Antimülleriánský hormon (AMH) je v současné době nejperspektivnějším parametrem pro předpověď ovariální reaktivity při stimulaci vaječníků v rámci IVF léčby a také velmi dobrým ukazatelem při hodnocení kondice vaječníků, tzv. ovariální rezervy. Z původně experimentálního parametru se stal běžně vyšetřovaným parametrem v ambulancích pro léčbu neplodnosti.

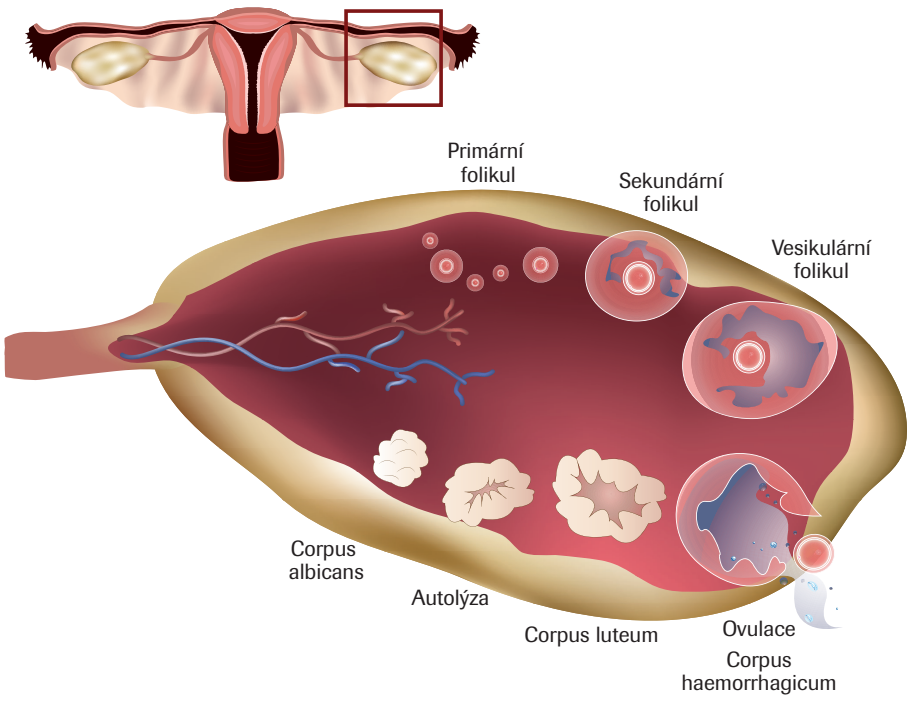
Klinické souvislosti testování hladiny AMH

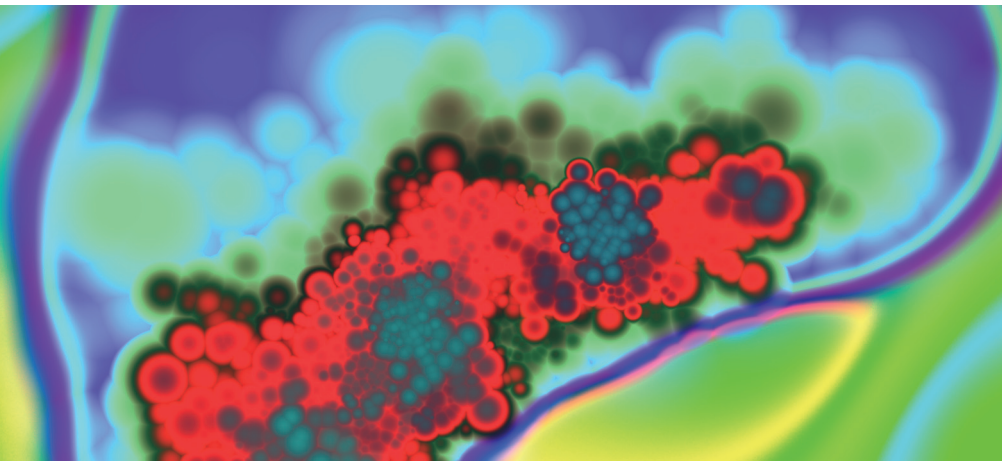
MUDr. MARCEL ŠTELCL, Ph.D.
Klinika Reprogenesis, Brno

