Antimülleriánský hormon (AMH) marker plodnosti

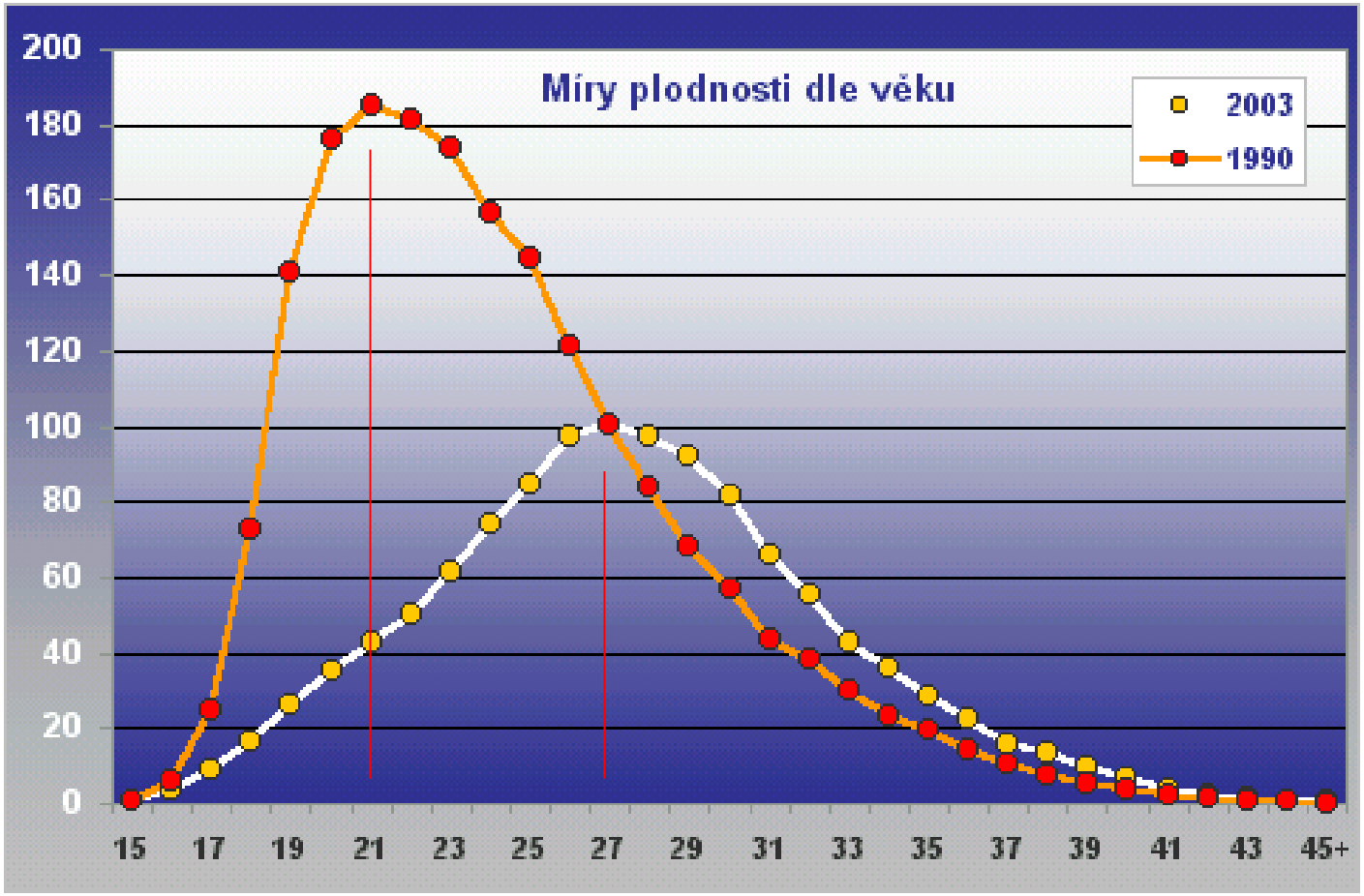
doc. PharmDr. Radek Kučera, Ph.D.
Oddělení imunochemické diagnostiky, FN Plzeň

☺☺☺

- AMH základní charakteristika
- ♂ nebo ♀
- Klinické použití
- ?????
- Závěr

Začněme ale statistikou...

