

*Клинические
аспекты
определения
антимюллеров
а гормона*

6 сентября 2012

ЗАО «БиоХимМак»

Смирнова М.А.



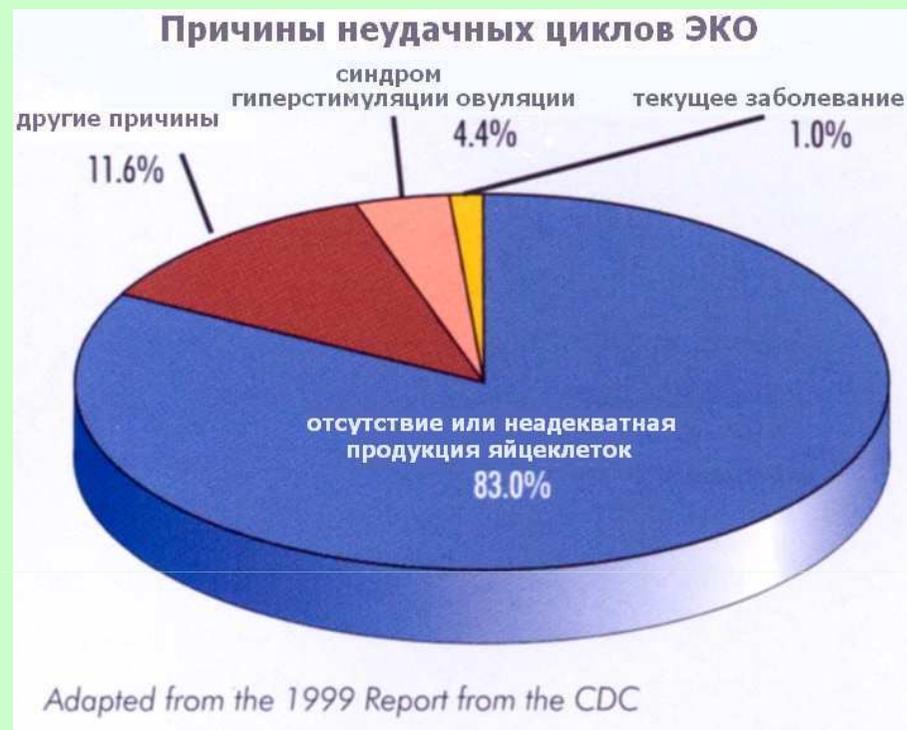
ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

предпосылки появления теста АМГ

- Медицинские:
 - Развитие вспомогательных репродуктивных технологий



- Оценка фертильного здоровья в раннем возрасте
- Мониторинг пациенток с гранулезоклеточным раком яичников

предпосылки появления теста АМГ как маркера биологического возраста женщины

- Социальные:
 - Тенденция к более старшему возрасту вступления в брак
 - Отложенное материнство (увеличение материнского возраста)



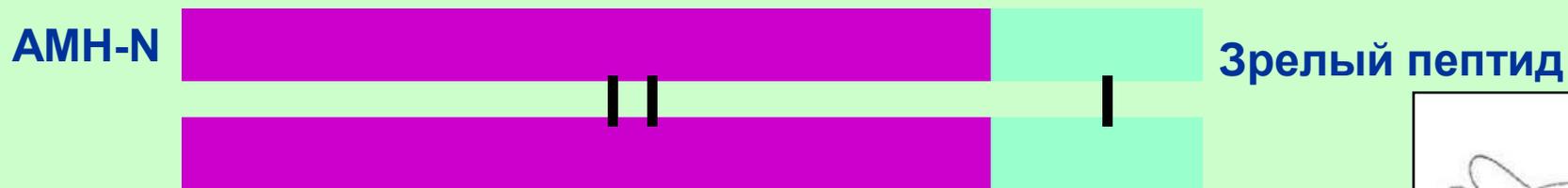
- Суперсемейство трансформирующего фактора роста TGF- β включает гормоны
- антимюллеров гормон (Teixeira et al, 2001)
- ингибины
- активины

Все члены этого семейства являются димерными гликопротеинами, вовлеченными в регуляцию роста и дифференцировки тканей

AMH/MIS

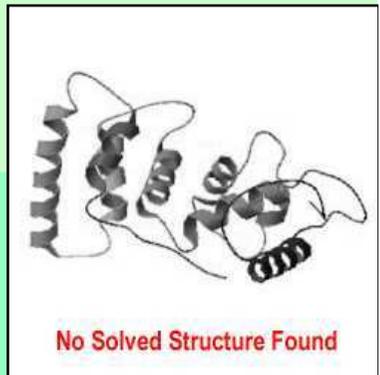
название	Время полужизни (ч)	АО	масса (kDa)	физиологическая функция в пренатальный период	физиологическая функция в постнатальный период
AMH	48	560	72	дифференцировка пола	м: половое созревание ж: созревание фолликулов

AMH димерный гликопротеин



основные источники:
Клетки Сертоли
Гранулезные клетки

структура AMH →



краткая история: ингибирующее вещество Мюллера (антимюллеров гормон – АМН /MIS)