Fyziologie AMH

AMH byl poprvé popsán v roce 1947 u samců králíka,[12] nedlouho poté byl jeho výskyt popsán i u člověka. Syntéza v Sertoliho buňkách hraje hlavní úlohu ve fetálním období při diferenciaci mužského pohlaví – brání rozvoji tzv. Müllerových vývodů, ze kterých se vyvíjejí vnitřní ženské pohlavní orgány. Naopak přítomnost testosteronu z Leydigových buněk je signálem k rozvoji tzv. Wolfových vývodů, které dávají vzniknout vývodným cestám mužských pohlavních orgánů.[9]

Výskyt AMH u ženského pohlaví byl popsán až v 90. letech 20. století, kdy rozvoj senzitivních laboratorních technik umožnil detekci AMH ve velmi nízkých hladinách.[10] Produkce AMH byla prokázána zejména v granulózových buňkách preantrálních a časných antrálních folikulů, zatímco pozdní antrální folikuly a dominantní folikuly produkují AMH v mnohem menší míře.[6] Předpokládá se, že fyziologická funkce AMH u ženy spočívá v regulaci zásoby preantrálních folikulů ve vaječníku. AMH inhibuje vývoj ze stadia primordiálního folikulu do stadia primárního folikulu, naopak u preantrálních folikulů AMH snižuje senzitivitu na FSH a blokuje jejich přeměnu do FSH senzitivních folikulů antrálních.[5] Umožňuje tak plynulý přísun folikulů do FSH senzitivních stadií, aniž by došlo k rychlému vyčerpání časnějších stadií folikulů ve vaječníku.





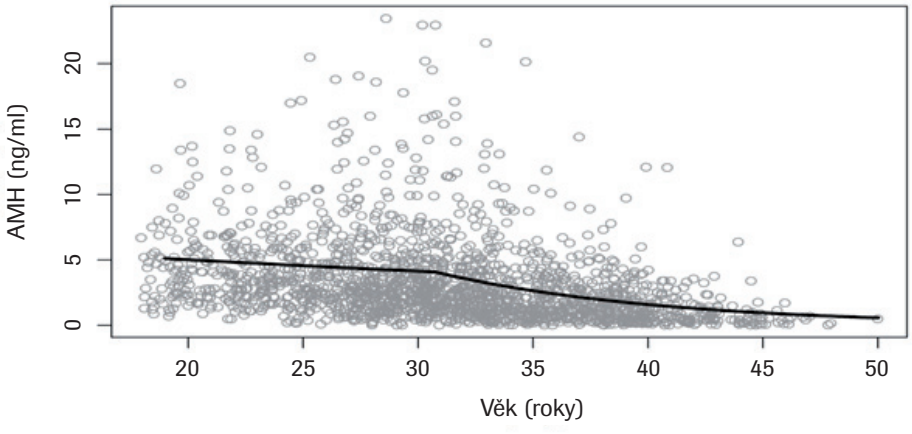
Z výše popsaného vyplývá, že hladina AMH v krvi bude přímo úměrná počtu malých antrálních folikulů a bude tedy možné z této hladiny odhadnout jejich počet. Samozřejmě se nejedná o počet absolutní, ale na základě výsledku lze říci, jestli je počet folikulů ve vaječníku ještě dostatečný nebo snížený.

Faktory ovlivňující hladinu AMH

V novorozeneckém věku je AMH produkován ve zvýšené míře, pak jeho hladina velmi umírněně roste až do 9. roku života, následuje plateau křivky až do 13–14 let, kdy s probouzející se ovariální aktivitou hladiny výrazně rostou a kulminují kolem 22.–25. roku života ženy.[14] Hladina AMH pak začne velmi strmě klesat mezi 35.–40. rokem a zcela vymizí s koncem ovariální činnosti. Pro klinickou praxi má význam zejména pozvolný pokles AMH u dvacátnic, následovaný výrazně strmějším poklesem po 30. roce života.[19] Tento pokles souvisí s urychlením atrézie folikulů po 30. roce života. Žena při každém ovulačním cyklu ztrácí cca 1 000 folikulů tím, že tyto zaniknou, aniž by se vyvíjely do vyšších stadií (atrézie folikulů). Se zvyšujícím se věkem roste i počet folikulů, které podlehnou během jednoho cyklu atrézii.

