

## PARTICULARITĂȚILE HORMONULUI ANTI-MULLERIAN ÎN DETERMINAREA REZERVEI OVARIENE

**Victoria Voloceai**, dr. șt. med., asist. univ.

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

### *PARTICULARITIES OF THE ANTI-MULLER HORMONE IN DETERMINING THE OVARIAN RESERVE*

*The problem addressed in this article is the appreciation of the anti-Mullerian hormone as a factor not only in estimating the number of oocytes obtained in FIV programs but also in their quality. It has been shown that patients with high levels of AMH are more likely to get good quality oocytes than those with low levels of this hormone.*

Hormonul anti-Mullerian (AMH), numit și substanța anti-Mulleriană sau factorul anti-Mullerian, reprezintă unul dintre cei mai importanți markeri ai sistemului reproductiv feminin remarcat în ultimii ani. Aprecierea acestui hormon ovarian nesteroidian a permis studierea mai multor procese profunde de creștere și dezvoltare a foliculilor și elucidarea mai multor probleme ce țin de patogenezabolilor ginecologice. În literatura de specialitate națională nu există informații despre studii efectuate asupra activității și importanței AMH. AMH reprezintă un dimer al glicoproteinei care contribuie la transformarea factorului  $\beta$  de creștere, iar în reglarea funcției ovariene participă împreună cu inhibinele A și B [6], care nu sunt un parametru cert de apreciere a rezervei ovariene.

O perioadă îndelungată funcția AMH în organismul feminin era necunoscută, fiind bine cunoscut însă rolul său în diferențierea sexuală masculină. AMH este secretat, începând cu perioada antenatală și terminând cu menopauza, de către celulele granuloase ale foliculilor în creștere, de la stadiul preantral până la cel antral al foliculilor de 6-8 mm, la toate etapele de foliculogeneză. Secreția este inițiată de recrutarea foliculilor primordiali, iar nivelul maxim se atinge în foliculii preantrali. După ce foliculii ating dimensiuni de 8 mm și mai mult, nivelul AMH scade considerabil și crește activitatea aromatazei și, corespunzător, crește producerea de estradiol. Există o interconexiune clară între producerea foliculului dominant de către granuloză, estradiol și AMH [3]. De asemenea s-a stabilit că foliculii dominanți și cei atreziați conțin o cantitate scăzută de AMH [3].

Rolul funcțional al AMH în faza foliculară timpurie a ciclului menstrual

a fost determinat prin testarea genei AMH (AMHKO) [143]. În lipsa AMH, foliculii primordiali sunt recrutați mai rapid, ceea ce duce la creșterea lor mai accelerată, până la epuizarea rezervei foliculare primare la o vârstă fragedă. Așadar, AMH are un efect inhibitor asupra recrutării timpurii a foliculilor, prevenind intrarea foliculilor primordiali în rezerva ovariană și, respectiv, epuizarea prematură a oocitelor/ foliculilor [144]. Astfel, AMH are o importanță clinică enormă, singurul impediment fiind heterogenitatea sa moleculară care, la moment, nu este elucidată. Nivelul AMH pe parcursul ciclului menstrual rămâne stabil și nu depinde semnificativ de valorile hormonilor gonadotropi, steroizi și inhibinelor. Testarea AMH în orice zi a ciclului menstrual permite obținerea unei informații depline și certe despre starea rezervei ovariene [4]. În cadrul studiilor din domeniu s-au examinat minuțios valorile AMH în perioada unui ciclu menstrual și s-a constatat menținerea acestuia la aceleași valori pe tot parcursul acestei perioade [4].

Noțiunea de rezervă ovariană definește rezerva funcțională a ovarului și apreciază capacitatea dezvoltării unui folicul sănătos, cu un ovocit sănătos, și un răspuns adecvat la stimularea ovariană. Rezerva ovariană apreciază numărul foliculilor în ovar și depinde de factori fiziologici și patofiziologici. Capitalul folicular descrește gradual în perioada reproductivă, cu o continuă inițiere a creșterii anumitor foliculi, urmând ca majoritatea lor să fie supuși apoptozei [218]. În perioada adolescenței există cca 400 000 de foliculi, dintre care doar cca 1 000 ajung până în perioada de menopauză. Suplinirea, prin metode de stimulare, a unei rezerve ovariene normale asigură un răspuns adecvat al ovarului la introducerea inductorilor ovulației.

