had experienced at least one IVF failure. AFC was carried out with US 3D surface, inverse mode, and automatic volume calculation.

Results: AMH and AFC were correlated and reflected the actual ovarian reserve. Differences between normal and low responders were significant. The best predictors of ovarian reserve were AMH, AFC and age. Differences between normal and high responders were also significant and were predictors of hyperstimulation. Grouping patients according to oocyte recovery (≤ 5 vs. > 5) was predictive of maturation but was not predictive of embryo quality or reproductive outcome.

Conclusions: Low AMH values (< 9.28 pmol/L) predicted poor outcomes with a sensitivity and specificity of 72.7% and 64.5%. The best predictive approach was the combination of AMH plus AFC, resulting in an area under the curve of 82.2%. AMH and AFC above 27.21 pmol/L and 15 follicles indicated a high risk of hyperstimulation. The reproductive outcome showed a very high cancelation rate (22% of initiated cycles), very low pregnancy rates (16.7%) and only 6.2% of ongoing pregnancies. Determination of AMH and AFC levels should not be used to reject candidates for IVF treatment but to inform patients with low levels of the very poor probability of success and the use of other alternatives.

© 2011 SEGO. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La seguridad y la relación coste/beneficio son pilares básicos en las TRA ya que la edad se ha convertido hoy en la primera causa de esterilidad femenina¹ y con ella el número de embriones con anomalías genéticas^{2,3}.

Para ello se están empleando la edad, la HAM, y el RFA como parámetros de elección del envejecimiento ovárico, respuesta a la inducción, resultados reproductivos⁴⁻⁹, quizá establecimiento de la menopausia y factor masculino⁷⁻¹¹.

Valores disminuidos de HAM y RFA pueden ser nuevas vías para evitar o reducir el número de pacientes con posibilidad de fallos en TRA^{10,11}, minimizando tanto el coste de los tratamientos, la desazón, depresión psíquica de la pareja y complicaciones ante fracasos previsibles.

Igualmente, y al contrario, valores elevados de estos parámetros podrían ser indicativos de riesgo de hiperestimulación⁷.

A pesar de las publicaciones últimamente aparecidas quedan por establecer valores estándares de referencia.

Material y método

El estudio ha consistido en 153 pacientes, todas con antecedentes de fallos de TRA (inducción de la ovulación, IAH, y por lo menos una FIV/ICSI), con menstruaciones normales, ambos ovarios, sin historia previa de endocrinopatías, quimioterapia y/o radioterapia, en las cuales y a pesar de los fracasos previos y conociendo en el presente ciclo los niveles de HAM y otras hormonas, aceptaron la realización de un nuevo ciclo.

Fueron eliminadas las parejas con factor masculino severo (< 5 millones espermatozoides/ml).

Una vez dispusimos del resultado de la estimulación del presente ciclo, analizamos los siguientes subgrupos de acuerdo al número de ovocitos recuperados.

Grupo 1. Ciclos cancelados o ≤ 5 ovocitos recuperados

A.- Ciclos cancelados: n = 34 (22,2%)

B.- Baja respuesta no cancelados: n = 44 (28,8%)

Grupo 2. Normo respondedoras > 5 y < 15 ovocitos recuperados: n = 65 (42,5%).

Grupo 3. Altas respondedoras > 15 ovocitos recuperados: n = 10 (6,5%).

Hemos determinado los niveles de hormonas basales (FSH, LH, HAM y 17β -E₂), el día 3 del ciclo previo (enzyme-linked immuno-sorbent assay [ELISA] Human Gessellschaft für Biochemica und Diagnostica MbH. Wiesbaden, Alemania- con una sensibilidad analítica de 0,4 mIU/ml para FSH, 0,5 mIU/ml para LH, 3 pg/ml y para 17β -E₂). Para la HAM hemos empleado el HAM/MIS immunoassay (Laboratory Instrument & Beckman-Coulter, Viena, Austria). Con una sensibilidad analítica estimada (ELISA) de 0,1 ng/ml (0,7 pmol/L).