Klinický význam může mít také kolísání AMH v průběhu menstruačního cyklu. Hladina AMH je v průběhu menstruačního cyklu velmi stabilní. Na rozdíl od FSH není nutné odběr AMH směřovat na 3. den cyklu, dobrou výpovědní hodnotu má v průběhu celého cyklu.[15] V některých studiích mají hladiny AMH velmi stabilní hodnoty,[21] kde variabilita hladin AMH dosahovala maximálně 13 %, jiné naopak stabilitu AMH v cyklu zpochybňují.[8] La Marca nicméně ve své recenzi[16] prezentuje fluktuace AMH v cyklu jako nahodilé a malé a považuje je za nevýznamné pro klinickou praxi.

Z dalších faktorů, které mohou negativně ovlivnit hladinu AMH a vést ke špatné interpretaci jeho hodnot, lze jmenovat reverzibilní snížení hladin AMH cca o 1/3 u uživatelek kombinované hormonální antikoncepce v jakékoliv formě[2, 13] a také až 40% snížení hladin AMH u kuřaček.[18]



▲ *Obr. 1: Pokles AMH v závislosti na věku, pozorovaný na vzorku 1 958 žen*[19]

Laboratorní stanovení koncentrace AMH

Od ručně prováděných imunoanalýz se přešlo k plně automatizovaným metodám. Pravděpodobně nejpřesnější metoda na trhu Elecsys® AMH Plus pracuje na principu heterogenní imunoanalýzy a využívá detekční technologii elektrochemiluminiscence. Protilátky proti molekule AMH jsou dvojího typu (část protilátek má navázaný biotin a část rutheniový chelát), interagují s AMH a vytvářejí sendvičový komplex.[4] Elektrochemiluminiscence poskytuje vysokou úroveň reprodukovatelnosti a naměřené koncentrace AMH vykazují cca o 10 % vyšší hodnoty ve srovnání s metodou Beckman Coulter Access® AMH.[11]

Za obvyklé rozmezí u žen jsou všeobecně považovány hodnoty od 1,1 ng/ml do 3,9 ng/ml.[7,20] Pod touto hranicí lze očekávat tzv. poor ovarian response, tedy slabou reakci ovarií při podávání stimulačních léků (méně než 4 získané oocyty). Naopak nad tímto rozmezím lze očekávat přehnanou reakci vaječníků, jejímž důsledkem může být tzv. ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS).

Hladina AMH se u dospělých mužů pohybuje kolem hodnoty 8–10 ng/ml, u novorozenců mužského pohlaví jsou hodnoty AMH cca 100násobně vyšší než u novorozenců ženského pohlaví. Současný výzkum

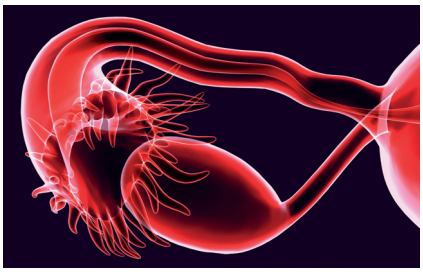
se zaměřuje také na význam AMH v oblasti mužské neplodnosti.

Klinické souvislosti testování hladin AMH

Dávkování stimulačních léků při ovariální stimulaci

Jak již bylo zmíněno, je stanovení hladiny AMH ve venózní krvi používáno k odhadu dávky stimulačních léků při ovariální stimulaci v rámci IVF léčby. V klinické praxi se využívá ještě hodnocení AFC (antral follicle count) – počet malých folikulů do velikosti 8 mm, viditelných při ultrazvukovém vyšetření vaječníků. Tyto dva parametry se jako jediné ukázaly být užitečné k předpovědi reakce ovarií na stimulaci.[3] Bohužel AMH ani AFC nejsou dostatečným prediktorem ovariální reakce. Dávku léku nelze tedy jednoznačně definovat jen na základě těchto vyšetření a odhad dávky je subjektivním odhadem lékaře, který zároveň bere v úvahu také jiné faktory, např. věk pacientky, její BMI, případně reakci vaječníků při předchozí stimulaci. Je potřeba přiznat, že takové dávkování je zatíženo značnou nepřesností a počet získaných vajíček se často odchyluje od optimální stimulace 8–14 oocytů.[7,16]

Trendem je proto zavádění algoritmů, které mají eliminovat nepřesnost subjektivního dávkování léků. Nový preparát, který je v současné době uváděn na trh



– folitropin delta (Rekovelle®, Ferring Pharmaceuticals A/S), je dávkován na základě koncentrace AMH a hmotnosti pacientky, přičemž k měření koncentrace AMH je používána výhradně metoda Roche Elecsys® AMH Plus. Příklad navrženého dávkování je patrný z tabulky. Širší použití v klinické praxi ukáže, jestli pomocí tohoto algoritmu dokážeme přesněji dávkovat stimulační léky a dosáhnout tak u co nejvyššího počtu pacientek optimální stimulace.