În literatura mondială, informația referitoare la metode neinvazive de apreciere a rezervei ovariene au început să apară prin anii '80. Până în prezent, interesul față de acest subiect crește tot mai mult, în special în legătură cu extinderea programelor de FIV. Se discută rolul noilor factori de identificare a stării funcționale a ovarelor. O serie de studii din 2014 arată că aprecierea valorii AMH are importanță în estimarea rezervei ovariene, dar totodată este determinantă în conduita terapeutică a anumitor patologii. Назаренко Т. А. și coaut., testând nivelul AMH la 30 de femei sănătoase și la 210 de paciente cu infertilitate, au determinat la pacientele cu infertilitate tubar-peritoneală un nivel scăzut al AMH. În baza rezultatelor obținute autorii au argumentat necesitatea utilizării valorii AMH ca indice de apreciere

a rezervei ovariene [1].

Nivelul seric al AMH are un șir de beneficii comparativ cu alți markeri ai rezervei ovariene [212]. Inițial, nivelul plasmatic al AMH este stabil de la un ciclu menstrual la altul până la formarea foliculului dominant și corpului luteum [217, 220]. Comparativ, numărul foliculilor antrali și valorile FSH și E2 trebuie testate în primele 5 zile ale ciclului menstrual. De asemenea, unul dintre studiile recente a demonstrat că etnia nu influențează nivelul seric al AMH, contrar studiilor anterioare [2]. Cu toate că variațiile sunt minore, nivelul seric al AMH este util când numărul foliculilor antrali este imposibil de determinat, de exemplu la pacientele obeze, virgine sau cu ecogenitate diminuată. AMH este independent de axul hipotalamo-hipofizar și nu se modifică în așa patologie ca hiperprolactinemia, amenoreea funcțională hipogonadotropă sau hipogonadismul hipogonadotrop [16]. Nivelul seric al AMH poate fi influențat de o serie de factori care trezesc controverse. Obezitatea este frecvent asociată cu un nivel mai scăzut al AMH, dar nu în toate studiile [186, 207]. Există contradicții legate și de utilizarea contraceptivelor hormonale: unii autori susțin că COC nu diminuează rezerva ovariană, pe când alții argumentează prin studii scăderea acesteia până la 29-50%, fapt care poate fi explicat prin supresia secreției gonadotropinelor [194, 199].

Van Rooj, studiind minuțios importanța clinică a AMH în programele de FIV a constatat că nivelul acestui hormon depinde de vârstă, nivelul bazal al FSH, nivelul inhibinei B, numărul foliculilor antrali. AMH este, de asemenea, un indicator al răspunsului la stimularea ovariană și al prognosticului de sarcină. Fanchin R. și al., au stabilit că nivelul AMH are o corelație mai pronunțată cu numărul foliculilor antrali decât celelalte teste hormonale care apreciază rezerva ovariană (nivelul bazal al FSH, LH, inhibina B și estradiolul) [10]. Hazout A. și al., au stabilit importanța statistică a nivelului diferit al AMH în grupul pacientelor la care a survenit sarcina în programele de FIV și la cele la care sarcina nu a survenit, vârsta, nivelul bazal al FSH, LH, inhibina B și estradiolul nu se deosebeau în ambele grupe de paciente [5]. S-a apreciat că AMH este factorul care poate aprecia probabilitatea răspunsului negativ în programele de FIV, însă nu-l poate preveni [19].