El RFA se llevó a cabo con ecografía transvaginal 2D/3D (Voluson E8, GE, equipado con un transductor transvaginal RAB 4-8D), al comienzo del ciclo de estimulación¹³.

La inducción de la ovulación se llevó a cabo empleando 225-300 IU de rFSH (Puregon®, MSD, Madrid, España) durante 6 días, continuada según el tamaño folicular y 17β -E₂. El día 5 (o folículos de 15 mm), fue suministrada 0,25 mg de GnRH antagonista (Orgalutran®, MSD Madrid, España) diariamente hasta la administración de rHCG (Ovitrelle®, Serono, Madrid).

Se tomaron en cuenta los siguientes datos:

- 1.- Edad, 2.
- 2.- Coste de las TRA previas, de acuerdo a la Ley (DL 1/2005, DOGV 4971):

- Estudio de esterilidad y técnicas de diagnóstico = 1.640 €
 - IAH = 242 €
 - FIV/ICSI = 616 €
- 3.- Dosis total de gonadotropinas empleadas y días de estimulación.
 - 4.- Total de ovocitos recuperados, porcentaje de ovocitos maduros obtenidos y fertilizados
 - 5.- Número total de embriones calidad GI, GII, obtenidos. Número y calidad de embriones transferidos. Gestaciones obtenidas y evolución clínica (abortos, ectópicos, y gestaciones en evolución).

Todos los datos fueron incluidos en el programa File Maker.

Modos ecográficos empleados para el RFA

EL RFA ha sido llevado a cabo empleando 2D y 3D vaginal de superficie^{1,4,10,18}, modo inverso, VOCAL, AVC y de precisarse, el TUI¹²⁻¹⁵. (fig. 1)

Estudio estadístico

Hemos empleado el paquete InfoStat (2008) FCA, Córdoba, Argentina y el ANOVA como test paramétrico. Para verificar su significancia hemos empleado el test no paramétrico de Kruskal-Wallis con un nivel $< 0,05$. Para aceptar la normalidad y determinar el ajuste de compatibilidad entre residuos estandarizados con dos probabilidades de distribución usamos el test de Kolmogorov-Smirnov.

Resultados

Coste económico global y de gonadotropinas

Se han calculado tanto los gastos en las TRA previas al ciclo actual como los de gonadotropinas en el presente ciclo, estableciéndose el coste de estas últimas en 0,30 € por UI (datos suministrados por MSD, Madrid). No se han incluido los gastos derivados del control del presente ciclo (hormonas,

Tabla 1 Gastos totales

	TOTAL	MEDIA
TRA Previas	324.710 €	4.059 €
Gonadotropinas empleadas presente ciclo	235.340 UI	2.942 UI
Gonadotropinas	70.600 €	883 €
Total	395.310 €	4.941 €

Gonadotropinas €: coste económico de gonadotropinas; Gonadotropinas UI: gonadotropinas empleadas en el presente ciclo; Total € = total coste económico de las TRA; TRA: técnicas de reproducción asistida previas.

ecografías, analíticas, etc.) ni el grupo de altas respondedoras por no tener fallos previos de FIV (tabla 1).

El coste total de los tratamientos a los que previamente habían sido sometidas asciende a 324.710 €, parecidos a los ya publicados en la literatura¹².

El total de gonadotropinas empleadas fue de 235.340 UI, (395.310 €) y la media de gasto por paciente uniendo gastos previos de TRA y gonadotropinas del presente ciclo asciende a 4.941 €.

Diferencias en el RFA entre 2D y 3D vaginal empleando AVC

Desde el comienzo del estudio, se apreció como ya mostraron otros autores^{13,14,18} claras diferencias en el RFA, ya que la 2D solo muestra 2 planos. Las imágenes observadas con 3D (modos AVC e inverso) fueron superiores (12-13% más folículos encontrados), y la cuantificación de FA más rápida¹³⁻¹⁶. El empleo de estos modos ahorran tiempo, y, como se ha descrito, eliminan diferencias intra e inter-observador. (fig. 1).

Resultados generales de marcadores de envejecimiento ovárico

La tabla 2 muestra las medias y valores de significación encontrados para edad y hormonas de acuerdo a los tres grupos de casos establecidos.