Hladinu AMH však nelze použít k předpovědi úspěšnosti IVF cyklu. Jedná se o parametr, který může předpovědět počet získaných vajíček, nelze ho však použít ke stanovení jejich kvality. V parametru kvality vajíček je jediným současným předpovědním faktorem věk. Individuální odchylky v kvalitě oocytů ve stejné věkové kategorii zatím není možné testovat. Stejně tak při IVF cyklu do úspěšnosti zasahují i další faktory, např. kvalita spermií použitých pro oplození vajíček, připravenost děložní sliznice a jiné parametry.

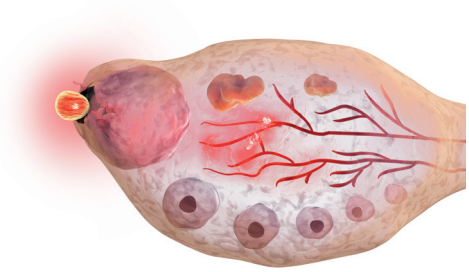
Poradenství

V souvislosti s odkládáním mateřství do vyššího věku vyhledávají ženy stále častěji poradenství v oblasti plodnosti. Jejich základní otázkou je, zda je možné mateřství ještě odložit, jaká je jejich současná situace a reálná šance na otěhotnění. Vznikají poradenská centra, která na základě dotazníku (věk, přítomnost gynekologických chorob, rodinná anamnéza, délka a pravidelnost cyklu, abusus kouření a další parametry) a hodnocení

Sérová koncentrace AMH [pmol/l]	Denní dávka* (neměnná v průběhu stimulace)
< 15	12 µg
15–16	0,19 µg/kg
17	0,18 µg/kg
18	0,17 µg/kg
19–20	0,16 µg/kg
21–22	0,15 µg/kg
23–24	0,14 µg/kg
25–27	0,13 µg/kg
28–32	0,12 µg/kg
33–39	0,11 µg/kg
≥ 40	0,10 µg/kg

▲ *Tab. 1: Dávkování folitropinu delta podle hodnot AMH a hmotnosti pacientky*[1]

hladiny AMH podávají ženě informaci o její aktuální úrovni plodnosti. Poradenství je možné absolvovat i přes internet, např. rakouský softwarový algoritmus IVARY.



Závěr

Stanovení AMH se stalo součástí rutinní praxe při vyšetřování poruch plodnosti u žen. Poskytuje nám informaci o aktuálním stavu vaječníků a o prognóze léčby. Jeho interpretace však musí být opatrná. Jako příklad lze použít mladou ženu s nižším AMH, která má dobrou prognózu otěhotnění, pouze bude mít nižší zisk vajíček při stimulaci. Stanovení AMH při určování dávky stimulačních léků hraje důležitou roli a je součástí nově vyvíjených algoritmů, jejichž úkolem je eliminace subjektivního faktoru při dávkování gonadotropinů. V poradenství má AMH jasné místo a může vést k doporučení, aby žena graviditu již dále neodkládala. O zavedení testování AMH do celoplošného populačního screeningu se nyní vedou vášnivé diskuse.

MUDr. Marcel Štelcl, Ph.D.
Klinika Reprogenesis, Hlinky 144, 603 00 Brno
Kontakt: marcel.stelcl@reprogenesis.cz
Zabývá se asistovanou reprodukcí od roku 2004, kdy začal spolupracovat s Centrem reprodukční medicíny Zlín, v letech 2008 až 2015 pracoval jako lékař na klinice Reprofit v Brně a od roku 2015 je vedoucím lékařem kliniky Reprogenesis v Brně. Nástavbovou atestaci z oboru asistovaná reprodukce složil v roce 2014.

