

Antimüllersk hormon er et klinisk anvendeligt mål for ovariereserve

Josephine M. Hyldgaard¹, Hans Jacob Ingerslev², Niels Tørring³, Helen N. Madsen³ & Pinar Bor¹

STATUSARTIKEL

1) Gynækologisk-obstetrisk Afdeling, Regionshospitalet Randers
2) Fertilitetsklinikken, Aarhus Universitetshospital
3) Klinisk Biokemisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital

Ugeskr Læger
2015;177:V09140477

Gennemsnitsalderen for kvinder, der føder deres første barn, er steget fra 22 år i 1960'erne til knap 30 år i dag [1]. De reproduktive konsekvenser af denne udvikling er stigende risiko for infertilitet, højere abortrisiko og ringere resultater efter assisteret befrugtning som konsekvens af ovariealdring [2]. Med stigende alder reduceres antallet af follikler i ovarierne, dvs. ovariereserven, og risikoen for kromosomfejl øges. Kvinder har fra fosterlivet et »lager« af primordialfollikler. Antallet af follikler aftager fra menarchen (anslået 400.000) til menopause (anslået 1.000) [3]. Størrelsen af denne pool og hastigheden, hvormed antallet aftager, er individuel, og de basale mekanismer bag denne rekruttering er forholdsvist dårligt belyst, men genetik, påvirkninger i føtallivet og rygning har betydning. En lille pool ved menarchen eller en stor hastighed i tab af follikler medfører risiko for tidlig ovariealdring, dvs. nedsat frugtbarhed og for tidlig overgangsalder [4]. Menopausen indtræder i gennemsnit i 51-årsalderen og forudgås af ca. ti års reduceret fertilitet [3]. Præmatur menopause (≤ 40 år) og for tidlig menopause (< 45 år) forekommer hos 1% respektive 5% af alle kvinder [5]. Der har været fokus på at identificere klinisk anvendelige markører, som kan bruges til vurdering af ovariereserven, og undersøge kvinder for risiko for tidlig ovariealdring. Man har i flere studier fundet, at antimüllersk

hormon (AMH) er positivt korreleret med både antal antrale follikler (*antral follicle count*, AFC) bestemt ved vaginal ultralydskanning (Figur 1) og ovarievolumen, der begge klinisk bruges som udtryk for ovariereserven [6, 7].

Formålet med denne statusartikel er at beskrive den fysiologiske baggrund for AMH og anvendeligheden af AMH som biomarkør for ovariereserven.

FYSIOLOGI

AMH er et homodimert glykoprotein, der har en molekylvægt på 140 kDa og tilhører vækstoffactorfamilien *transforming growth factor beta*. Proteinet blev opdaget i 1940 af Alfred Jost, der identificerede AMH i serotoceller hos drengefostre. Effekten af AMH er induktion af regression hos drengefostre af de müllerske gange, der ellers udvikles til uterus og tuba uterina [8].

Hos drenge kan der ved fødslen måles et gennemsnits AMH-niveau på ca. 150 pmol/l i navlestrengsblod. Gennem barndommen har drenge 20-30 fold højere AMH-værdier end piger, men AMH-niveauet falder hos drengene, når testosteronsyntesen hastigt stiger i puberteten [9]. Til trods for at AMH produceres gennem hele livet, har man endnu ikke kunnet identificere dets funktionelle effekt hos voksne mænd. Unormal lav AMH-funktion i fostertilstanden kan lede til, at de müllerske gange ikke tilbage dannes. Årsagen til dette kan være en mutation på kromosom 19p3.3, der koder for AMH, eller på kromosom 12q13, der koder for dets receptor (AMH-RII). Disse mutationer kan forårsage *persistent müllerian duct syndrome* eller testikulær dysgenesesyndrome. Begge mutationer nedarves med autosomal recessiv arvegang. Patienter med *persistent müllerian duct syndrome* opdeles efter AMH-niveauet. Umåleligt serum-AMH indikerer en AMH-genmutation, hvorimod måleligt AMH ses ved mutation i *AMH-RII* [8].