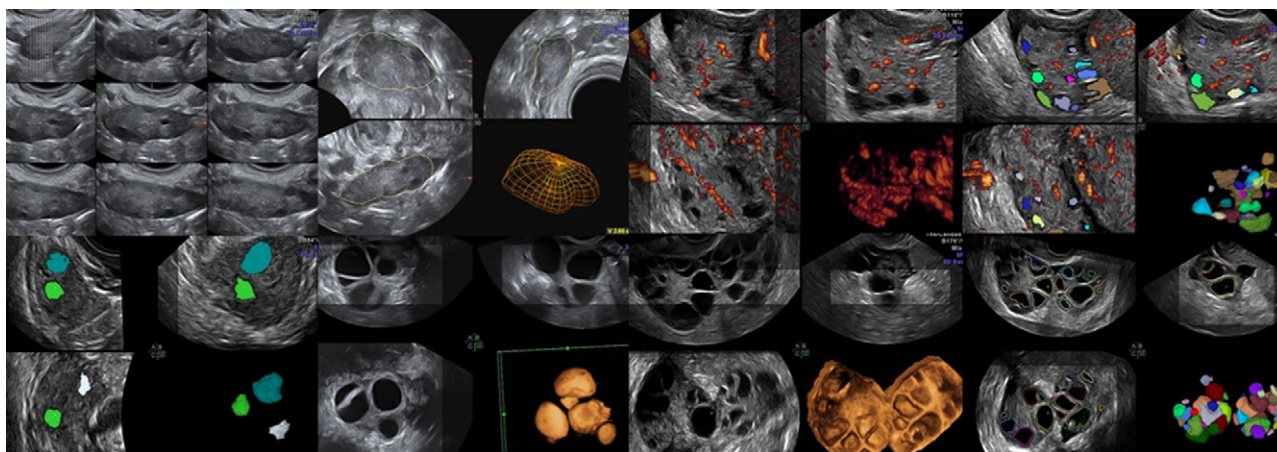


Figura 1 A la izquierda y arriba TUI y VOCAL ovárico. A la izquierda y abajo AVC y modo inverso de una baja respondedora. A la derecha angiografía Doppler, VOCAL y 3D de superficie en un caso de normo respuesta.

Tabla 2 Valores medios de edad, FSH, HAM, E2 y RFA obtenidos en casos de baja, normo y alta respuesta y resultado de su significación

	Baja respuesta		Normo respuesta		Alta respuesta		p Valor
	n	Media \pm de	n	Media \pm de	n	Media \pm de	
Edad (años)	75	36,6 \pm 3,6	65	33,9 \pm 4,5	10	31,6 \pm 3,9	0,0002
FSH	73	9,1 \pm 8,9	65	7,4 \pm 3,5	10	4,8 \pm 1,4	ns
HAM	76	9,8 \pm 9,4	65	15,5 \pm 11,9	10	27,2 \pm 14,3	0,0016
E2	42	61,3 \pm 56,5	39	51,2 \pm 32,5	10	33,2 \pm 11,1	ns
RFA	72	5,7 \pm 4,4	65	11,2 \pm 7,3	10	21,0 \pm 7,7	< 0,0001

El número de ovocitos recuperados vs FSH, LH, y 17 β -estradiol basales no fue significativo (tabla 2).

La HAM en bajas vs normo-altas respondedoras muestra una correlación estadísticamente significativa (tabla 2) de enorme interés clínico. Un valor de HAM de 9,28 pmol/L predice la baja respuesta con una sensibilidad y especificidad del 73 y 65%, respectivamente (fig. 2).

Las diferencias en el RFA de bajas vs normo-altas respondedoras fue estadísticamente significativa (tabla 2), y que con un valor de RFA \leq 7 predice la baja respuesta con una sensibilidad del 74% y una especificidad del 74% (fig. 3).

HAM vs madurez ovocitaria. El análisis de la varianza entre los valores medios de HAM y la proporción de ovocitos maduros entre los tres grupos mostró una correlación positiva estadísticamente significativa ($p < 0,0001$).