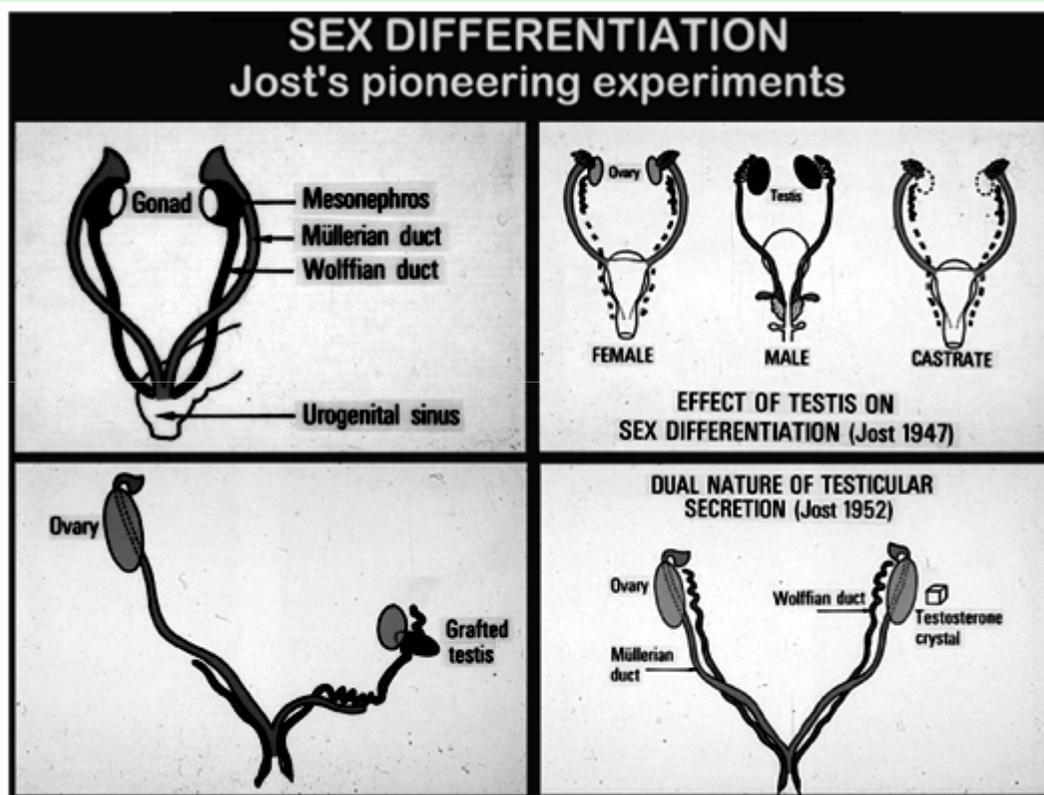
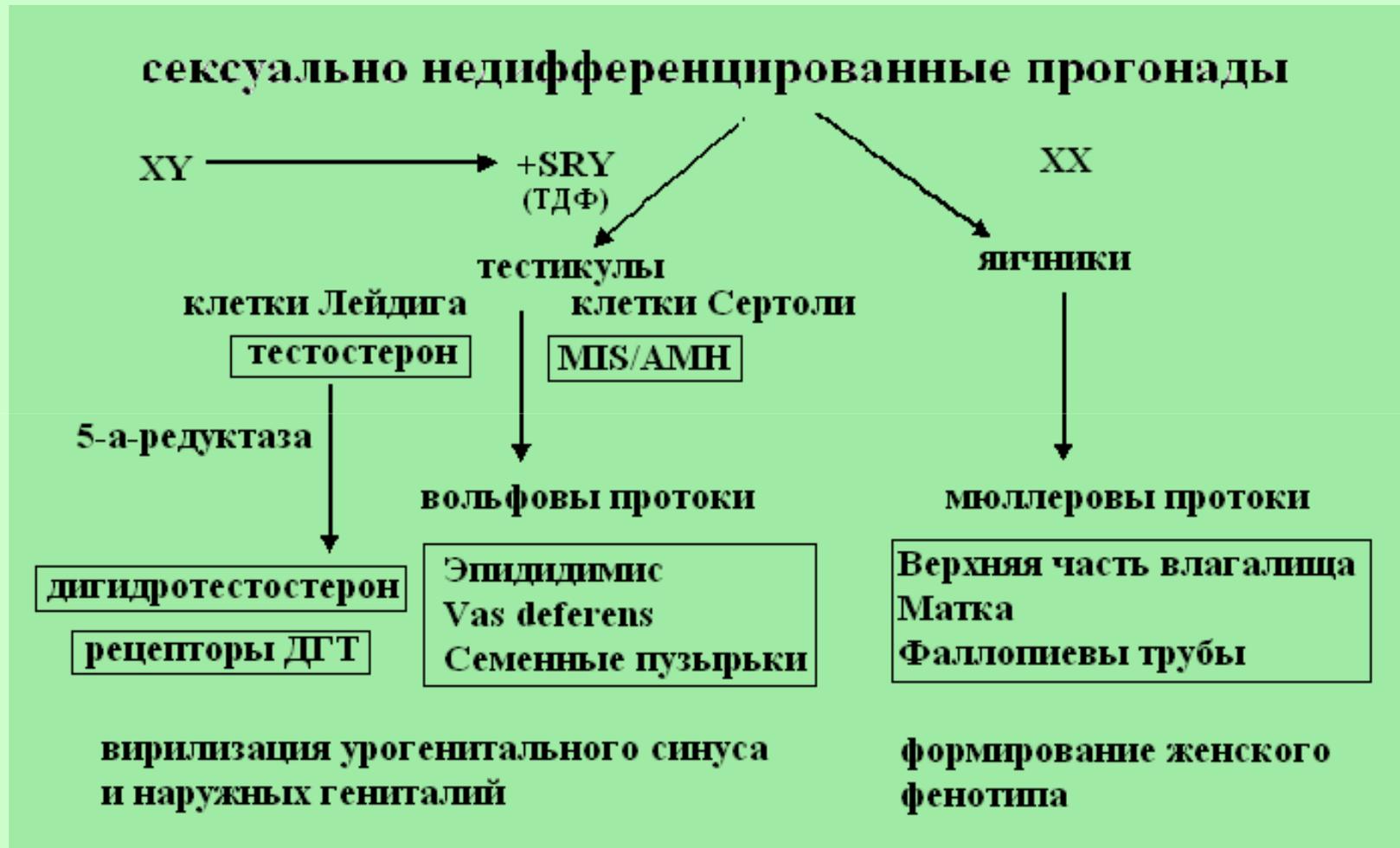


