

Correlación de tres marcadores predictivos de respuesta ovárica en ciclos de fertilización *in vitro*: hormona anti-mülleriana, número de folículos antrales y volumen ovárico

Rafael A Sánchez Usabiaga,* Sergio Romero Tovar,* Ricardo Hurtado Amador,* Anaid Batista Espinoza,* Margarita Paz Mendoza,** Oscar Ruiz Valdez,* Cecilia Ugalde Almada*

RESUMEN

Antecedentes: a pesar de grandes esfuerzos clínicos y científicos, no se cuenta con un marcador predictivo óptimo de respuesta ovárica. Las concentraciones séricas de la hormona anti-mülleriana, el número de folículos antrales y el volumen ovárico se han propuesto como marcadores predictivos de respuesta.

Objetivo: conocer la utilidad de la hormona anti-mülleriana, el número de folículos antrales y el volumen ovárico como marcadores predictivos de respuesta en la práctica clínica.

Pacientes y métodos: estudio prospectivo y transversal. Se incluyeron 30 pacientes infértiles aptas para la estimulación ovárica durante ciclos de fertilización *in vitro*-inyección intracitoplasmática de espermatozoides (FIV-ICSI). Se determinaron las concentraciones séricas de la hormona anti-mülleriana en la fase folicular inicial (días 2 a 5), el número de folículos antrales y el volumen ovárico mediante ultrasonido endovaginal.

Resultados: la hormona anti-mülleriana fue la variable que se relacionó más estrechamente con la respuesta ovárica con una $p = 0.0017$. Las concentraciones bajas de la hormona anti-mülleriana, el volumen ovárico menor de 3 cm³ y el número de folículos antrales menor de 5 por ovario se correlacionaron con una baja respuesta ovárica y con mayor número de cancelaciones del ciclo por baja respuesta.

Conclusiones: la hormona anti-mülleriana demostró ser un marcador confiable de respuesta ovárica, además de su correlación significativa con el volumen ovárico y el número de folículos antrales. Estos marcadores prometen ser una herramienta útil en la predicción de la respuesta ovárica a las gonadotrofinas, lo que permitirá contar con una asesoría objetiva sobre el desempeño de la función ovárica previa a un ciclo de FIV-ICSI, resultados que motivan ampliar el estudio y consolidar su valor estadístico.

Palabras clave: reserva ovárica, respuesta ovárica, infertilidad, hormona anti-mülleriana, número de folículos antrales, volumen ovárico.

ABSTRACT

Background: Despite of clinical and scientific efforts, nowadays there is not an optimal predictive marker for ovarian response. Serum levels of anti-Müllerian hormone, number of antral follicles and ovarian volume are proposed as predictive markers for ovarian response.

Objective: To identify the usefulness of anti-Müllerian hormone, the number of antral follicles and ovarian volume as predictive markers for ovarian response in the clinical practice.

Patients and methods: A prospective and cross study. Thirty infertile patients candidates for ovarian stimulation and *in vitro* fertilization-intracytoplasmic sperm injection (IVF-ICSI) cycles were included. Serum levels of anti-Müllerian hormone were determined during the initial follicular phase (days 2-5), the number of antral follicles and ovarian volume were determined by endovaginal ultrasound.

Results: Serum levels of anti-Müllerian hormone was the marker most strongly associated with ovarian response with $p = 0.0017$. The low serum levels of anti-Müllerian hormone, ovarian volume < 3cm³ and the number of antral follicles < 5 per ovary are correlated with poor ovarian response and more cancelled cycles due to low ovary response.

Conclusions: Anti-Müllerian hormone proved to be a reliable marker of ovarian response, in addition to its significant correlation with ovarian volume and number of antral follicles. These markers seems to be a useful tool for predicting ovarian response to gonadotrophins, which allows to provide objective advice on the performance of ovarian function prior to an IVF/ICSI cycles. The results motivate to expand the study to consolidate its statistic value.

Key words: ovarian reserve, ovarian response, infertility, anti-Müllerian hormone, antral follicles number, ovarian volume.