RFA vs madurez ovocitaria mostró una correlación positiva estadísticamente significativa ($p < 0,0001$).

HAM, RFA y calidad embrionaria G1 y G2. Para ambos marcadores se halló una relación estadísticamente significativa, para HAM $p = 0,0007$ y para RFA $p < 0,0001$.

Finalmente, nuestros resultados muestran que la combinación entre HAM y RFA ha sido el mejor parámetro con un área bajo la curva del 83,2% (fig. 4).

Resultados reproductivos

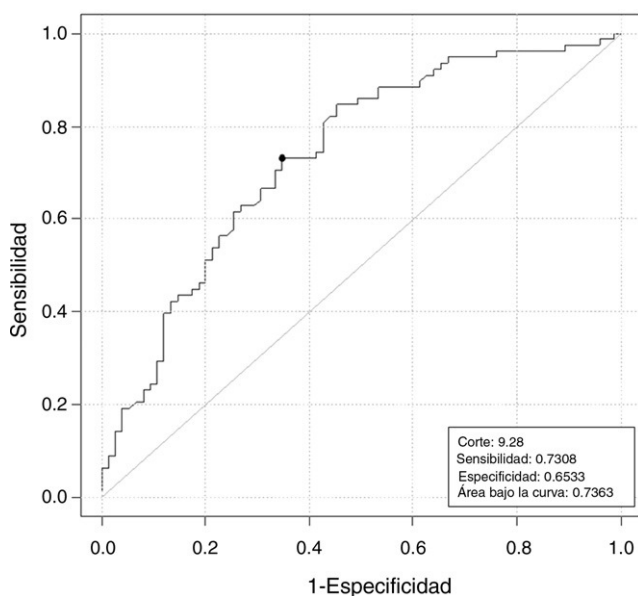
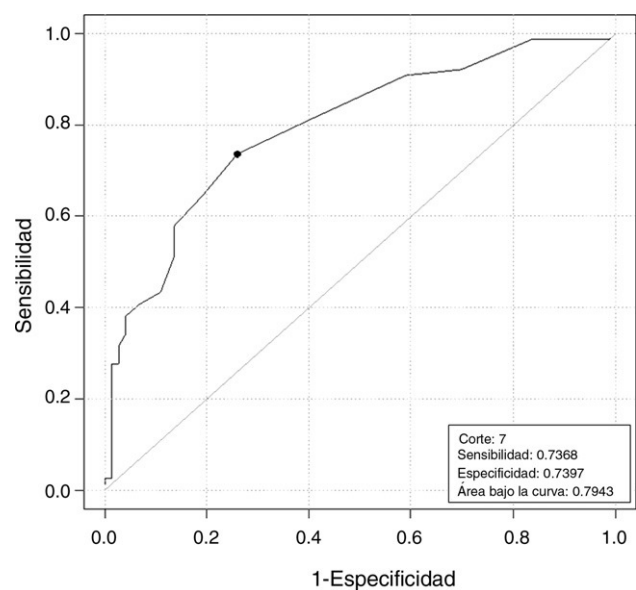
Nuestros resultados han mostrado un alto índice de cancelaciones por ciclo (22% de ciclos iniciados) y muy bajo de gestaciones (16,7%), con solo un 6,2% de embarazos evolutivos.

Discusión

La idea fundamental es lograr identificar dos grupos de pacientes:

- Mujeres jóvenes ya con reserva disminuida y mujeres de edad avanzada que aún dispongan de reserva adecuada.
- De alcanzarse esta meta podrían optimizarse los resultados identificando pacientes que ya tienen un envejecimiento ovárico evidente. De esta forma podría ofrecérseles TRA apropiadas, como la ovidonación.

Durante la última década se han propuesto numerosos parámetros para conocer la reserva (hormonas basales, test endocrinos, etc.)¹. La gran mayoría están hoy considerados obsoletos.