Un grup de savanți francezi au stabilit că la aceleași femei nivelul AMH nu variază în diferite cicluri menstruale, în comparație cu nivelul bazal al

FSH, inhibinei B, estradiolului și numărul foliculilor antrali [10]. Ebner T. și al., au stabilit că valoarea AMH poate servi drept factor de estimare nu doar a numărului de oocite obținute în cadrul programelor de FIV, dar și a calității lor. s-a demonstrat că pacientele cu un nivel ridicat al AMH au o probabilitate mai mare de a obține oocite de bună calitate, decât cele cu nivel scăzut al acestui hormon [8]. Nivelul FSH nu determină calitatea oocitelor, iar frecvența fertilizării și dezvoltării embrionilor până la stadiul de blastocit nu depinde de nivelul AMH [7].

Conform datelor cercetătorilor britanici, nivelul AMH reflectă nu doar lipsa răspunsului la stimularea ovariană, dar și răspunsul extrem la preparatele FSH. După valoarea AMH poate fi prognozată probabilitatea nașterii unui copil viu după tratamentul conform programelor de FIV. Unii autori subliniază că determinarea nivelului AMH poate ajuta la alegerea unei doze individuale de FSH, în cazul stimulării superovulației [12].

Cercetătorii australieni au demonstrat că la pacientele cu nivel scăzut al AMH (mai puțin de 2 ng/ml) nu a survenit sarcina, spre deosebire de cele cu un nivel înalt al acestui hormon. La pacientele cu AMH scăzut s-a obținut un număr mai mic de oocite, de embrioni și o frecvență mai înaltă a avorturilor spontane până la 12 săptămâni. Dată fiind implicarea sa puternică în patofiziologia SOP, nivelul seric al AMH poate fi considerat standardul de aur în diagnosticul SOP, un criteriu mai sensibil de diagnostic al acestei patologii decât numărul foliculilor antrali, deoarece reflectă statusul hormonal real, comparativ cu numărul foliculilor antrali de dimensiuni extrem de mici, imposibili de ai vizualiza ultrasonografic [18].

În mai multe studii se confirmă că în SOP nivelul AMH este mai ridicat de 2-3 ori. De asemenea s-a demonstrat că nivelul AMH în sânge este în strânsă corelație cu hormonii testosteron, androstendion și cu numărul foliculilor antrali. La pacientele cu SOP testarea nivelului AMH poate înlocui numărarea ultrasonografică a foliculilor, dificilă la pacientele obeze. Trebuie menționat faptul că nivelul crescut al AMH în SOP este condiționat nu doar de numărul mare de foliculi care secretă AMH, dar și de secreția exagerată de AMH de către granulosa acestora. Nivelul ridicat al AMH în SOP depășește valorile normale încă înainte de menarhă, fenomen constat și la fiicele pacientelor cu această patologie. Estimarea nivelului AMH a permis stabilirea instalării tardive a menopauzei la pacientele cu SOP. Cele menționate sunt o dovadă a rolului incontestabil al AMH în patogeneză

za acestui sindrom [9].

Întrucât nu se știe din ce cauză în SOP foliculii rămân în dezvoltare și nu are loc dezvoltarea unui folicul dominant este dificil de a decide dacă nivelul ridicat al AMH este rezultatul stopării dezvoltării foliculilor sau această creștere joacă un rol patogenetic individual. Indiferent de caz, nivelul ridicat al AMH blochează aromataza și împiedică creșterea ulterioară a producerii estradiolului de către granuloză. Cauza unei producții atât de înalte de AMH în foliculii antrali ai pacientelor cu SOP nu este cunoscută, dar există dovezi ale corelației strânse cu hormonii androgeni. A fost raportată o corelație pozitivă dintre nivelul seric al androgenilor și al AMH, o altă sursă de producere a androgenilor ar putea fi defectul intrinsec al celulelor tecale din SOP.