Figure 1. Experiments of foetal endocrinology that enabled Alfred Jost to suggest the existence of a testicular factor, different from testosterone, responsible for the regression of Müllerian ducts in the male.

- 1947 - Alfred Jost (Франция): необходимы 2 гормона, продуцируемые яичками эмбрионов мужского пола, для нормального развития внутренних половых органов - тестостерон и MIS/АМН

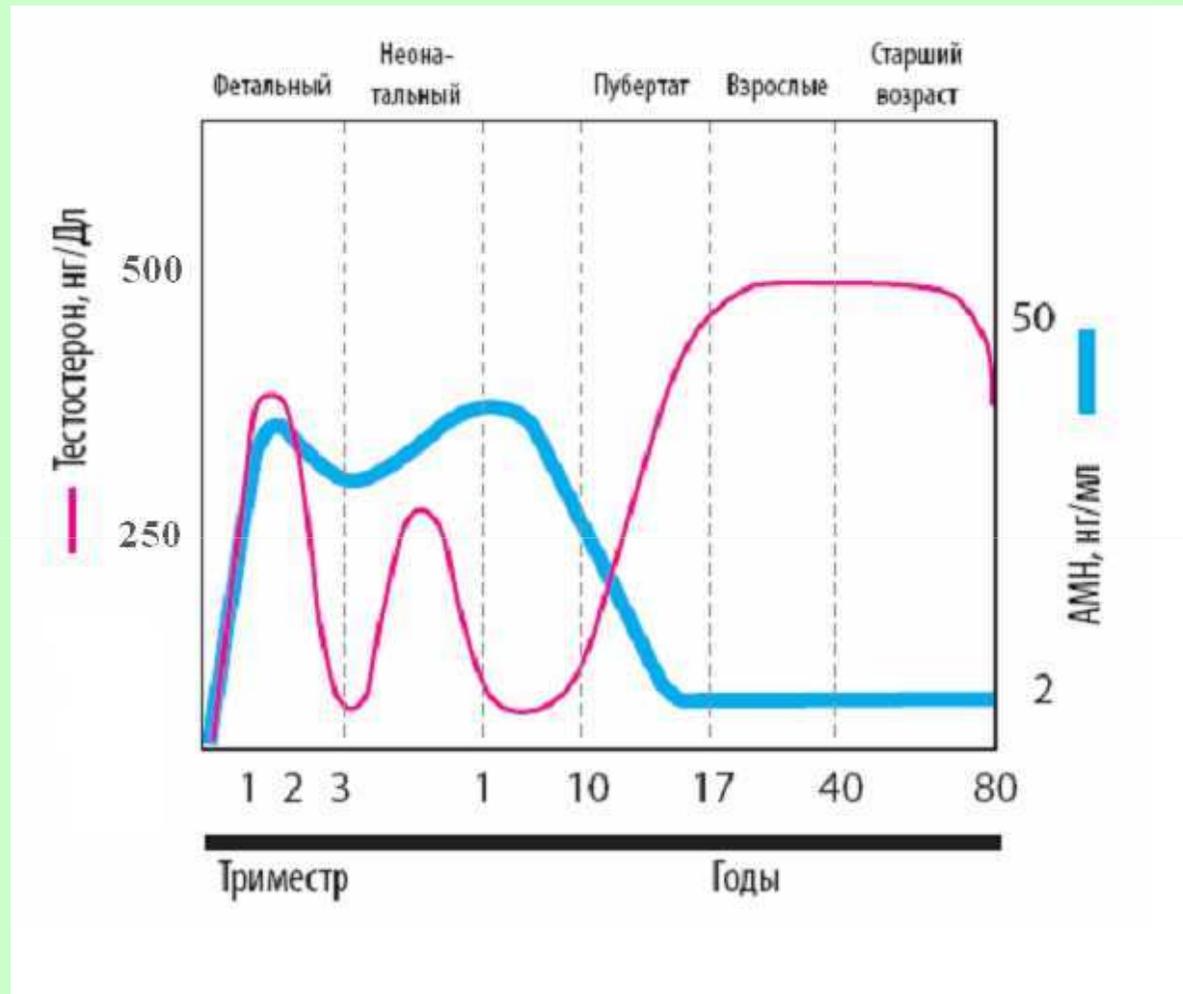
Формирование гонадного пола под влиянием факторов генетического пола и фенотипического пола (маскулинизация внешних гениталий)



физиологическая функция у мужчин

В процессе эмбрионального развития отвечает за регрессию Мюллеровых протоков у мужчин

До наступления половой зрелости АМН продуцируется яичками в концентрации выше 30 нг/мл, а затем его уровень постепенно снижается до пост-пубертатных значений 3-5 нг/мл