Hos piger er AMH udtrykt i granulocellerne i ovarierne, typisk i præantrale og små antrale follikler, som er blevet rekrutteret fra primordialpuljen, men endnu ikke selekteret til dominans [10]. Den præcise funktion af AMH i ovarierne er ikke kendt, men hormonet synes at bidrage til at regulere rekrutteringen

FIGUR 1

Vaginal ultralydbestemmelse af antallet af follikler i ovarierne indgår som led i den kliniske vurdering af ovariereserven.



af primordialfolliklerne. Der er tidligere påvist en øget transition af follikler fra primordialpuljen til modningsstadierne, når der ikke er AMH til stede [10]. Derudover hæmmer AMH de antrale folliklers sensitivitet over for follikelstimulerende hormon (FSH) under rekruttering.

Hos piger er koncentrationen af AMH i serum lav ved fødslen og stiger i den begyndende pubertet. Det højeste niveau af AMH nås omkring 15-årsalderen, hvorefter det er stabilt indtil 25-årsalderen. AMH-niveauet er aldersafhængigt [7]. Måling af AMH sker ved immunhistokemisk teknik, enten ved *enzyme-linked immunosorbent assay* eller senest også ved *high throughput*-metode [11]. Der er ingen international standardisering af AMH-målinger, hvorfor aldersopdelte referenceintervaller er metodeafhængige.

ANTIMÜLLERSK HORMON OG OVARIERESERVE

AMH kan måles i serum, og hovedparten af det målbare peptid stammer fra ovariefollikler med en diameter på 5-8 mm [12]. Da antallet af små antrale follikler er proportionalt med poolen af primordialfollikler i ovariet, er AMH således et indirekte mål for ovariereserven [13].

Serumkoncentrationen af AMH har stor biologisk variation. Efter 25-årsalderen ses der et kontinuerligt fald på ca. 2 pmol/l pr. år hen imod menopause. Faldet skyldes en reduktion i ovariereserven [14]. Med de nuværende analyseteknikker kan man finde meget lave og undertiden umålelige niveauer af AMH allerede 5-10 år før menopause. Et lavt niveau af AMH i den fertile periode kan sammen med ultralydbestemt lavt AFC og høst af få oocytter ved assisteret reproduktion bruges til prædikering af forestående menopause [15]. Vurdering af ovariereserven og dermed »ovariealder« kan indgå i en vurdering af, om en given kvinde bør udsætte sin reproduktion, og kan således inddrages i en fertilitetsrådgivning. *Terahni et al* [16] har udarbejdet en statistisk model baseret på alder og AMH-niveau, hvormed man kan prædikere en kvindes formodede alder ved menopause. De fandt en gennemsnitsforskel mellem prædikteret alder ved menopause og faktisk alder ved menopause på 0,5 år. I modellen tager man dog ikke højde for infertilitet samt andre parametre for ovariereserven, og den kan derfor muligvis kun anvendes hos kvinder med formodet normal fertilitet.

FSH har hidtil været anvendt til vurdering af ovariereserven, specielt hos kvinder med præmenopausale symptomer. I et studie har man dog fundet, at AMH-værdierne havde en væsentlig højere sensitivitet end FSH, inhibin B og estradiol, når det kom til at forudsige ovariereserven hos unge ovulerende kvinder. FSH udviser således ikke ændringer, før ovarie-

reserven er væsentligt kompromitteret. Der er således en stærk korrelation mellem AMH-niveau og alder samt mellem AMH-niveau og antallet af follikler [17]. Desuden er niveauet af FSH afhængigt af menstruationscyklus, hvilket begrænser den kliniske anvendelighed.