Studiile au arătat că în celulele granuloase ale foliculilor pacientelor cu SOP există un număr crescut de receptoriFSH pentru androgeni, AMH, dar și un nivel crescut al ARNm, care contribuie la creșterea producerii acestui hormon. A fost constatată și scăderea producerii de AMH la creșterea nivelului FSH și, dimpotrivă, creșterea producerii de AMH ca răspuns la administrarea deLH. Nivelul AMH în celulele granuloase ale foliculilor, obținute de la femeile sănătoase, nu se modifică ca răspuns la administrarea în cultură a FSH și LH [6]. Toate aceste rezultate confirmă tulburarea secreției AMH la pacientele cu SOP. Probabil, nivelul ridicat al AMH în foliculii pacientelor cu SOP determină rezistența la FSH. De asemenea, se pare că LH stimulează producerea de AMH de către celulele granuloase la pacientele cu SOP [105]. Achiziționarea receptorilor LH de către celulele granuloase la pacientele cu SOP are loc mai timpuriu [67]. Unii autori au demonstrat că LH reduce expresia genei AMHRII în celulele granuloase, în ovarele normale și la pacientele cu SOP normo-ovulator, lucru imposibil în cazul pacientelor cu SOP non-ovulator. Așadar, acțiunea prematură a LH ar putea, de asemenea, să contribuie la arestul folicular printr-un mecanism care implică AMH.

Nivelul seric al AMH este corelat cu severitatea SOP [5] și este mai înalt în caz de hiperandrogenism [4] sau dacă este prezentă oligo-/ amenoreea [5]. Printr-o simplă testare serică a acestuia, un nivel ridicat al AMHpoate fi considerat un criteriu al hiperandrogenismului și poate fi folosit drept item de substituție a celui de-al doilea criteriu din clasificareade la Rotterdam. În cazul adolescentelor și al femeilor tinere cu SOP este dificil, uneori,

de a evalua ovarele ultrasonografic. De asemenea, poate fi dificil de a estima contribuția fiziologică sau patologică a acnee sau dereglărilor de ciclu menstrual, nivelul seric al AMH fiind în acest caz o alternativă reală recomandată de către Asociația Americană a Endocrinologilor Cliniciști [4]. Amer și al., studiind impactul COC asupra AMH la pacientele cu SOP și la femeile sănătoase, au stabilit că după 6 luni de administrare a COC nivelul AMH nu s-a modificat, pe când volumul ovarelor, numărul total al foliculilor, nivelul FSH, LH, estradiolului și testosteronului s-au micșorat, fapt confirmat statistic.

La moment există doar câteva studii care au examinat puterea de predicție a nivelului seric al AMH ca răspuns la administrarea CC. Mahran et al., au propus o valoare limită a AMH de 3,4 ng/ml mai sus de care se dezvoltă rezistență la CC, sugerându-se necesitatea administrării unei doze de CC mai mari din start. Administrarea Metforminei (în mediu 1500 mg/zi) pe parcursul a 6 luni pacientelor cu SOP a generat o scădere statistic considerabilă a valorii AMH. Hazaout și al., au studiat influența preparatelor agoniste ale liuliberinei în programele de FIV asupra unor indicatori ai rezervei ovariane: AMH, inhibina B, FSH, estradiolul și numărul foliculilor antrali. În baza rezultatelor obținute, autorii au ajuns la concluzia că desensitizarea hipofizei permite obținerea unui număr mai mare de foliculi capabili să răspundă la stimularea ovariană, ca indicator servind nivelul AMH.

Studiile demonstrează rezultate contradictorii în privința AMH și gonadotropinei. Unii autori susțin că gonadotropinele (în special FSH) inhibă producerea de AMH in vivo, în ovarele normale [193]. Alți autori [165] au înregistrat un nivel scăzut de producere a AMH în celulele granuloase ale pacientelor cu SOP stimulate cu FSH, nu și la femeile sănătoase. Un efect de stimulare a FSH asupra AMH a fost consemnat atât în ovarele femeilor sănătoase, cât și la pacientele cu SOP [184]. Studiile recentereconciliază concluzia precedentă: FSH poate stimula direct AMH în foliculii antrali mici atâta timp cât ei nu sunt supuși expresiei aromatazei. În foliculii mai mari, prin creșterea producerii de E2 cu recrutarea unui folicul dominant, FSH va avea un efect indirect inhibitor asupra expresiei AMH printr-un efect feedback negativ al E2.