краткая история-2: ингибирующее вещество Мюллера (антимюллеров гормон – АМН /MIS)

- 1984 - Picard and Josso: выделили MIS/АМН из фетальных тестикул быка
- 1986 – Picard: охарактеризовал ген MIS/АМН, локализованный на коротком плече хромосомы 19
- 1994 - di Clemente: охарактеризована структура специфического рецептора
- Последние годы - исследования физиологической роли и потенциальных диагностических приложений MIS/АМН, ставшие возможными благодаря появлению чувствительного иммуноанализа –

400 публикаций в год

- Один из первых шагов для оценки лиц с интерсексуальными расстройствами – определение эндокринной тестикулярной функции (тестостерона) в ответ на стимуляцию ХГЧ

-

- обязательное исследование АМН

рекомендуется у ХУ-пациентов с амбивалентными гениталиями перед дорогостоящими инвазивными рентгенологическими и хирургическими исследованиями (Rey et al, 1999)

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

У ХУ-пациентов уровень АМН

в норме при:

- аплазии клеток Лейдига,
- дефектах ферментов стероидогенеза или
- нечувствительности к андрогенам

низкий или не определяется при:

- частичной или полной дисгенезии гонад

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

АМН и тестостерон у интерсексуальных пациентов 46,XY

		Тестостерон	
		Низкий или недектируемый уровень	Нормальный или высокий уровень
АМН	Низкий или недектируемый уровень	Дисгенез гонад	Дефект 5-альфа редуктазы
	Нормальный или высокий	Дефекты рецептора ЛГ и ферментов стероидогенеза	нечувствительность к андрогенам

АМН и тестостерон у мальчиков 46,XY с нормально вирилизированными наружными гениталиями

		Тестостерон	
АМН		Низкий или недектируемый уровень	Нормальный или высокий уровень
	недектируемый уровень	Анорхизм, синдром «исчезающих тестикул»	Синдром персистенции мюллеровых протоков (мутации АМН)
	Низкий уровень	Гипогонадотропный гипогонадизм	Нормальное или преждевременное половое развитие
	Нормальный или высокий	Задержка полового развития	Билатеральный крипторхизм (мутации АМН рецептора II)

У ХХ-пациентов уровень АМН

низкий или не определяется при:

- врожденной гиперплазии надпочечников

*Таким образом, антимюллеров гормон -
маркер наличия тестикулярной ткани*

ГРУППА КОМПАНИЙ

ВСМ

БИОХИММАК

выявление преждевременного или замедленного полового созревания

- АМН резко снижается при половом созревании, отражая созревание клеток Сертоли в ответ на действие андрогенов
- Высокий уровень обнаруживается при задержке полового развития
- При преждевременном половом развитии уровень ниже нормы
- При антиандрогенной терапии АМН повышается, отражая эффективность лечения (тестостерон изменяется недостоверно, т.к. многие препараты действуют на его рецепторы, а не на его синтез)

дифференциальный диагноз
крипторхизма и анорхизма
(хирургического и биохимического)

Традиционно используется тест
стимуляции синтеза тестостерона ХГЧ

дифференциальный диагноз крипторхизма и анорхизма (хирургического и биохимического)

Недостатки теста стимуляции синтеза тестостерона ХГЧ:

- Результаты сильно варьируют
- Процедура инвазивна и нежелательна в педиатрической практике
- Кроме того, тест оценивает функцию клеток Лейдига, но не клеток Сертоли – неполная информация о функции клеток Сертоли может привести к неправильному представлению патофизиологических процессов в некоторых клинических случаях (Rey et al, 1999)
- УЗИ, МРТ, лапароскопия в некоторых случаях недостаточно чувствительны, т.е. могут не обнаружить тестикулярной ткани

дифференциальный диагноз крипторхизма и анорхизма (хирургического и биохимического)

- АМН – тест с высокой предсказательной ценностью для подтверждения наличия тестикулярной ткани:

Результаты исследования у мальчиков 2-11 лет с непальпируемыми яичками:

0.7 нг/мл – тестикулярная ткань не обнаружена против

37.5 нг/мл - тестикулярная ткань обнаружена ($P < 0.001$)

- АМН – тест с более высокой чувствительностью, чем тестостерон для детей с патологией тестикул:

67% против 25% (Lee et al, 1997)

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

У женщин от момента рождения и до наступления менопаузы АМН продуцируется гранулезными клетками яичников, причем наиболее высокие его уровни наблюдаются в опухолевых гранулезных клетках

Примордиальные фолликулы	Экспрессия не наблюдается
Первичные фолликулы	По крайней мере 74% показывают слабую экспрессию гранулезными клетками
Вторичные, преантральные и малые антральные фолликулы (≥ 4 мм диаметр)	Наивысший уровень экспрессии
Большие антральные фолликулы (4-8 мм)	Экспрессия постепенно снижается