LITERATURA

1. *ANDERSEN NYBOE, A., NELSON, S.M., FAUSER, B.C.J.M., et al. Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. Fertility and Sterility [online]. 2017, 107(2), 387-396.*
2. *BENTZEN, J.G., FORMAN, J.L., PINBORG, A., et al. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. Reproductive BioMedicine Online [online]. 2012, 25(6), 612-619.*
3. *BROEKMANS, F.J., KWEE, J., HENDRIKS, D.J., et al. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Human Reproduction Update [online]. 2006, 12(6), 685-718.*
4. *DEEKS, E.D., Elecsys® AMH Assay: A Review in Anti-Müllerian Hormone Quantification and Assessment of Ovarian Reserve. Molecular Diagnosis & Therapy [online]. 2015, 19(4), 245-249.*
5. *DURLINGER, A., KRAMER, P., KARELS, B., et al. Control of Primordial Follicle Recruitment by Anti-Müllerian Hormone in the Mouse Ovary 1. Endocrinology [online]. 1999, 140(12), 5789-5796.*
6. *DURLINGER, A., VISSER, J., THEMMEN, A. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. Reproduction [online]. 2002, 124(5), 601-609.*
7. *FERRARETTI, A.P., LA MARCA, A., FAUSE, B.C.J.M, et al. ESHRE consensus on the definition of ‚poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Human Reproduction [online]. 2011, 26(7), 1616-1624.*
8. *HADLOW, N., LONGHURST, K., MCCLEMENTS, A., et al. Variation in antimüllerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. Fertility and Sterility [online]. 2013, 99(6), 1791-1797.*
9. *HAMPL, R., ŠNAJDEROVÁ, M., MARDEŠIĆ, T. Antimüllerian hormone (AMH) not only a marker for prediction of ovarian reserve. Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca. 2011, 60(2), 217-223.*
10. *HUDSON, P.L., DOUGAS I., DONAHOE P.K., et al. An Immunoassay to Detect Human Mullerian Inhibiting Substance in Males and Females during Normal Development*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism[online]. 1990, 70(1), 16-22.*
11. *JANATOVÁ, J., LOUCKÝ, J. Není AMH jako AMH, zejména v řízené ovariální stimulaci: Porovnání metod Elecsys plus a Access AMH v rámci spolupráce s několika IVF centry v České republice. Labor Aktuell [online]. Roche Diagnostics, 2017, 2017(3), 16-20.*
12. *JOST, A. Recherches sur la differenciation sexuelle de l'embryon de lapin. Archives D'Anatomie Microscopique Et De Morphologie Experimentale. 1947, 36, 271-315.*
13. *KALLIO, S., PUURUNEN, J., RUOKONEN, A., et al. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. Fertility and Sterility [online]. 2013, 99(5), 1305-1310.*
14. *KELSEY, T. W., WRIGHT, P., NELSON, S. M., et al. A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. PLoS ONE [online]. 2011, 6(7).*
15. *LA MARCA, A., STABILE, G., ARTENISIO, A.C., et al. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. Human Reproduction [online]. 2006, 21(12), 3103-3107.*
16. *LA MARCA, A., GRISENDI, V., GRIESINGER, G. How Much Does AMH Really Vary in Normal Women?. International Journal of Endocrinology [online]. 2013, 1-8.*
17. *LA MARCA, A., SUNKARA, S.K. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. Human Reproduction Update [online]. 2013, 20(1), 124-140.*
18. *PLANTE, B.J., COOPER, G.S., BAIRD, D.D., et al. The impact of smoking on antimüllerian hormone levels in women aged 38 to 50 years. Menopause [online]. 2010, 1.*
19. *RUMPÍKOVÁ, T., ŠTELCL, M., VENCÁLEK, O., et al., Faktory ovlivňující sérovou hladinu anti-Müllerian hormonu, Česká gynekologie 2018, 83(5), 324-328.*
20. *SALMASSI, A., METTLER, L., HEDDERICH, J., et al. Cut-Off Levels of Anti-Mullerian Hormone for The Prediction of Ovarian Response, In Vitro Fertilization Outcome and Ovarian Hyperstimulation Syndrome. International Journal of Fertility and Sterility [online]. 2015, 9(2), 157-167.*
21. *VAN DISSELDORP, J., LAMBALK C. B., J. KWEE, J., et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. Human Reproduction [online]. 2009, 25(1), 221-227.*