Nivelul seric al AMH corelează cu severitatea hiperandrogenismului și cu caracterul ciclului menstrual (oligo-/amenoree) Din acest motiv, aprecierea acestui marker seric la pacientele cu SOP poate înlocui criteriile Rot-

terdam de diagnosticare a SOP. Fiind foarte des asociat cu anovulația, SOP este una dintre cauzele infertilității anovulatorii. Iată de ce nivelul seric al AMH reprezintă un criteriu de selecție a protocoalelor de tratament și este util la definirea strategiei optime în vederea realizării inducerii ovulației și restabilirii funcției reproductive. La moment există doar câteva studii care apreciază puterea predictivă a AMH la stimularea cu Clomifen Citrat. Mahran et al., au propus o valoare a AMH de 3,4 ng/ml drept limită a eficienței la stimularea cu CC, sugerând o rezistență la tratament în cazul valorilor mai mari și necesitatea administrării unei doze mai mari din start [6]. Nivelul seric al AMH rămâne a fi un criteriu predictiv extrem de util, în cazul stimulării cu FSH, în vederea evitării unei complicații severe precum sindromul de hiperstimulare ovariană, conform opiniei lui Broer și al., [6]. După nivelul AMH poate fi prognozat și răspunsul la stimularea ovulației la pacientele cu SOP.

Actualmente DOL reprezintă tratamentul de a doua linie al pacientelor cu SOP CC-rezistente, o alternativă a stimulării cu gonadotropine a acestora [123]. Utilitatea markerului AMH în prognosticul DOL a fost abordată [123] în două studii în vederea identificării valorii optime a AMH la pacientele supuse DOL, pentru a urgenta instalarea ciclurilor ovulatorii și survenirea sarcinii [4]. Referitor la administrarea COC pentru reglarea ciclului menstrual la pacientele cu SOP apare întrebarea dacă valoarea AMH se schimbă sau nu după administrarea de durată a acestora [169, 191, 192, 193]. Recent s-a demonstrat că la utilizarea curentă a COC în SOP, SHBG era ridicată, ceea ce determină diminuarea nivelului androgenilor, AMH și a numărului de foliculi antrali. Cu toate acestea, nici un studiu, până la moment, nu a demonstrat că administrarea de durată a COC reduce atât de mult nivelul AMH, încât ar putea pune în pericol fertilitatea.

Pentru a avea un efect hipoandrogenic în SOP este recomandată utilizarea COC în comun cu fracția de Drospirenolone sau Ciproteron acetat, sau Spironolactonă [6]. Unele studii au evaluat corelația dintre IMC, caracterul ciclului menstrual și valoarea AMH la pacientele cu SOP. Moran și al., [17] au obținut o reglare a ciclului menstrual la pacientele care au scăzut în greutate și care au avut din start un nivel mai scăzut al AMH. Nybaka și al., [18] de asemenea au înregistrat o îmbunătățire a funcției reproductive la pacientele obeze care au respectat un regim alimentar de slăbire și au avut un nivel al AMH mai scăzut [12]. S-a constatat o fluctuanță a valorilor AMH

după administrarea preparatului Metformina ca adjuvant în tratamentul pacientelor cu SOP.

Dinamica nivelului AMH în faza luteală a ciclului menstrual, în protocolul de stimulare în vederea FIV, a fost studiată de un grup de cercetători francezi [15]. Aceștia au constatat că dinamica scăderii și creșterii nivelului AMH coincide cu dinamica estradiolului, pe când nivelul progesteronului crește treptat din prima zi de administrare a HCG până în a 8-a. Posibilitatea determinării hormonului AMH în sânge a deschis noi perspective în diagnosticul rezervei ovariene în caz de SOP și în grăbirea instalării sarcinii la aceste paciente.