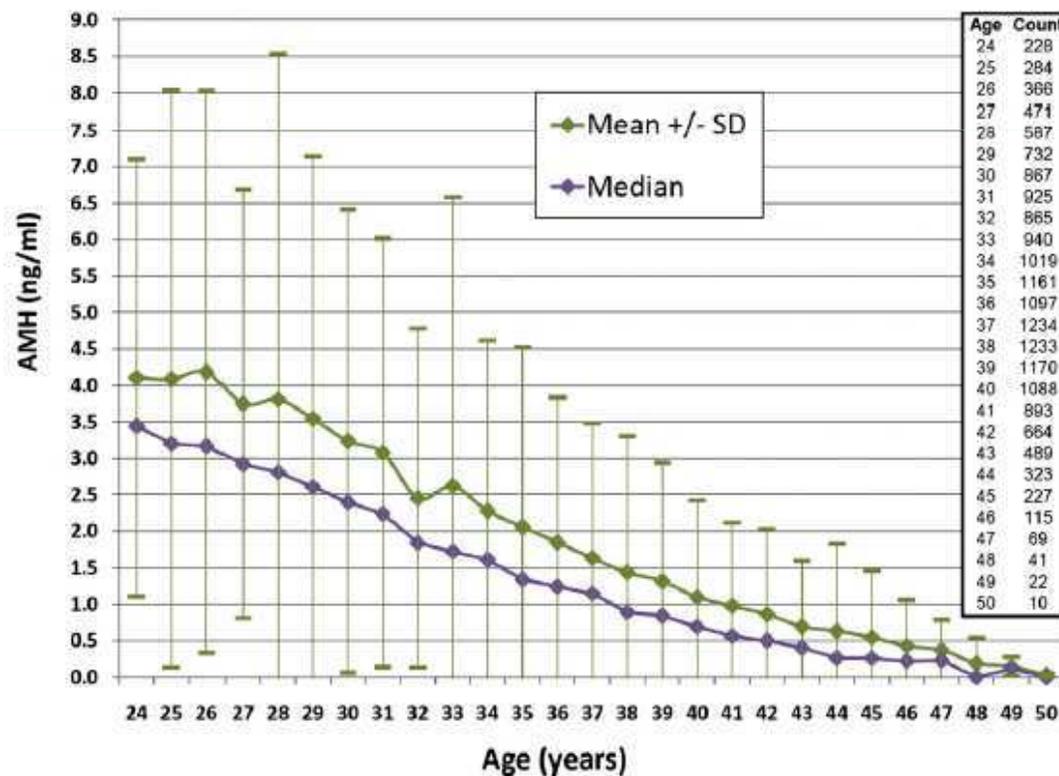
- АМН оказывает ингибирующий эффект на рекрутирование примордиальных фолликулов, а также может ингибировать ФСГ-зависимую селекцию доминантного фолликула на ранней антральной стадии
- Уровень в сыворотке меняется слабо, достигая пика в позднюю фолликулярную фазу

Концентрация АМН у женщин коррелирует с:

числом антральных фолликулов, с возрастом и отражает снижение репродуктивной функции у здоровых женщин с доказанной фертильностью

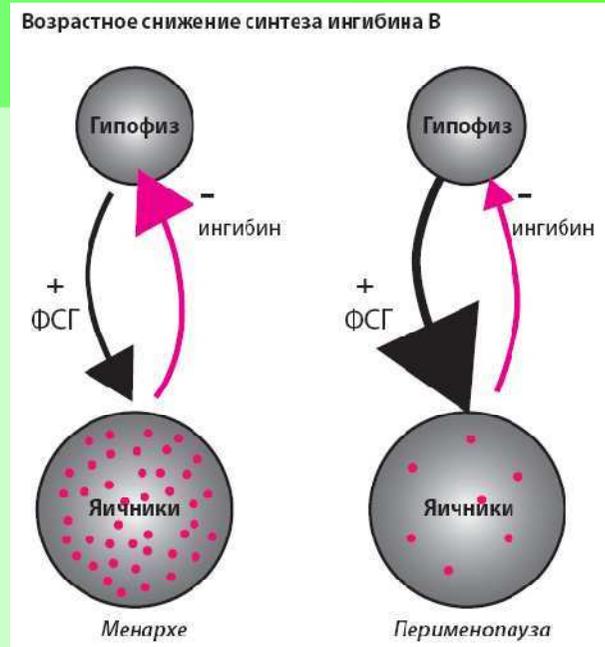
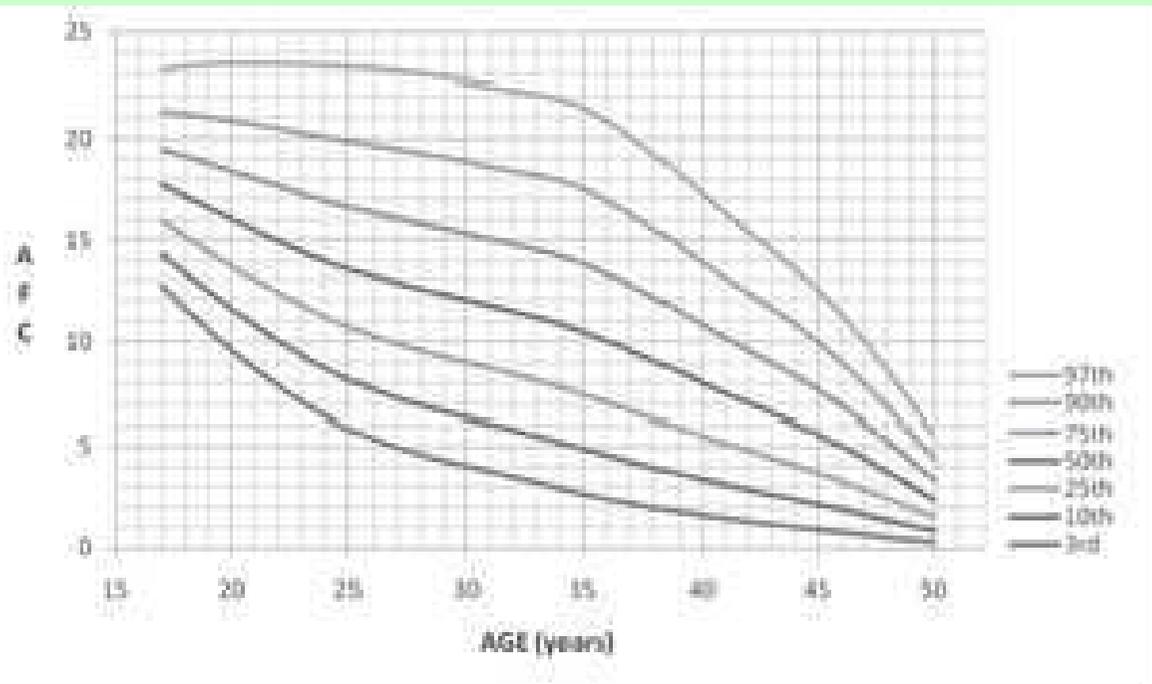
FIGURE 1