**Figura 2** Curva ROC para la HAM.**Figura 3** Curva ROC para RFA.

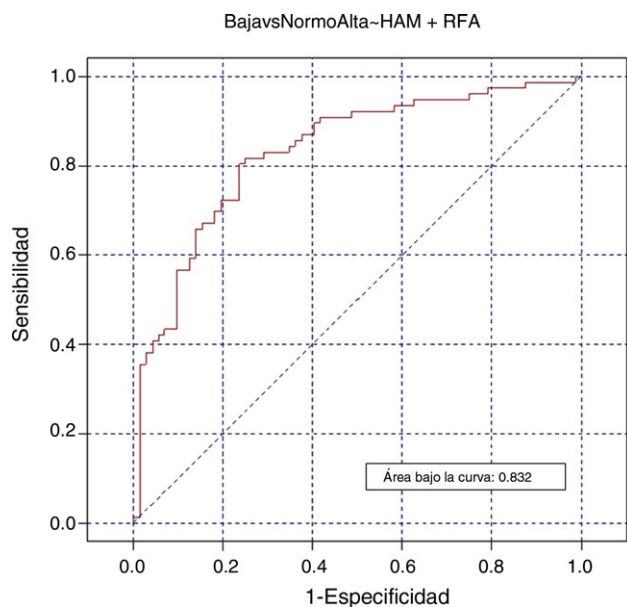


Figura 4 Área bajo la curva para HAM y RFA.

Recientes publicaciones concluyen que los más predictivos y con mayor aplicación clínica serían el RFA, la HAM y el test de estimulación con agonistas (GAST)^{16,17} este último no lo recomendamos.

La edad está incluida como criterio básico en todos los protocolos y sigue siendo de gran importancia, pero numerosos investigadores afirman que la HAM es más predictiva^{1,7,16,17}.

Las determinaciones basales de FSH y 17 β -estradiol han generado mucho interés debido a su sencillez y repercusión clínica. Sin duda son importantes en el estudio basal de la mujer estéril y deberán tenerse en cuenta como de mal pronóstico reproductivo valores altos de FSH basales (> 10 UI) y de estradiol (> 75 pg), pero nuestros resultados muestran que no hay diferencias significativas entre bajas y normo respondedoras y que tienen un bajo poder predictivo³⁴.

También estos resultados muestran que la HAM y el RFA predicen madurez ovocitaria, algo de interés clínico. Cuanto mayores los niveles de HAM y el RFA mayor el número de ovocitos maduros que se recuperan¹⁹.

El presente estudio demuestra que la HAM se correlaciona muy bien con la respuesta ovárica en casos de mal pronóstico reproductivo y representa un avance para conocer el potencial de las bajas respondedoras, ya que aún no existe evidencia suficiente de disponer de un marcador predictivo ideal de reserva y/o respuesta ovárica que pueda ser empleado de forma rutinaria.

Solo recientemente se han publicado valores de corte eficaces para casos de normalidad³⁵⁻³⁷, pero apenas existen estudios comparativos con FIV/ICSI y en bajas respondedoras. Aun no siendo totalmente comparable, pues solo estudian casos de endometriosis³⁶ los resultados semejan a los aquí mencionados.

Respecto al RFA, es imposible conocer el pool de ovocitos que restan, pero parece ser que el contaje está muy relacionado. Son numerosos los parámetros usados cuya sensibilidad difiere^{1,2,20-23}.

Un volumen ovárico menor < 3 cm³. Ha mostrado ser un buen predictor de baja respuesta cuando es excesivamente

pequeño, pero hay parámetros ecográficos que son mejores^{1,24}.

El RFA con 2D vaginal proporciona excelentes resultados, sin embargo, la 3D US vaginal, especialmente combinada con modos inverso y AVC proporciona aún mejores (13% superior el contaje)^{13-16,18,24-28}. Un número de FA < 6 es un índice de pronóstico pobre^{29,30}.

Los resultados del RFA con modos 3D han mostrado ser altamente reproducibles^{1,13,14,25,26,32} y más precisos que con 2D^{13,15}.

Empleando los modos AVC e inverso pueden calcularse tanto el número como el volumen de cualquier estructura con enorme precisión^{1,14,25}. El TUI permite almacenar los folículos en cualquier plano espacial^{25,27}. En nuestra opinión, estos modos, junto con el AVC son los más promisorios^{1,13-15,18,26,28}.

