

# Anti-Müllerjev hormon – napovednik ovarijske rezerve

Anti-Müllerian hormone – a predictor of ovarian reserve

Helena Meden-Vrtovec,<sup>1</sup> Joško Osredkar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ginekološka klinika, Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup> Univerzitetni klinični center Ljubljana, Inštitut za klinično kemijo in biokemijo, Zaloška 7, 1000 Ljubljana

## Korespondenca/ Correspondence:

prof. dr. Helena Meden-Vrtovec, dr. med., višja svetnica, specialistka ginekologije in porodništva, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ginekološka klinika, Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana

## Ključne besede:

AMH – anti-Müllerjev hormon, ovarijska rezerva, sindrom policističnih jajčnikov, prezgodnja odpoved delovanja jajčnikov

## Key words:

anti-Müllerian hormone, ovarian reserve, polycystic ovary syndrome, premature ovarian failure

## Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2010; 79: 507–11

Prispelo: 25. jan. 2010,  
Sprejeto: 2. apr. 2010

## Izvleček

**Izhodišča:** Pozno odločanje za rojstvo prvega otroka je postavilo v ospredje vprašanje o načinu ugotavljanja ravni ovarijske rezerve in s tem tudi rodne sposobnosti. Med najzanesljivejše kazalce delovanja jajčnikov je doslej sodilo določanje koncentracije folikle stimulirajočega hormona (FSH), čigar slabost je nihanje iz fizioloških v bolezenska območja tudi nekaj let pred dokončnim izčrpanjem ovarijske rezerve. V zadnjem desetletju se kot napovednik ovarijske rezerve uveljavlja anti-Müllerjev hormon (AMH), ki nastaja v granuloznih celicah jajčnika in uravnava razvoj do primarnih foliklov z inhibicijskim delovanjem na izločanje FSH. AMH ni le označevalec populacije majhnih antralnih foliklov, temveč tudi napovednik kakovosti oocitov. Pri moških se je določanje AMH uveljavilo le pri diagnostiki interseksualnih stanj zaradi abnormne diferenciacije testisa, pri ženskah pa je v ospredju kot najbolj zanesljiv kazalec ovarijske rezerve pri prezgodnji menopavzi in čezmerne rezerve majhnih antralnih foliklov pri ženskah s policističnimi jajčniki.

**Zaključek:** Dosedanje raziskovalno in klinično delo kaže, da se bo določanje AMH v serumu uveljavilo kot najbolj zanesljiv kazalec stanja ovarijskih foliklov.

## Uvod

Ugotavljanje ovarijske rezerve je v današnjem času zelo aktualno, saj je v razvitih državah načrtovanje prve nosečnosti odmaknjeno v pozno fazo rodne obdobja. Kronološka starost se pri ženskah ne ujema vedno z biološko starostjo. Ženske, ki imajo redne menstruacijske cikle, imajo lahko različne ravni ovarijske rezerve, s tem pa

## Abstract

**Background:** Since women nowadays experience late decision for the delivery of the first child the question of screening strategies for ovarian reserve determination and fertility potential seems to be crucial. As the most reliable marker of ovarian function FSH determination has been used, but the method is limited with fluctuation from physiologic to pathologic levels up to some years before exhaustion of ovarian reserve. In the past ten years determination of anti-Müllerian hormone (AMH) concentration in serum has become most relevant. AMH is produced and secreted by granulosa cells and regulates the development of primary follicles with inhibitory action on FSH secretion. AMH does not only predict the pool of small antral follicles but can also be a predictor of oocyte quality. In men AMH determination has been useful in diagnostic procedures for intersex conditions with abnormal testicular differentiation, while in women AMH tends to be the most reliable marker for small antral follicle pool in premature ovarian failure and the marker of increased reserve of small antral follicles in women with polycystic ovaries.

**Conclusion:** Recent scientific and clinical data suggest that AMH determination will be used as the most reliable marker of ovarian follicular status.

tudi različno trajanje obdobja, ko so rodno sposobne. Zato so v središču pozornosti poskusi, da bi našli zanesljiv kazalec, ki bi omogočil oceno ovarijske rezerve.