### **Bibliografie**

1. Назаренко Т. А. Синдром поликистозных яичников: современные подходы к диагностике и лечению бесплодия. Москва: Медпресс-информ, 2005. 208 с.
2. Bhide P., Gudi A., Shah A. et al. Serum anti-mullerian hormone levels across different ethnic groups: across-sectional study. In: BJOG., 2015, nr. 12 (122), p.1625-1634.
3. Coffey S., Mason H. The effect of polycystic ovary syndrome on health related quality of life. In: Gynecol. Endocrinol., 2003, vol. 17, p.379-386.
4. Crosignani P. G., Nicolosi A. E. „Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity”. In: Hum. Reprod. Update, 2001, nr. 1 (7), p. 3-7.
5. Cook C. L., Seow Y., Brenner A.G. et al. Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. In: Fertil. Steril., 2002, nr.1 (77), p.141-146.
6. Carlsen S. M., Vanky E., Fleming R. Anti-Mullerian hormone concentrations in androgen – suppressed women with polycystic ovary syndrome. In: Human Reproduction, 2009, vol. 24, p.1732-1738.
7. Deffieux X., Antoine J. M. Inhibins, activins and anti-Mullerian hormone: structure, signaling pathways, roles and predictive value in reproductive medicine. In: Gynecol. Obstet. Fertil., 2003, nr. 11 (31), p. 900-911.
8. Ebner T., Sommergruber M., Moser M. et al. Basal level anti-Mullerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. In: Human Reproduction, 2006, nr. 8 (21), p.2022-2028.
9. Eilertsen T. B., Vanky E., Carlsen S. M. Anti-Mullerian hormone in the diagnosis of polycystic ovary syndrome: can morphologic description



be replaced? In: Human Reproduction, 2012, nr. 8 (27), p.2494-2996.

10. Fanchin R., Schonauer L. M., Righini C. et al. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. In: Human Reproduction, 2003, nr. 2(18), p. 323-330.

11. Fanchin R., Schonauer L. M., Righini C. et al. Serum anti-Mullerian hormone, inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. In: Human Reproduction, 2009, nr. 2 (18), p.213-220.

12. Freeman E.W., Gracia C. R., Sammel M. D. et al. Association of anti-Mullerian hormone levels with obesity in late reproductive age women. In: Fertil. Steril., 2007, nr.1 (87), p.101-107

13. Han X., McShane M., Sahertian R. et al. Pre-mixing serum samples with assay buffer is a prerequisite for reproducible anti-Mullerian hormone measurement using the Bekman Coulter Gen II assay. In: Human Reproduction, 2014, nr. 5 (29), p.1042-1050.

14. Hazout A., Bouchard P., Seifer D. B. et al. Serum anti-Mullerian appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. In: Fertil. Steril., 2004, nr.5 (82), p.1323-1326.

15. Knez J., Kovacic B., Medved M. et al. What is the value of anti-Mullerian hormone in predicting the response to ovarian stimulation with GnRH agonist and antagonist protocols? In: Reprod. Biol. Endocrinol., 2015, nr. 1(13), p. 58.

16. Mahran A., Abdelmeged A., El-Adawy A. R. et al. The predictive value of circulating anti-Mullerian hormone in women with polycystic ovarian syndrome receiving clomiphene citrate: a prospective observational study. In: J. Clin. Endocrinol. Metab., 2013, nr. 10 (98), p.4170-4175.

17. Moran L.J., Pasquali k., Tende H.J. et al. Treatment of obesity in PCOS: a position statement of the Androgen Excess and polycystic Ovarian Society. In: Fertil. Steril. 2009, nr. 6 (92), p.1966-1982.

18. Nelson S. M. Anti-Mullerian hormone: is the writing on the wall for antral follicle count? In: Fertil. Steril., 2013, nr. 5 (99), p.1563-1564.

19. Panidis D., Georgopoulos N. A., Piouka A. et al. The impact of oral contraceptives and metformin on anti-Mullerian hormone serum levels in women with polycystic ovary syndrome and biochemical hyperandrogenemia. In: Gynecol. Endocrinol., 2011, nr. 8 (27), p.587-676.