Graph of AMH age-specific median values with mean \pm SD AMH values for women ages 24–50 at 1-year intervals. The median was substantially lower than the average, suggesting non-normally distributed AMH values by age. Note that AMH values were generated using a laboratory-developed test from a single laboratory using materials and reagents from the Beckman/DSL Generation I AMH system. Values from different laboratories may vary.



Seifer. Age-specific AMH values for U.S. clinics. Fertil Steril 2010.

АМН может использоваться как эндокринный маркер овариального старения



Whether age at menopause is predictable using serum **Anti-Müllerian Hormone concentration?**

F. Ramezani Tehrani¹, N. Shakeri¹, F. Azizi¹

¹Research Institute for Endocrine Sciences Shaheed Beheshti University of Medical, Reproductive Endocrinology, Tehran, Iran

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ВРТ у женщин позднего репродуктивного возраста

- 37% от всех обращений. Успех лечения бесплодия определяется овариальным резервом.
- Все женщины с крайне низким овариальным резервом и половина - со сниженным, нуждаются в использовании ооцита донора.
- Возраст 42 года следует считать критическим для получения собственных ооцитов в программе ВРТ.
- Часть женщин, другие параметры которых соответствовали нормальному овариальному резерву, по значениям АМГ относились к снижению или крайне низкому овариальному резерву.
- Так в группе женщин до 40 лет у 97,5% все параметры овариального резерва, кроме АМГ, соответствовали нормальному овариальному резерву. Уровень АМГ, соответствующий нормальному овариальному резерву был зарегистрирован лишь у 72% пациенток.
- В группе женщин 41-44 года - 45% и 13% соответственно.
- У пациенток старше 45 лет 22% женщин по всем параметрам кроме АМГ соответствовали нормальному овариальному резерву, по значениям АМГ относились к снижению (40%) или крайне низкому овариальному резерву (60%).
- Беременность у женщин позднего репродуктивного возраста, достигнутую с использованием методов ВРТ в целом можно считать оправданной, так как число положительных исходов составило 70%, а состояние здоровья рожденных детей не отличалось от популяционной нормы.

- **Нормальный овариальный резерв** характеризуется:
- Регулярный менструальный цикл – 28-30 дней
- Уровень ФСГ не более 10 МЕ/л
- Уровень ингибина В не менее 40 пг/мл
- **Уровень АМГ не менее 1,0 нг/мл**
- Объем яичников не менее 5см³
- Число антральных фолликулов не менее 5 в каждом яичнике.
- **Сниженный овариальный резерв:**
- Укорочение менструального цикла на 2-3 дня
- Эпизоды повышения уровня ФСГ >15МЕ/л
- Эпизоды снижения ингибина В <40 пг/мл
- **Уровень АМГ <1,0 нг/мл**
- Объем яичников от 3 до 5 см³
- Число антральных фолликулов не более 3 в каждом яичнике.
- **Крайне низкий овариальный резерв:**
- Стойкие нарушения менструального цикла
- Стойкое повышение уровня ФСГ >15МЕ/л
- Стойкое понижение уровня ингибина В < 40 пг/мл
- **Уровень АМГ менее 0,01 нг/мл**
- Объем яичников <3 см³
- Число антральных фолликулов не более 2 в каждом яичнике.

Валидация набора А79765/А79766 Beckman Coulter для ВРТ

Ответ на гормональную стимуляцию яичников

- Очень низкий < 0.2 нг/мл
- Сниженный $0.2 - 1$ нг/мл
- Нормальный $1-3$ нг/мл
- Высокий (риск развития СГСЯ) > 3 нг/мл

АМН - лучший маркер овариального ответа на стимуляцию гонадотропином, а комбинация с ФСГ и ингибином В улучшает прогноз

Концентрация гормона на 5-6 день цикла	Завершенные циклы стимуляции	Незавершенные циклы стимуляции	Корреляция с количеством полученных яйцеклеток в цикле стимуляции гиперовуляции
Всего: n=69	n=52	n=17	
ФСГ	7.89 +/- 0.78 мМЕ/мл	10.69 +/- 2.27 мМЕ/мл	r= 0.25, P < 0.05
Ингибин В	70 +/- 12.79 пг/мл	126.9 +/- 8.8 пг/мл	r= 0.35, P < 0.05
АМН	1.13 +/- 0.2 нг/мл	0.18 +/- 0.04 нг/мл	r= 0.69, P < 0.001 *

* кроме СПКЯ Am J Obstet Gynecol. 2007 Jan;196(1):77.e1 Mullerian inhibiting substance and disrupted folliculogenesis in polycystic ovary syndrome. Wang JG, Nakhuda GS, Guarnaccia MM, Sauer MY, Lobo RA.