Doslej uveljavljeni testi – posamično ali v različnih kombinacijah – niso izpolnili kliničnih pričakovanj. Med najzanesljivejše teste sodi določanje bazalne koncentracije folikle stimulirajočega hormona (FSH), ki ob ponovitvah zvečanih vrednostih kaže na

zmanjšano ovarijsko rezervo. Pomanjkljivost tega testa je občasno padanje in naraščanje koncentracije FSH že nekaj let pred dokončnim izčrpanjem ovarijske rezerve. Zato je pri ženskah z rednimi menstrualnimi ciklusi izredno težko določiti tisto koncentracijo, ki opredeljuje usihanje dejavnosti jajčnikov.<sup>1,2</sup>

Dejavnost jajčnikov zrcali tudi koncentracija inhibinov, dimerično-disulfidno vezanih glikoproteinov, zgrajenih iz podenot  $\alpha$  in  $\beta$ . Inhibin B nastaja v majhnih foliklih, koncentracija v zgodnji foliklovi fazi pa naj bi zrcalila zmanjšano ovarijsko rezervo, kadar so vrednosti manj kot 45 pg/ml.<sup>3</sup> Ker inhibini nastajajo tudi v drugih tkivih (možgani, kostni mozeg, hipofiza), bi pravo diagnostično vrednost pokazale le koncentracije v foliklu; takšno določanje pa bi bilo v vsakdanji klinični praksi težko izvedljivo.

Tudi stimulacijski test s klomifen citratom ni tako zanesljiv, da bi lahko natančno opredelili stopnjo ovarijske rezerve, zelo ne-normalni rezultati pa nakazujejo slabo napoved pri zdravljenju neplodnosti.<sup>4,5</sup>

Določanje števila antralnih foliklov (AFC) in volumna jajčnikov se uporablja pri napovedovanju odziva na spodbujanje jajčnika, vendar je ta test odvisen od številnih spremenljivk (kakovost ultrazvočne naprave, izkušnost preiskovalca). Ustrezno izveden test pa kaže negativno povezanost med volumnom jajčnikov, starostjo preiskovanke in bazalnimi koncentracijami FSH.<sup>6</sup> V začetni fazi popuščanja delovanja jajčnikov je ta test nezanesljiv, ker je ob zvečani koncentraciji FSH jajčnik čezmerno spodbujen in ne kaže resničnega stanja.

Med označevalce ovarijske rezerve sodi tudi anti-Müllerjev hormon (AMH), ki v zadnjem desetletju postaja vse pomembnejši kazalec zaloge primarnih foliklov.

## Anti-Müllerjev hormon – fiziologija

AMH se imenuje po Johanessu Petru Müllerju (1801–1858), ki je bil znamenit nemški fiziolog in anatom in je med prvimi raziskal sistem vodov sečil, ki se po njem imenujejo Müllerjevi vodi, iz katerih se razvijejo notranji spolni organi pri ženski. V

embrionalnem razvoju AMH izločajo Sertolijeve celice testisa in preprečujejo razvoj Müllerjevih vodov v maternico in druge strukture, ki nastanejo iz Müllerjevih vodov (jajcevod, zgornja tretjina vagine).<sup>7</sup> Učinek je ipsilateralen, tako da testis zavira razvoj Müllerjevih vodov le na svoji strani. Sproščati se začne v 8. tednu embrionalnega razvoja in uravnava razvoj notranjih spolnih organov. Najbolj značilen učinek AMH, ki poteka prek receptorjev AMH tipa II, je programirana celična smrt (apoptoza) na tarčnih tkivih (fetalni Müllerjevi vodi pri zarodku moškega spola).