La angiografía doppler energía cuya eficacia ha quedado demostrada para valorar la vascularización del desarrollo folicular, no predice la reserva ovárica y por ello no debe usarse^{1,33}.

Aunque es importante la edad, todos los autores la consideran, la HAM y el RFA fueron más predictivos. La ventaja de la HAM es su estabilidad a lo largo del ciclo^{7,17}.

Un importante hallazgo, ya documentado³¹, ha sido que al comparar la madurez ovocitaria con los valores medios de HAM y del RFA en grupos de mujeres con ≤ 5 vs > 5 ovocitos recuperados, las diferencias fueron significativas.

Nuestros resultados reproductivos definitivos, así lo demuestran: tasas de cancelaciones elevadas (22%), tasas de embarazos para bajas respondedoras bajísimas (6,7%), y tasas de embarazos en normo respondedoras (9,8%) igualmente muy bajas.

En conclusión, proponemos emplear solo dos parámetros analíticos en la valoración de la reserva. Valores muy bajos de HAM (8,9 pmol/L = 1,15 ng/ml) junto a RFA ≤ 7 , son predictivos de mínimas posibilidades de éxito reproductivo, informando así a las parejas y proponiéndoles técnicas alternativas para el éxito reproductivo.

Lamentablemente, el hecho de que con valores muy bajos de HAM y RFA hayamos tenido algún éxito no permite, como hubiéramos deseado, negar realizar un nuevo intento FIV/ICSI, o simplemente vitrificación seriada de ovocitos.

La relación coste/beneficio ha motivado que la ley española prohíba en instituciones públicas, realizar cualquier TRA superados los 40 años. Esta edad, y aún más, estos valores de HAM y RFA, no justifican, a nuestro entender, los gastos económicos cuando son tan bajas las posibilidades de éxito, existiendo otras alternativas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Bonilla-Musoles F, Dolz M, Moreno J, Raga F. El envejecimiento ovárico. En: Bonilla-Musoles F, Dolz M, Moreno J, Raga F, editors. Reproducción Asistida: Manejo clínico.. Madrid: Panamericana; 2010. p. 179-205.