A pesar de grandes esfuerzos clínicos y científicos, hoy día no se cuenta con un marcador predictivo confiable de respuesta ovárica en pacientes estimuladas y sometidas a fecundación *in vitro* (FIV). Diferentes estudios coinciden en que la respuesta ovárica durante un ciclo de FIV juega un papel determinante en el pronóstico de embarazo, por lo que el compromiso clínico es identificar a las pacientes que responderán adecuadamente y poder decidir cuáles se verán favorecidas con las técnicas de reproducción asistida. Diversos marcadores de respuesta ovárica –que pueden ser clínicos, bioquímicos y ultrasonográficos– se han propuesto y utilizado en la práctica clínica; sin embargo, debido a su bajo valor predictivo son una limitante para identificar a la mujer baja respondedora que ante dos ciclos de estimulación ovárica responde con cuatro folículos o menos o concentraciones séricas de estradiol menores de 500 pg/mL el día de la administración de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG).¹ También pueden excluir a una paciente de edad avanzada que sea apta a técnicas de reproducción asistida.

La hormona anti-mülleriana pertenece a la superfamilia del factor- β de transformación de crecimiento. En la mujer se produce en las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales. En conjunto con otras dos moléculas (factor 9 de diferenciación y crecimiento y la proteína 15 morfogénica de hueso) inhibe el inicio del crecimiento folicular prematuro y disminuye la sensibilidad de los folículos dependientes de FSH en su proceso de selección.²⁻⁶ Las concentraciones de hormona anti-mülleriana se distinguen por tener un descenso progresivo con la edad, desde la adolescencia hasta la

menopausia, reflejado por la disminución del número de folículos ováricos,⁶ por lo que se ha considerado una prueba predictiva de respuesta ovárica durante los ciclos de fertilización *in vitro*. Recientemente Gnoth y col. postularon que pacientes con concentraciones séricas de hormona anti-mülleriana iguales o menores a 1.26 ng/mL responderán con cuatro folículos o menos.⁷

Durante la segunda etapa del proceso fisiológico de la foliculogénesis el crecimiento folicular depende de las gonadotropinas, sobre todo a partir de la etapa antral, periodo en que los folículos miden aproximadamente 4 mm y pueden visualizarse fácilmente mediante ultrasonografía transvaginal. Debido a que la valoración ecográfica es un estudio sencillo, barato, confiable, que se realiza de rutina durante las estimulaciones ováricas en ciclos de fertilización *in vitro*, se le ha sugerido como una herramienta más que se agrega a las pruebas predictivas de respuesta ovárica, en ciclos de estimulación ovárica durante los tratamientos de reproducción asistida.⁸ Además, varios artículos refieren que identificar en una etapa folicular temprana cuatro o menos folículos antrales puede ser un marcador predictivo de baja respuesta, ya que coincide con el número de folículos que se desarrollan durante un ciclo estimulado con gonadotropinas exógenas.⁹⁻¹⁴ Junto con los marcadores bioquímicos y el número de folículos antrales, el volumen ovárico igual o menor de 3 cm³ se ha sugerido como una prueba superior en la predicción de baja respuesta durante un ciclo de fertilización *in vitro*.^{15,16}

Con el fin de seleccionar adecuadamente a las pacientes aptas para la fertilización *in vitro* y contar con una prueba sumamente específica de respuesta ovárica, el objetivo de este trabajo fue investigar si la asociación de tres marcadores o variables (concentraciones séricas basales de hormona anti-mülleriana, número de folículos antrales y el volumen ovárico) tiene un valor predictivo superior al de los parámetros individuales disponibles en la actualidad y cuál es el de mayor correlación para predecir la respuesta ovárica.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo y transversal.

Población: se estudiaron 30 mujeres entre 22 y 41 años de edad sometidas a fertilización *in vitro*-inyección

* Instituto Médica Fértil, Santiago de Querétaro, México.