Pri moških se AMH lahko določa v krvi v otroštvu in v odrasli dobi, pri ženski pa ga ne najdemo do pubertete. Nastaja v granuloznih celicah jajčnika in uravnava razvoj do primarnih foliklov z inhibicijskim delovanjem na izločanje FSH.<sup>8,9</sup> Vrednosti se zmanjšujejo s staranjem in postanejo v predmenopavznem obdobju nemerljive.<sup>10</sup>

## Metode za določanje anti-Müllerjevega hormona

AMH določamo s tehniko ELISA. Na trgu sta reagenta dveh proizvajalcev, in sicer DSL (Diagnostic System laboratories) in Beckman Coulter. Na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo smo v preteklosti uporabljali reagent proizvajalca DSL, ki nima določene razmejitvene vrednosti, na osnovi testiranja naše populacije pa smo dobili razmejitveno vrednost pri 1,2 mg/l. Vrednosti, ki so jih v dosedanjih raziskavah pridobili za serumski AMH z Beckman reagentom Coulter pa so v območju med 0,7 mg/l in 3,5 mg/l. Vrednosti pod 0,3 mg/l razumemo kot znižane in kažejo na manjše število foliklov in zmanjšano rodno sposobnost. Vrednosti med 0,3 mg/l in 0,7 mg/l so mejno nizke, vrednosti med 3,5 mg/l in 5,0 mg/l so mejno visoke, medtem ko so vse vrednosti nad 5,0 mg/l visoke in kažejo na policistične jajčnike.

## Anti-Müllerjev hormon – označevalec kakovosti gametogeneze

V reproduktivnem obdobju je koncentracija AMH povezana s številom majhnih antralnih foliklov ( $\leq 12$  mm), ni pa povezana s številom večjih antralnih foliklov ( $> 12$  mm), kar so dokazali v ciklikih nadzorovane ovarijske hiperstimulacije.<sup>11</sup> Majhne vrednosti AMH pomenijo majhno količino majhnih antralnih foliklov, kar predstavlja majhno ovarijsko rezervo.<sup>12</sup> AMH ni odvisen od ravni FSH, saj se v fiziološki nosečnosti, ko so vrednosti FSH znižane, koncentracija AMH ne spremeni in ostane stalna.<sup>13</sup> To pomeni, da je AMH gonadotropinsko neodvisen in odslkava le velikost populacije foliklov. V normalnem menstruacijskem ciklusu so vrednosti AMH stalne od 2. do 6. dneva ciklusa,<sup>14</sup> v stimuliranih ciklikih pa se vrednosti AMH napredujoče znižujejo do pozne folikularne faze.<sup>15</sup> Zmanjšanje vrednosti AMH v času nadzorovane stimulacije jajčnikov lahko razložimo z rastjo manjših foliklov, v katerih pride do diferenciacije granuloznih celic, s tem pa je tudi zmanjšana možnost tvorbe AMH.<sup>16</sup>

Koncentracija serumskega AMH je nedvomno povezana s številom antralnih foliklov, zrcali pa tudi kakovost oocitov, saj so v raziskavi, v kateri so primerjali kakovost oocitov pri ženskah z normalnimi in zmanjšanimi vrednostmi AMH, našli razlike med obema skupinama.<sup>17</sup> Ugotovili so povezavo med nizkimi vrednostmi AMH, slabšo kakovostjo oocitov in agregacijo gladkega endoplazemskega retikuluma, medtem ko bazalne vrednosti FSH niso ustrezno napovedale kakovosti gamet. Zaključujejo, da je določanje AMH bolj zanesljiv napovedni dejavnik glede števila in kakovosti oocitov kot bazalne vrednosti FSH.

Pri zarodku moškega spola AMH, ki ga izločajo Sertolijeve celice, povzroča regresijo Müllerjevih vodov. Pri odraslem moškem vloga AMH še ni povsem pojasnjena, vendar so v eni od raziskav<sup>18</sup> ugotovili, da je koncentracija AMH v semenski tekočini zelo pomemben neinvazivni označevalec vztrajajoče hipospermatogeneze pri neobstruk-

tivni azoospermiji, kar napoveduje tudi stopnjo uspešnosti pridobivanja testikularnih spermatozoev pred uvedbo postopka intracitoplazemske injekcije spermijev v oocite.