2. Tarin JJ, Ruiz A, Miró F, Bonilla-Musoles F, Pellicer A. Failed in vitro fertilization of human oocytes: a cytogenetic analysis. *Fertil Steril.* 1991;56:290–5.
3. Pellicer A, Rubio C, Vidal F, Remohi J. In vitro fertilization plus preimplantation genetic diagnosis in patients with recurrent miscarriage: an analysis of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. *Fertil Steril.* 1999;71:1033–9.
4. Bonilla-Musoles F, Castillo JC, Caballero O, Raga F, Bonilla Jr F, Dolz M. Hormona anti-Mülleriana: un marcador directo predictivo en reproducción asistida; I- Envejecimiento ovárico. *Rev Iberoam Fertil.* 2010;27:5–12.
5. Bonilla-Musoles F, Castillo JC, Caballero O, Raga F, Bonilla Jr F, Dolz M. Hormona anti-Mülleriana: II- Situación actual. *Rev Iberoam Fertil.* 2010;27:13–31.
6. Bonilla-Musoles F, Castillo JC, Caballero O, Perez-Panades J, Raga F, Bonilla Jr F, et al. ¿Es posible predecir la reserva ovárica mediante la hormona antimülleriana (HAM) y el recuento de folículos antrales (RFA) en pacientes con fallo previo de técnicas de reproducción asistida (TRA)? *Rev Iberoam Fertil.* 2010;27:97–112.
7. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS. Anti-Müllerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod.* 2009;24:2264–75.
8. Peñarrubia J, Fabregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod.* 2005;20:915–22.
9. Peñarrubia J, Fabregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod.* 2005;20:915–22.
10. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod.* 2003;18:323–7.
11. Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Penberton P, et al. Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2008;90:1–8.
12. Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remohi J, Simón C, Bonilla-Musoles F. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle-stimulating hormone using three-dimensional ultrasonography. *Fertil Steril.* 1998;78:671–5.
13. Broekmans FJ, De Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril.* 2010;94:1044–51.
14. Deutch TD, Joergner AI, Matson EDO, Oehninger CDS, Bocca AS, Hoenigmann AD, et al. Automated assessment of ovarian follicles using a novel three-dimensional ultrasound software. *Fertil Steril.* 2009;92:1562–8.
15. Scheffer GJ, Brockmans FJM, Bancsi LF, Habbema JD, Looman CW, Te Velde ER. Quantitative transvaginal two- and three-dimensional sonography of the ovaries: Reproductibility of antral follicle counts. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;20:270–5.
16. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reprod Update.* 2006;12:685–718.
17. La Marca A, Sighinolfi D, Radi C, Argento E, Baraldi A, Carducci Artensio G, et al. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reprod Update.* 2010;16:113–30.
18. Mercé Alberto LT. Teoría y práctica de la ecografía y angiografía Doppler tridimensional en Obstetricia y Ginecología. Madrid: Editorial Shabe. 2006, ISBN: 84-934519-6-7.
19. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Human Reprod.* 2006;8:2022–6.
20. Hendricks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril.* 2005;83:291–301.
21. Ruess ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174:624–7.
22. Chang MI, Chiang CH, Hsieh TT, Soong Y, Hsu K. Use of the antral follicle count to predict the outcome of Assisted Reproductive Technologies. *Fertil Steril.* 1998;69:505–10.
23. Tomas C, Nuojuua-Huttmen N, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Human Reprod.* 1997;12:220–3.
24. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Clewes JS, Johnson IR. The interobserver reliability of ovarian volume measurement is improved with three-dimensional ultrasound, but dependent upon technique. *Ultrasound Med Biol.* 2003;29:1685–90.
25. Raine-Fenning NJ, Lam PM. Assessment of ovarian reserve using the inversion mode. Picture of the month. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;27:104–6.
26. Raine-Fenning NJ, Jayaprasadan K, Clewes JS. Automated follicle tracking facilitates standardization and may improve work flow. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30:1015–8.
27. Raine-Fenning N, Jayaprasadan K, Clewes J, Joergner I, Bonaki SD, Chamberlain S, et al. SonoAVC: a novel method of automatic volume calculation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:691–6.
28. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston R. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin. *Human Reprod.* 1997;12:294–7.
29. Mc Ilveen M, Skull JD, Ledger WL. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. *Hum Reprod.* 2007;22:778–85.
30. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, De Jong FH, Habbema JD, Te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in-vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2002;77:328–36.
31. Cheng-Hsuan W, Yu-Ching C, Hsin-Hung W, Jyuer-Ger Y, Yu-Jun C, Horng-Der T. Serum anti-Müllerian hormone predicts ovarian response and cycle outcome in IVF patients. *J Assist Reprod Genet.* 2009;26:383–9.
32. Karande V. Managing and predicting low response to standard in vitro fertilization therapy: a review of the options. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;234:81–6.
33. Dolz M, Osborne N, Bonilla-Musoles F. Polycystic ovarian syndrome: Assessment with color Doppler angiography and Three-Dimensional ultrasonography. *J Ultrasound Med.* 1999;18:303–13.
34. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimüllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B or estradiol. *Fertil Steril.* 2004;82:1323–9.

35. Ramalho de Carvalho B, Japur de Sá Rosa-e-Silva AC, Rosa-e-Silva JC, Dos Reis RM, Ferriani RA, Silva de Sá MF. Anti-Müllerian hormone is the Best predictor of poor response in ICSI cycles of patients with endometriosis. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2011;38:119–22.
36. La Marca A, Sighinolfi G, Giulini S, Traglia M, Argento C, Sala C, et al. Normal serum concentrations of anti-Müllerian hormone in women with regular menstrual cycles. *Reprod Biomed Online.* 2010;21:463–9.
37. Almog B, Shehata F, Suissa S, Holzer H, Shalom-Paz E, La Marca A, et al. Age-related normograms of serum antimüllerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. *Fertil Steril.* 2011;95:2359–63.