** Instituto Médica Fértil, San Luis Potosí, México.

Correspondencia: Dr. Rafael A Sánchez Usabiaga. Prolongación Constituyentes 218, colonia El Jacal, CP 76180, Querétaro, Qro., México.

Correo electrónico: sanchezr@institutomedicafertil.com

Recibido: enero, 2009. Aceptado: marzo, 2009.

Este artículo debe citarse como: Sánchez URA, Romero TS, Hurtado AR, Batista EA y col. Correlación de tres marcadores predictivos de respuesta ovárica en ciclos de fertilización *in vitro*: hormona anti-mülleriana, número de folículos antrales y volumen ovárico. Rev Mex Reprod 2009;1(4):139-44.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.nietoeditores.com.mx

intracitoplasmática de espermatozoides (FIV-ICSI) en el Instituto Médica Fértil, de octubre de 2008 a marzo de 2009 (cuadro 1). Se incluyeron las pacientes con edad de 20 a 45 años, con ambos ovarios. Se excluyeron las pacientes con un solo ovario, así como con uno o más folículos ≥ 12 mm durante la valoración ultrasonográfica basal. Las principales indicaciones de tratamiento de reproducción asistida fueron: factor tubo-peritoneal, factor masculino severo e infertilidad de origen desconocido.

Protocolo de estudio: a todas las pacientes se realizó determinación sérica de hormona anti-mülleriana en la fase folicular inicial (días 2 a 5). Durante la misma visita se realizó ultrasonido transvaginal con un transductor 7.5 MHz (Honda 2000, Japón) y se determinó el número de folículos antrales y el volumen de ambos ovarios. El número de folículos antrales se definió como el total de folículos entre 2 y 10 mm presentes en ambos ovarios. El volumen ovárico se calculó mediante la fórmula de medición de volumen de un elipse ($\pi/6 \times$ longitud \times ancho

\times altura). Se determinó la media del volumen ovárico. Las mujeres con ovarios con un folículo mayor de 12 mm se excluyeron del estudio. La estimulación ovárica se realizó mediante la administración de menotropinas urinarias altamente purificadas (Merapur 75 UI, Ferring farmacéutica, Kiel, Alemania y Fostimon 75 UI, IBSA, Suiza). Con el desarrollo de dos o más folículos con diámetro mayor de 20 mm, se aplicó hGC (10,000 UI) vía intramuscular o subcutánea (según la preferencia de la paciente), la aspiración transvaginal de ovocitos se realizó a las 36 horas de la aplicación de la hGC. En todas las pacientes se administraron antagonistas de la GnRH vía subcutánea (Cetrotide 0.25 mg, Merck, Serono), que se aplicaron cuando un folículo alcanzaba un diámetro mayor de 16 mm.

La transferencia de embriones se realizó dos a tres días después de la captura ovocitaria. El soporte de la fase lútea se realizó con cápsulas de progesterona micronizada (Utrogestan) 400 mg/día vía vaginal u oral de

Cuadro 1. Información básica de la población

	Total n = 30	Respuesta baja n = 8	Respuesta normal n = 22
Edad (años)	33 (22-41)	36.3 (27-41)	32.3 (24-40)
Infertilidad primaria	28	8	20
Infertilidad secundaria	2	0	2
Infertilidad de origen desconocido	7	1	6
Factor masculino	5	1	4
Factor endocrino ovárico	6	1	5
Endometriosis	4	1	3
Factor tubario	6	0	6
Factor uterino	2	1	1
Edad materna avanzada	3	2	1
Pacientes con dos o más factores	7	2	5
Duración de la infertilidad (años)	4.4 (1-12)	4 (1-9)	4.38 (0-12)
Tratamiento			
Dosis promedio de HMG	1,591 UI	1,643.7 UI	1,460 UI
Dosis promedio de FSH	1,127 UI	890.6 UI	1,145 UI
Duración de la estimulación (días)	8.8 (6-13)	8.2	9 (7-13)
Variables			
Número de óvulos	8.6 (0-21)	1.75 (0-3)	11.4 (4-21)
Hormona anti-mülleriana (ng/mL)	4.9 (0-14.5)	0.675 (0-2.0)	6.6 (0.3-14.55)
Folículos antrales	2-22	6.6 (2-10)	10 (3-22)
Volumen ovárico	1.9-26.2	4.4 (1.9-6.4)	8.6 (2.1-26.2)