Det skønnes, at ca. 1% af alle kvinder går for tidligt i overgangsalder (≤ 40 år), mens ca. 5% er < 45 år, når de går i overgangsalder [5]. Kunne disse kvinder prospektivt identificeres i 20'erne, kunne de rådgives til tidlig reproduktion, idet deres fertilitet er kompromitteret ti år før menopause, dvs. allerede i 30-35-årsalderen. Alder for menopause formodes at kunne tilskrives genetiske faktorer hos 40-80%, mens miljøfaktorer skønnes at bidrage hos omkring 5%. Der findes ikke egentlige genetiske markører for tidlig ovariealdring, men i undersøgelser af kvinder med tidlig overgangsalder har man fundet en øget forekomst af cytogenetiske afvigelse, dvs. ændringer i struktur og antal af kromosomer samt af præ- og fuldmutationer i *FMR1* (*fragile X mental retardation*), hvor fuldmutationer er årsag til fragilt X-syndrom hos drenge [18]. I studier har man fundet, at kvinder med præmutation går fem år tidligere i overgangsalder end kvinder uden *FMR1*-mutation [18]. Kvinder, der har præmutationen, er i risiko for at få et barn med fuldmutation, idet præmutationen kan ekspandere til fuldmutation ved maternel videregivelse. Piger med Turners syndrom og patienter, der har fået cancerbehandling med gonadotoksisk kemo, er en særlig gruppe, der har risiko for tidlig ovariealdring på grund af tab af ovariereserve [19].

ANTIMÜLLERSK HORMON OG CYKLUS

Fordi AMH langt overvejende er udtrykt i stadier af follikulogenesen, er cyklusvariationen således forholdsvis beskeden og uden klinisk betydning [20]. AMH-niveauet reduceres med ca. 30% under p-pille brug [21].

ANTIMÜLLERSK HORMON OG KIRURGISKE INDGEB

Resultaterne af flere undersøgelser tyder på, at kirurgi i det lille bækken medfører fald i AMH-niveau [22]. *Iwase et al* rapporterede om signifikante fald i AMH-niveau efter laparoskopisk fjernelse af cyster på ovarierne og et lille, men signifikant fald i AMH-niveau efter fjernelse af uterine leiomyomer. Bilaterale indgreb på ovarierne medførte større fald end unilaterale [23]. Andre har tilsvarende påvist signifikant fald i AMH-niveau efter fjernelse af endometriomer [24]. *Chang et al* [13] fandt ligeledes fald i AMH-niveau efter laparoskopisk cystefjernelse, men de fandt også, at AMH-niveauet restitueredes til 65% af det præoperative niveau efter tre måneder. Dette fund

FAKTABOKS

Kvinder har fra fosterlivet et »lager« af primordialfollikler af en vis størrelse, og antallet af follikler aftager fra fostertilstanden (6-7 mio.) til menarchen (400.000) og derefter til menopausen (1.000).

Antimüllersk hormon (AMH) produceres typisk i præantrale og små antrale follikler. Disse er proportionale med antal primordialfollikler i ovariet (ovariereserven) og er derfor et indirekte mål for ovariealderen.

Ved fødslen er koncentrationen af AMH lav, men stiger i den begyndende pubertet. Det højeste niveau af AMH, nås omkring 15-årsalderen. Efter 25-årsalderen ses et kontinuert fald hen imod menopausen. Man finder meget lave og umålelige niveauer af AMH allerede 5-10 år før menopausen.

AMH-niveau kan anvendes sammen med antal antrale follikler og ovarievolumen forud for fertilitetsbehandling, i forbindelse med rådgivning af kvinder, der ønsker deres ovariealder vurderet som led i fertilitetsrådgivning, og ved diagnostik af årsager til hyperandrogene tilstande.

kunne tyde på, at påvirkningen af ovarierne primært rammer follikler i vækst, dvs. de præantrale og antrale follikler, som imidlertid synes at restituere fra den primordiale follikelpool.

Bortset fra i et enkelt studie [25] har man ikke fundet en signifikant ændring i ovariereserven målt ved AFC, ovarievolumen og vaginal ultralydskanning efter laparoskopisk sterilisation [26].

ANTIMÜLLERSK HORMON SOM MARKØR FOR ASSISTERET REPRODUKTIONSTEKNOLOGI

AMH-niveaumåling bruges i forbindelse med assisteret reproduktionsteknologi, da det korrelerer med antallet af oocytter, der opnås efter ovariestimulation. Den prædiktive værdi af AMH-niveaumåling er størst ved identifikation af kvinder med lille respektive stor ovariereserve. Lave AMH-værdier tilfører ikke væsentlig additiv prædiktiv værdi i forhold til graviditetschance sammenlignet med kvindens alder. Et meget højt AMH-niveau indikerer, at der er et stort antal FSH-følsomme follikler – som ved polycystisk ovariesyndrom – hvilket er associeret til øget risiko for ovarie hyperstimulationssyndrom [27], som er en meget alvorlig komplikation i forbindelse med in vitro-fertiliseringsbehandlinger. Identifikation af risikopatienter ved måling af AMH og AFC muliggør således valg af en særlig hormonstimulationsprotokol, som stort set eliminerer denne risiko [28].