BJOG. 2004 Nov;111(11):1248-53. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Department of Obstetrics and Gynaecology, RFUCL Medical School, University College London, 86-96 Chenies Mews, London

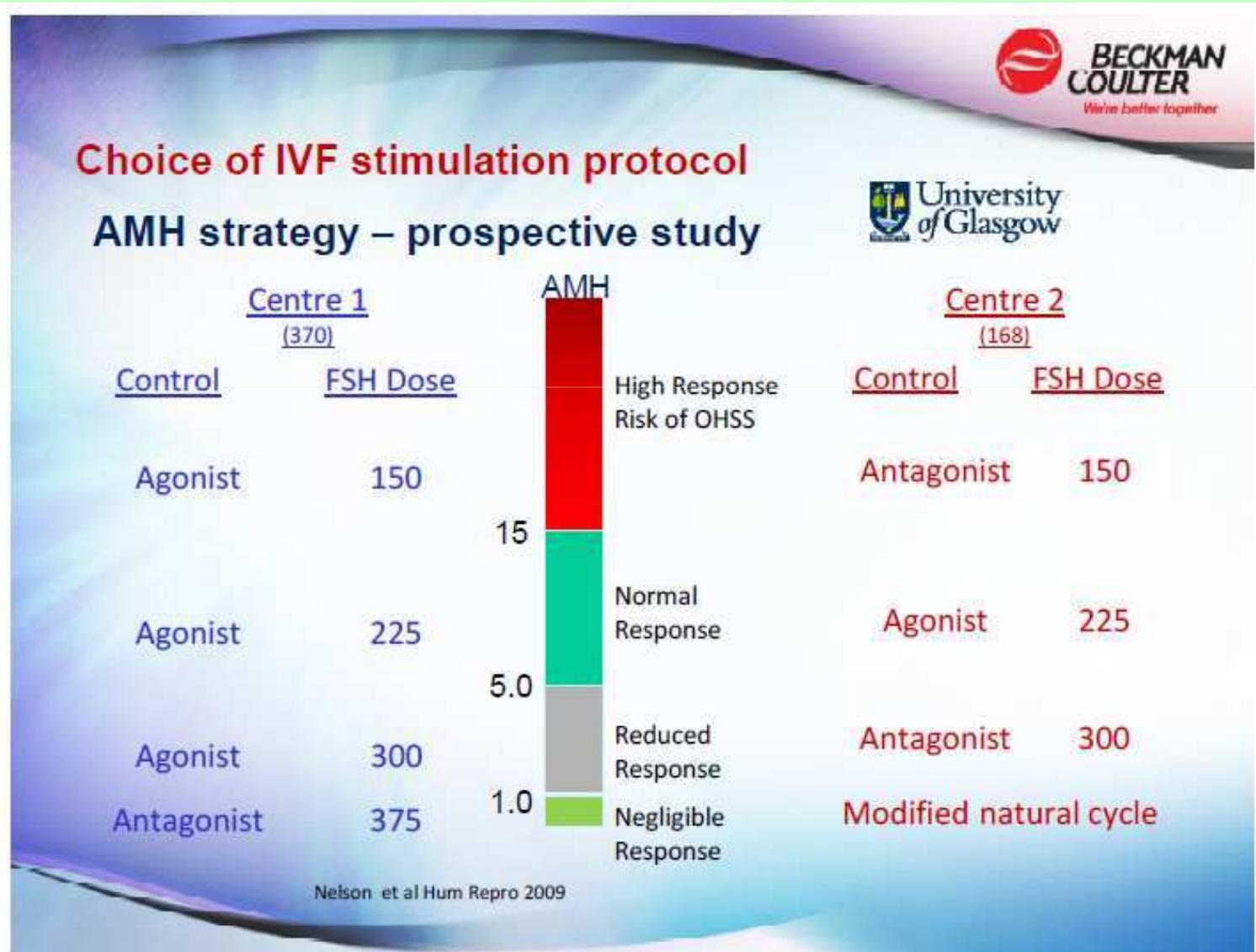
Hum Reprod. 2007 Mar;22(3):778-85. Epub 2006 Nov 17. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. Mellveen M, Skull JD, Ledger WL. Assisted Conception Unit, Sheffield, UK.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Выбор протокола стимуляции в зависимости от уровня АМН



Graph is borrowed from the lecture of Prof. Nelson

АМН (в сыворотке, 3-й день цикла)
в прогнозе клинической беременности
в ЭКО-протоколах для женщин до 42 лет

- Клиническая беременность (n = 38) - 2.4 нг/мл
- Отсутствие беременности (n = 71) - 1.1 нг/мл

Не отмечено различий в этих двух группах для
ФСГ, ингибина В, эстрадиола в этих же
образцах крови

Fertil Steril. 2004 Nov;82(5):1323-9. Serum antimullerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. ART Unit Eylau la Muette, Clinic La Muette, Paris, France

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

АМН повышен у пациенток с нормогонадотропным ановуляторным бесплодием, коррелируя с ЛГ, тестостероном, объемом яичников и числом фолликулов