AMH se je izkazal tudi kot kazalec števila Sertolijevih celic in njihovega delovanja pri moških z nespuščenimi testisi. Pri teh je AMH negativno povezan s FSH in pozitivno z volumnom testisa in s koncentracijo semenčic.<sup>19</sup> Nizke vrednosti AMH so ugotovili tudi pri interseksualnih stanjih zaradi abnormne diferenciacije testisa (čista in delna gonadna disgenezija). Določanje AMH je zato pomemben diagnostični pripomoček za ugotavljanje dejavnosti Sertolijevih celic pri otrocih z interseksualnim stanjem, ker omogoča ločevanje med motnjami spolne diferenciacije zaradi abnormne determinacije testisa in tistimi, ki so zgolj posledica izolirane motnje v izločanju ali v delovanju testosterona.<sup>20</sup>

AMH in FSH nista napovednika dejavnosti Leydigovih celic in tvorbe testosterona, kar so ugotovili v raziskavi, v kateri niso našli povezanosti med hipogonadizmom pri moških, ki so pri zdravljenju karcinoma prejemali gonadotoksična sredstva.<sup>21</sup>

## Anti-Müllerjev hormon pri policističnih jajčnikih

Pri policistični bolezni jajčnikov (PCOS) so vpletene številne klinične in biokemične značilnosti, ki so jih opredelili z Rotterdamskim konsenzom.<sup>22</sup> Znano je, da je količina antralnih foliklov pri ženskah s PCOS povečana zaradi motnje v izbiri dominantnega folikla, kar povzroča anovulacijo. Kopičijo se majhni antralni folikli, ki bistveno prispevajo k tvorbi AMH. Raven serumskega AMH je pozitivno povezana s številom ovarijskih foliklov premera 2–5 mm, ne pa tudi tistih premera 6–9 mm.<sup>23</sup> Dva- do trikrat večje število antralnih foliklov je povezano z dva- do trikrat večjimi koncentracijami AMH. Serumske vrednosti AMH pa so zvečane tudi pri anovulacijskih ženskah brez PCOS v primerjavi z vrednostmi normo-ovulacijskih žensk, kar nakazuje prisotnost večje količine majhnih foliklov.<sup>24</sup>

Koncentracija serumskega testosterona pri ženskah s PCOS ni povezana z vrednostjo

AMH. Ker AMH zavira delovanje encima aromataze, se lokalno zveča koncentracija androgenov, kar lahko spodbuja nastajanje AMH. Ta povezava še ni dokazana, sodi pa v skupino pozitivnih povezanosti, ki jih ima AMH pri ženskah s PCOS: dolžina ciklusa, povprečni volumen jajčnika, raven serumskega testosterona in androstendiona ter indeks prostih androgenov. Niso pa našli povezave med AMH in serumskimi vrednostmi inhibina B in estradiola.<sup>23,24</sup>

Velik delež žensk s PCOS ima tudi čezmerno telesno težo s posledično odpornostjo na inzulin in hiperinzulinemijo. Zvečana raven inzulina lahko pri nekaterih ženskah s PCOS dodatno povzroča hiperandrogenizem, ker inzulin deluje sinergistično z LH pri spodbujanju tvorbe androgenov v celicah teka.<sup>25</sup> Zmanjšanje koncentracije inzulina z zdravili, ki znižujejo raven inzulina v krvi, posredno zmanjšuje tudi tvorbo androgenov in raven AMH, vendar se število ovarijskih foliklov ne zmanjša bistveno.<sup>26</sup>

S staranjem se raven AMH zmanjšuje, vendar bistveno manj kot pri ženskah brez PCOS. Možno je, da imajo ženske s PCOS že intrinzično večjo zalogo primordialnih foliklov ali pa visoka raven AMH zavira razvoj primordialnih foliklov.<sup>27,28</sup>

Neodvisnost AMH od koncentracije FSH so dokazali tudi v raziskavi, v kateri so ženskam s PCOS in zdravim ženskam intravensko dali 150 IU FSH. Ženske s PCOS so imele pomembno večje vrednosti AMH kot zdrave ženske, vendar pri nobeni od obeh skupin ni prišlo do sprememb v serumski koncentraciji AMH po dodajanju FSH.<sup>29</sup>

## Zaključek

Dosedanje raziskave in klinično delo, ki opredeljuje vlogo AMH v oceni delovanja jajčnikov, pa tudi naše izkušnje<sup>30</sup> kažejo, da plazemske vrednosti AMH odslkavajo velikost ovarijske rezerve v normalnih in abnormnih oblikah delovanja jajčnikov.