ANTIMÜLLERSK HORMON SOM TUMORMARKØR VED GRANULOSACELLETUMOR

Granulosacelletumorer udgør 2-5% af ovarieoplasmerne, og i 1992 identificerede man AMH som en tumormarkør for netop denne sygdom. Der ses forhøjede AMH-niveauer hos 76-93% af patienterne, med et gennemsnitsniveau på ca. 1.400 pmol/l (spændvidde: 14-8.025 pmol/l), hvilket er 20-50 gange hø-

jere end det normale fysiologiske niveau [29]. Hos præpubertale piger kan en granulosacelletumor vise sig som fremmelig pubertet, og i klinisk sammenhæng vil en præpubertal pige med maskulint høje niveauer af AMH skulle udredes grundigt for tilstedeværelse af testikler eller granulosacelletumor, hvor AMH-koncentrationen i begge tilfælde vil ligge i det mandlige referenceinterval. Hvis et forhøjet androgenniveau derimod stammer fra binyrerne, vil AMH-koncentrationen ligge i det kvindelige referenceinterval. Granulosacelletumorer kan dog ikke definitivt udelukkes hos en pige, der har AMH-niveauer inden for det normale kvindelige referenceinterval.

AMH er også blevet foreslået som en sensitiv granulosacelletumormarkør ved opfølgning hos kvinder efter ovariektomi [30].

KONKLUSION

AMH er en nyere biomarkør med mange diagnostiske anvendelsesmuligheder inden for gynækologien. AMH er væsentligt mere informativ i forbindelse med vurdering af ovariereserven end måling af FSH, og specielt den relative cyklusafhængighed har øget dens kliniske anvendelighed. Fertilitetsrådgivning og vurdering af fertilitetsbehandling er dog en specialistopgave, og det er vigtigt at understrege, at AMH ikke kan stå alene som diagnostisk redskab. AMH kan således med fordel anvendes sammen med AFC og ovarievolumenbestemmelse forud for in vitro-fertiliseringsbehandling, i forbindelse med rådgivning af kvinder, der ønsker deres ovariealder vurderet som led i fertilitetsrådgivning, og ved diagnostik af årsager til hyperandrogene tilstande.

SUMMARY

Josephine M. Hyltdgaard, Hans Jacob Ingerslev, Niels Tørring, Helen N. Madsen & Pinar Bor:

Anti-Müllerian hormone is a clinical useful measure of the ovarian reserve

Ugeskr Læger 2015;177:VO9140477

Anti-Müllerian hormone (AMH) is produced by the growing follicles in the ovaries. The number of follicles in this pool is proportional to the number of primordial follicles in the resting pool (the "ovarian reserve"), thus AMH is believed to be a surrogate marker of the ovarian reserve. AMH is a useful adjunct in the evaluation of a woman's "reproductive age", being an important parameter in counselling for reproduction. AMH is also used in pretreatment evaluation of infertile patients guiding proper hormone stimulation. Furthermore, AMH can be used as a tumour marker for granulose cell tumours.

KORRESPONDANCE: Josephine Hyltdgaard, Jægergårdsvej 4, 2., 8000 Aarhus C. E-mail: jmhyltdgaard@gmail.com Artiklen er baseret på en større litteraturgennemgang end angivet. En komplet referenceliste kan fås hos forfatterne.