Контроль (n=41)	Медиана 2.1 мкг/л (диапазон 0.1-7.4)
Нормогонадотропное ановуляторное бесплодие (n=128)	Медиана 7.6 мкг/л (диапазон 0.1-40.0, P < 0.001)
Пациентки с СПКЯ (n=106)	Медиана 9.3 мкг/л (диапазон 1.8-40.0)
Пациентки без СПКЯ (n=22)	Медиана 6.4 мкг/л (диапазон (0.1-22.1)

- J Clin Endocrinol Metab. 2004 Jan;89(1):318-23. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Division of Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Синтез АМН при СПКЯ

- Синтез АМН в 75 раз выше при ановуляторном СПКЯ по сравнению со здоровыми яичниками
- Среднее повышение при овуляторном СПКЯ – в 4 раза
- Этот рост может одной из причин недостаточности фолликулярного роста и овуляции при СПКЯ за счет ингибирования фундаментальных процессов созревания фолликулов
- Снижение уровня АМН после лечения метформином (20-60%)

Предполагается

- Включение в диагностические критерии СПКЯ? (уровень выше 5 нг/мл)

- J Clin Endocrinol Metab. 2007 Jan;92(1):240-5. Epub 2006 Oct 24. **Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries.** [Pellatt L](#), [Hanna L](#), [Brincat M](#), [Galea R](#), [Brain H](#), [Whitehead S](#), [Mason H](#).
Clinical Development Sciences, St. George's University of London, Cranmer Terrace, London SW17 0RE, United Kingdom

АМН снижается при ожирении

В позднем репродуктивном возрасте (> 40 лет)
АМН на 65% ниже у женщин с ожирением
(0.016 против 0.046 нг/мл у женщин с
нормальным ИМТ)

Fertil Steril. 2007 Jan;87(1):101-6. Epub 2006 Nov 15. Association of anti-mullerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women. [Freeman EW](#), [Gracia CR](#), [Sammel MD](#), [Lin H](#), [Lim LC](#), [Strauss JF 3rd](#). Department of Obstetrics/Gynecology, University of Pennsylvania, School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania 19104, USA.

АМН – маркер овариальной функции после

химиотерапии и аутотрансплантации ткани яичника

- Отражает яичниковую недостаточность после стерилизующей химиотерапии
- Выше риск повреждения за счет использования алкилирующих агентов (mechlorethamine, cyclosporamide)
- Повреждение зависит от дозы и числа циклов лучевой или химиотерапии
- В некоторых случаях наблюдается восстановление уровня АМН после 1 – 2 лет после лечения

Аутотрансплантация

- Отражает восстановление функции яичника в течение 9 мес. после трансплантации
- Коррелирует с количеством полученных яйцеклеток в цикле стимуляции гиперовуляции
- Фиксирует снижение функции и ограниченное время жизни трансплантированного яичника (22 мес.) после рождения ребенка

- Fertil Steril. 2007 Feb;87(2):418.e7-418.e15. Epub 2006 Nov 13. **Monitoring the ovaries after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue: endocrine studies, in vitro fertilization cycles, and live birth.** [Meirow D](#), [Levron J](#), [Eldar-Geva T](#), [Hardan I](#), [Fridman E](#), [Yemini Z](#), [Dor J](#). IVF Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, Sheba Medical Center, Sackler School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel.

АМН как маркер овариального резерва

- Предсказывает наступление беременности и рождение детей в ВРТ
- прогноз низкого и высокого ответа яичников на стимуляцию в циклах ЭКО
- Предсказывает овариальный резерв при различной патологии, например, после химиотерапии

Достоинство определения АМН – высокая воспроизводимость – достаточно единственного определения (3-й день цикла, оценивались межсерийная – в течение 3 месяцев и внутрисерийная – число реплик в каждом измерении,- воспроизводимость)

АМН	0.89
Ингибин В	0.76
Эстрадиол	0.22
ФСГ	0.55
Число ранних антральных фолликулов	0.73

Hum Reprod. 2005 Apr;20(4):923-7. Epub 2005 Jan 7 **High reproducibility of serum anti-Mullerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status.** [Fanchin R](#), [Taieb J](#), [Lozano DH](#), [Ducot B](#), [Frydman R](#), [Bouyer J](#). Department of Obstetrics and Gynecology, Clamart, Kremlin-Bicetre, France

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

АМН

– ЦИКЛ-НЕЗАВИСИМЫЙ маркер овариального резерва

Уровень АМН, измеренный в течение менструального цикла не показал значительных колебаний в отличие от ФСГ, ЛГ и эстрадиола

[J Clin Endocrinol Metab. 2006 Oct;91\(10\):3760-2. Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ.](#) Department of Gynaecology, University Medical Centre Utrecht, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht, The Netherlands.

Определение АМН используется:

- для выявления преждевременного или замедленного полового созревания,
- в установлении пола в сомнительных случаях (диагностика интерсексуальных состояний)
- при установлении и подтверждении диагноза крипторхизма и анорхизма (хирургического и биохимического), синдрома нечувствительности к андрогенам
- в оценке мужской половой функции в любом возрасте (например, у мальчиков в пубертате с варикоцеле)
- в исследовании овариального резерва (включая преждевременную овариальную недостаточность по разным причинам, включая химиотерапию, ожирение, anorexia nervosa) и пременопаузальных изменений у женщин
- Предполагается использование в качестве дополнительного маркера СПКЯ
- в диагностике и контроле гранулезоклеточного рака яичника



Группа компаний

«БиоХимМак»

119991, Москва,
Ленинские горы,
МГУ им. М.В.Ломоносова

тел /факс.: (495) 647-27-40

e-mail: info@biochemmack.ru

www.biochemmack.ru