## Literatura

1. Metcalf MG, Donald RA, Livesey JH. Pituitary-ovarian function in normal women during the menopausal transition. *Clin Endocrinol* 1981; 14: 245-55.

2. Metcalf MG, Donald RA. Fluctuating ovarian function in a perimenopausal women. *N Z Med J* 1979; 89: 45-7.
3. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2742-5.
4. Csemiczky G, Harlin J, Fried G. Predictive power of clomiphene citrate challenge test for failure of in vitro fertilization treatment. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81: 954-61.
5. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 581-90.
6. Erdem M, Erdem A, Biberoglu K, Arslan M. Age-related changes in ovarian volume, antral follicle counts and basal follicle stimulating hormone levels: comparison between fertile and infertile women. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17: 199-205.
7. Behringer RR. The in vivo roles of Müllerian-inhibiting substance. *Curr Top Dev Biol* 1994; 29: 171-87.
8. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 77-83.
9. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006; 131: 1-9.
10. Mulders AG, Laven JS, Eijkemans MJ, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Changes in anti-Müllerian hormone serum concentrations over time suggest delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility. *Hum Reprod* 2004; 19: 2036-42.
11. Fanchin R, Schonäuer 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.
12. Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod* 2005; 20: 923-7.
13. La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Hum Reprod* 2005; 20: 1569-72.
14. La Marca A, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, et al. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Hum Reprod* 2004; 19: 2738-41.
15. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2003; 18: 328-32.
16. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, et al. Anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian

- hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology* 1995; 136: 4951–62.
17. 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. *Hum Reprod* 2006; 21: 2022–6.
  18. Fénelon P, Rey R, Poggioli S, Donzeau M, Chevallier D, Pointis G. Anti-Müllerian hormone as a seminal marker for spermatogenesis in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1999; 14: 2020–4.
  19. Tüttelmann F, Dykstra N, Themmen AP, Visser JA, Nieschlag E, Simoni M. Anti-Müllerian hormone in men with normal and reduced sperm concentration and men with maldescended testes. *Fertil Steril* 2009; 91: 1812–9.
  20. Rey RA, Belville C, Nihoul-Fékété C, Michel-Calemard L, Forest MG, Lahlou N, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 627–31.
  21. Greenfield DM, Walters SJ, Ross RJM, Coleman RE, Hancock BV, Snowden JA, et al. Inhibin B and AMH are not predictors of serum testosterone in young men after cancer. *Endocrine* 2009; 19: P286.
  22. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19: 41–7.
  23. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S, et al. Elevated serum level of anti-Müllerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5957–62.
  24. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 318–23.
  25. Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28: 361–78.
  26. Fleming R, Harborne L, MacLaughlin DT, Ling D, Norman J, Sattar N, et al. Metformin reduces serum mullerian-inhibiting substance levels in women with polycystic ovary syndrome after protracted treatment. *Fertil Steril* 2005; 83: 130–6.
  27. Webber LJ, Stubbs S, Stark J, Trew GH, Margara R, Hardy K, et al. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet* 2003; 362: 1017–21.
  28. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, Perheentupa A, Ruokonen A, Tapanainen JS. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20: 1820–6.
  29. Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, Chang RJ. Serum anti-Müllerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1871–4.
  30. Meden-Vrtovec H, Levičnik A, Ihan A, Vizjak A. Avtoimunski vidiki prezgodnje menopavze. *Zdrav Vestn* 2009; 78 Suppl 1: 151–7.