ANTAGET: 20. november 2014

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 26. januar 2015

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

1. Broekmans FJ, Knauff EA, te Velde ER et al. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18:58-65.
2. Schmidt L, Sobotka T, Bentzen JG et al. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. *Hum Reprod Update* 2012;18:29-43.
3. te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update* 2002;8:141-54.
4. Nelson LM. Primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med* 2009;360:606-14.
5. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1986;67:604-6.
6. Koutlaki N, Dimitraki M, Zervoudis S et al. The relationship between anti-Müllerian hormone and other reproductive parameters in normal women and in women with polycystic ovary syndrome. *J Med Life* 2013;6:146-50.
7. Kalaiselvi VS, Saikumar P, Prabhu K et al. The anti mullerian hormone – a novel marker for assessing the ovarian reserve in women with regular menstrual cycles. *J Clin Diagn Res* 2012;6:1636-9.
8. Josso N, Rey R, Picard JY. Testicular anti-Müllerian hormone: clinical applications in DSD. *Semin Reprod Med* 2012;30:364-73.
9. Aksglaede L, Sorensen K, Boas M et al. Changes in anti-Müllerian hormone (AMH) throughout the life span: a population-based study of 1027 healthy males from birth (cord blood) to the age of 69 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5357-64.
10. La Marca A, Sighinolfi G, Giulini S et al. Normal serum concentrations of anti-Müllerian hormone in women with regular menstrual cycles. *Reprod Biomed Online* 2010;21:463-9.
11. Gassner D, Jung R. First fully automated immunoassay for anti-Müllerian hormone. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1143-52.
12. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW et al. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? *Mol Hum Reprod* 2013;19:519-27.
13. Chang HJ, Han SH, Lee JR et al. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels. *Fertil Steril* 2010;94:343-9.
14. Schuh-Huerta SM, Johnson NA, Rosen MP et al. Genetic variants and environmental factors associated with hormonal markers of ovarian reserve in Caucasian and African American women. *Hum Reprod* 2012;27:594-608.
15. de Boer EJ, den Tonkelaar I, te Velde ER et al. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. *Fertil Steril* 2002;77:978-85.
16. Tehrani FR, Soleymani-Dodaran M, Tohidi M et al. Modeling age at menopause using serum concentration of anti-mullerian hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:729-35.
17. de Vet A, Laven JS, de Jong FH et al. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.
18. Sullivan AK, Marcus M, Epstein MP et al. Association of FMR1 repeat size with ovarian dysfunction. *Hum Reprod* 2005;20:402-12.
19. Brougham MF, Crofton PM, Johnson EJ et al. Anti-Müllerian hormone is a marker of gonadotoxicity in pre- and postpubertal girls treated for cancer: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:2059-67.
20. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP et al. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057-63.
21. Bentzen JG, Forman JL, Pinborg A et al. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reprod Biomed Online* 2012;25:612-9.
22. Ferrero S, Venturini PL, Gillott DJ et al. Hemostasis by bipolar coagulation versus suture after surgical stripping of bilateral ovarian endometriomas: a randomized controlled trial. *J Minim Invasive Gynecol* 2012;19:722-30.
23. Iwase A, Hirokawa W, Goto M et al. Serum anti-Müllerian hormone level is a useful marker for evaluating the impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve. *Fertil Steril* 2010;94:2846-9.
24. Jang WK, Lim SY, Park JC et al. Surgical impact on serum anti-Müllerian hormone in women with benign ovarian cyst: a prospective study. *Obstet Gynecol Sci* 2014;57:121-7.
25. Goynumer G, Kayabasoglu F, Aydogdu S et al. The effect of tubal sterilization through electrocoagulation on the ovarian reserve. *Contraception* 2009;80:90-4.
26. da Silva AL, da Re C, Dietrich C et al. Impact of tubal ligation on ovarian reserve as measured by anti-Müllerian hormone levels: a prospective cohort study. *Contraception* 2013;88:700-5.
27. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D et al. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010;16:113-30.
28. Humaidan P, Polyzos NP. Human chorionic gonadotropin vs. gonadotropin-releasing hormone agonist trigger in assisted reproductive technology – »The king is dead, long live the king!«. *Fertil Steril* 2014;102:339-41.
29. Lane AH, Lee MM, Fuller AF, Jr et al. Diagnostic utility of Müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol* 1999;73:51-5.
30. Rey RA, Lhomme C, Marcillac I et al. Antimüllerian hormone as a serum marker of granulosa cell tumors of the ovary: comparative study with serum alpha-inhibin and estradiol. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:958-65.