acuerdo con la preferencia de la paciente. Para la medición de la hormona anti-mülleriana se utilizó la prueba de ELISA sensible (MIS/AMH ELISA Kit DSL, Sistema de Laboratorio Diagnóstico, Inc./Beckman-coulter) según las instrucciones del fabricante.

El análisis entre las variables de quienes tuvieron respuesta bajas y normal se realizó con estudio de correlación de Pearson y *t* de Student para la diferencia de la media de estas dos poblaciones distintas.

RESULTADOS

El estudio de correlación entre variables comparó cada una de ellas (folículos antrales, concentraciones séricas de hormona anti-mülleriana y volumen ovárico) con el número de ovocitos obtenidos por aspiración folicular posterior a estimulación ovárica. Se consideraron bajas respondedoras a las pacientes en quienes se obtuvieron cuatro o menos ovocitos.¹⁷ Las concentraciones consideradas de mal pronóstico para respuesta ovárica son: volumen ovárico $\leq 3 \text{ cm}^3$, hormona anti-mülleriana $\leq 1.26 \text{ ng/mL}$ y ≤ 4 folículos antrales (cuadros 2 y 3). Las pacientes con baja respuesta tuvieron, en promedio, una medición sérica de hormona anti-mülleriana de 0.675 ng/mL , volumen ovárico de 4.4 cm^3 y 6.6 folículos antrales (cuadro 1). Estadísticamente todas las variables tuvieron correlación; se utilizó *t* de Student para encontrar la variable de mayor asociación; la hormona anti-mülleriana fue el parámetro que de manera directamente proporcional se asoció más estrechamente con respuesta ovárica, con una *p* de 0.0017 (cuadro 4).

CONCLUSIONES

Este estudio prospectivo demuestra que las concentraciones séricas de la hormona anti-mülleriana se correlacionan significativamente con el volumen ovárico y con el número de folículos antrales. Esta respuesta se basó en el número de óvulos obtenidos durante el proceso de aspiración folicular en ciclos estimulados para FIV-ICSI.

Se han informado diferentes pruebas para predecir la respuesta ovárica, como concentraciones de FSH, de estradiol,¹⁸⁻²¹ inhibina sérica B,²²⁻²³ prueba de citrato de clomifeno;²⁴ sin embargo, un porcentaje significativo

Cuadro 2. Correlación *r* de Pearson entre variables en bajas respondedoras

Variable	<i>r</i> de Pearson
Comparación entre número de folículos antrales y el resto de las variables	
Volumen ovárico	0.74
Hormona anti-mülleriana	0.8
Comparación entre volumen ovárico y el resto de las variables	
Folículos antrales	0.3
Hormona anti-mülleriana	0.26
Comparación entre concentraciones de hormona anti-mülleriana y el resto de las variables	
Volumen ovárico	0.26
Folículos antrales	0.8

Cuadro 3. Correlación *r* de Pearson entre variables en buenas respondedoras

Variable	<i>r</i> de Pearson
Comparación entre número de folículos antrales y el resto de las variables	
Volumen ovárico	0.74
Hormona anti-mülleriana	0.72
Comparación entre volumen ovárico y el resto de las variables	
Folículos antrales	0.74
Hormona anti-mülleriana	0.66
Comparación entre concentraciones de hormona anti-mülleriana y el resto de las variables	
Volumen ovárico	0.66
Folículos antrales	0.72

de pacientes puede mostrar una respuesta baja, lo que obliga a buscar diferentes alternativas que proporcionen mayor confiabilidad. Decidimos correlacionar tres marcadores diferentes en un esfuerzo por conocer nuevas herramientas predictivas de respuesta ovárica que faciliten el proceso de selección de pacientes aptas para ciclos de estimulación ovárica durante ciclos de FIV-ICSI.

En los últimos 10 años, el número de folículos antrales surgió como un marcador predictivo confiable de respuesta ovárica en ciclos de FIV,¹⁸⁻²¹ incluso se ha reportado como la prueba individual más confiable durante una estimulación ovárica.^{18,25-30,32,33} En este estudio prospectivo, verificamos que el número de folículos antrales es un marcador predictivo confiable de respuesta ovárica.

Cuadro 4. Análisis estadístico con *t* de Student

		< 4 ovocitos		
<i>p</i>		0.0044	0.0098	0.0017
> 4 ovocitos	<i>t</i> de Student	Folículos antrales	Volumen ovárico	Hormona anti-mülleriana
	Folículos antrales	2.81		
	Volumen ovárico		2.46	
	Hormona anti-mülleriana			3.18

En pacientes con menos de cinco folículos antrales se obtiene un menor número de ovocitos que en aquéllas con cinco o más folículos antrales, hallazgos que coinciden con estudios publicados previamente.^{9-14,18,26-30,34}

Lass y col. encontraron que la medición del volumen ovárico mediante el ultrasonido pélvico transvaginal, previa al ciclo de estimulación ovárica con menotropinas durante ciclos de FIV, puede predecir la baja respuesta ovárica,¹⁶ además de que la medición del volumen ovárico es un método útil para determinar la severidad del síndrome de hiperestimulación ovárica.³⁵

Recientemente se publicaron estudios acerca de la hormona anti-mülleriana y su capacidad predictiva de respuesta ovárica en pacientes sometidas a FIV-ICSI.³⁶ El conjunto de nuestros resultados demuestra que las concentraciones séricas de hormona anti-mülleriana, el número de folículos antrales y el volumen ovárico son marcadores prometedores confiables para evaluar la respuesta ovárica previa a ciclos de FIV-ICSI y, por tanto, hace posible proporcionar a la paciente una asesoría adecuada acerca de quiénes tendrán una respuesta baja e identificar a las pacientes con riesgo de hiperestimulación ovárica. Por ser una muestra pequeña, este estudio motiva a ampliarlo a una muestra mayor y así obtener resultados estadísticamente significativos.

En conclusión, combinar las concentraciones séricas de hormona anti-mülleriana con el ultrasonido endovaginal (procedimiento no invasor, barato y fundamental en la estimulación ovárica) otorga una nueva alternativa sumamente reproducible para la adecuada práctica clínica, con la que es posible proporcionar una asesoría confiable acerca de la respuesta ovárica en pacientes sometidas a estimulación ovárica en ciclos de FIV-ICSI.

REFERENCIAS

- Karande V, Gleicher N. A rational approach to the management of low responders in IVF. *Hum Reprod* 1990;145:1744.
- Grujters MJ, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol* 2003;211:85-90.
- Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005;234:81-86.
- Knight PG, Glicker C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006;132:191-206.
- Visser JA, de Jong FH, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006;131:1-9.
- Van Rooij IA, Broekmans FJ, Hunault CC, Scheffer GJ, et al. Use of ovarian reserve test for the prediction of ongoing pregnancy in couples with unexplained or mild male infertility. *Reprod Biomed Online* 2006;12:182-90.
- Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. Relevance of anti-Müllerian hormone measurement in a routine IVF program. *Hum Reprod* 2008;23:1359-65.
- Barreto M, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the *in vitro* fertilization outcome in an egg donation program. *Fertil Steril* 2009;91:148-56.
- Bancsi LFJMM, Broekmans FJM, Looman CWN, et al. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing *in vitro* fertilization. *Hum Reprod* 2004;81:35-41.
- Durmugoglu F, Elter K, Yoruk P, Erenus M. Combining cycle day 7 follicle count with the basal antral follicle count improves the prediction of ovarian response. *Fertil Steril* 2004;81:1073-8.
- Ng EH, Chan CC, Tang OS, Yeung WSB, Ho PC. Effect of pituitary downregulation on antral follicle count, ovarian volume and stromal blood flow measured by three-dimensional ultrasound with power Doppler prior to ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2004;19:2811-5.
- Hendriks 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.

13. Kline J, Kinney A, Kelly A, Reuss ML, Levin B. Predictors of antral follicle count during the reproductive years. *Hum Reprod* 2005;20:2179-89.
14. Ng EH, Chan CC, Tang OS, Ho PC. Antral follicle count and FSH concentration after clomiphene citrate challenge test in the prediction of ovarian response during IVF treatment. *Hum Reprod* 2005;20:1647-54.
15. Erdem M, Erdem A, Gursoy R, Biberoglu K. Comparison of basal and clomiphene citrate induced FSH and inhibin B, ovarian volume and antral follicle counts as ovarian reserve test and predictors of poor ovarian response in IV. *J Assist Reprod Genet* 2004;21:37-45.
16. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston R. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for *in-vitro* fertilization can predict poor response. *Hum Reprod* 1997;12:294-7.
17. Surrey E, Schoolcraft W. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000;73:667-76.
18. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, et al. Predictors of poor ovarian response in *in vitro* fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002;77:328-36.
19. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of *in vitro* fertilization treatment. *Lancet* 1996;23:1402-6.
20. Toner JP. Ovarian reserve, female age and the chance for successful pregnancy. *Minerva Ginecol* 2003;55:399-406.
21. Hansen KR, Thyer AC, Sluss PM, Bremner WJ, et al. Reproductive ageing and ovarian function: is the early follicular phase FSH rise necessary to maintain adequate secretory function in older ovulatory women? *Hum Reprod* 2005;20:89-95.
22. Corson SL, Gutmann J, Batzer FR, Wallace H, et al. Inhibin-B as a test of ovarian reserve for infertile women. *Hum Reprod* 1999;14:2818-21.
23. Kwee J, Elting MW, Schats R, Bezemer PD, et al. Comparison of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian hyperstimulation in IVF treatment: results of a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2003;18:1422-7.
24. Hendricks DJ, Broekmans FJ, Bancsi LF, Jong FH, et al. Repeated clomiphene citrate challenge testing in the prediction of outcome in IVF: a comparison with basal markers for ovarian reserve. *Hum Reprod* 2005;20:163-9.
25. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, et al. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999;72:845-51.
26. Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in *in-vitro* fertilization. *Hum Reprod* 1997;12:220-3.
27. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1998;69:505-10.
28. Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remohí J, et al. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle-stimulating hormone using three dimensional ultrasonography. *Fertil Steril* 1998;70:671-5.
29. Pohl M, Hohlagschwandtner M, Obruca A, Poschalko G, et al. Number and size of antral follicles as predictive factors *in vitro* fertilization and embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 2000;17:315-8.
30. Huang FJ, Chang SY, Tsai MY, Kung FT, et al. Determination of the efficiency of controlled ovarian hyperstimulation in the gonadotropin-releasing hormone agonist suppression cycle using the initial follicle count during gonadotrophin stimulation. *J Assist Reprod Genet* 2001;18:91-96.
31. Ng EH, Yeung WS, Ho PC. The significance of antral follicle count in controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination. *J Assist Reprod Genet* 2000;22:323-8.
32. Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Antral follicle counting in predicting the retrieved oocyte number after ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet* 2001;18:320-4.
33. Nahum R, Shifren JL, Chang Y, Leykin L, et al. Antral follicle assessment as a tool for predicting outcome in IVF —is it a better predictor than age and FSH? *J Assist Reprod Genet* 2001;18:151-5.
34. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in *in vitro* fertilization cycles. *Fertil Steril* 2003;80:350-5.
35. Dahl Lyons CA, Wheeler CA, Frishman GN, Hackett RJ, et al. Early and late presentation of ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities. *Hum Reprod* 1994;9:792-9.
36. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, et al. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test of the prediction of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2008;90:737-43.