Vývoj míry plodnosti podle věku, srovnání rok 1990 a 2003



ZDROJ: Český statistický úřad

☺☺☺

- AMH základní charakteristika
- ♂ nebo ♀
- Klinické použití
- ?????
- Závěr

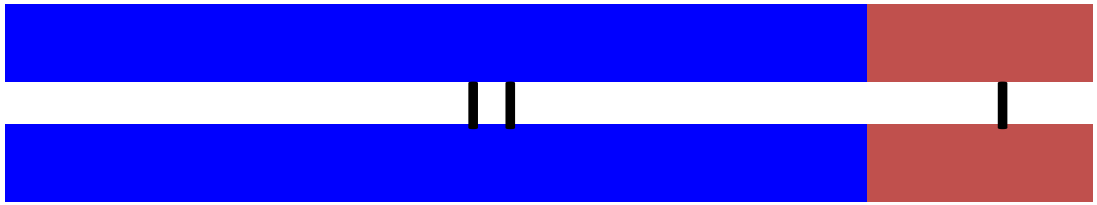
AMH – základní charakteristika

AMH patří do skupiny růstových faktorů TGF-β.

Název	Řetězec	Poločas (h)	AA	Molek. hmotnost (kDa)	Fyziologická funkce prenatální	Fyziologická funkce postnatální
AMH	AMH-N AMH-C	48	560	72	Diferenciace pohlaví plodu	Muži: pohlavní zrání Ženy: zrání folikulů

AMH glykoproteinový-dimer

AMH-N

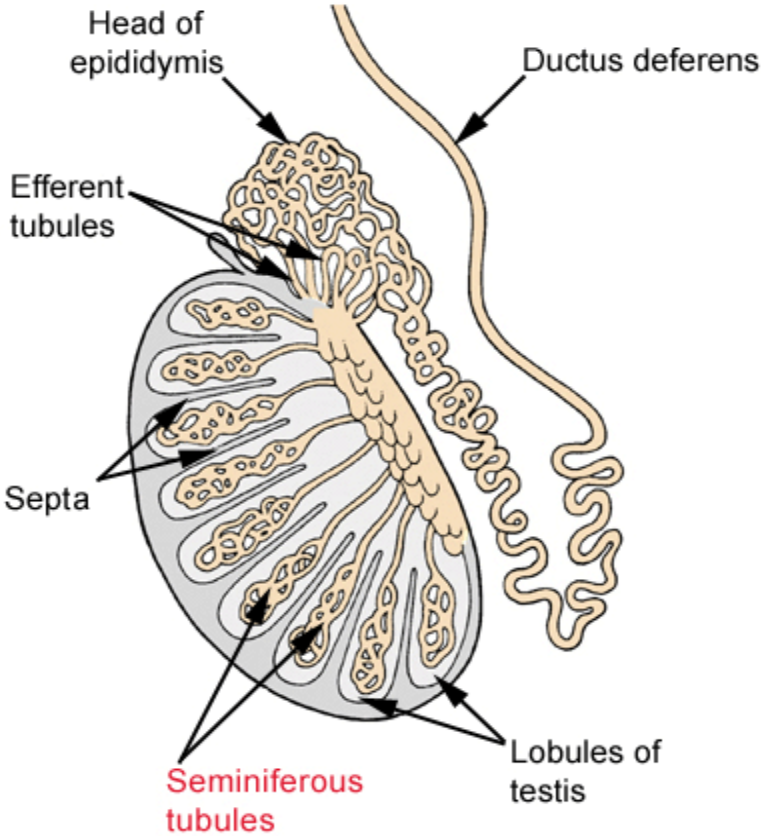


AMH-C

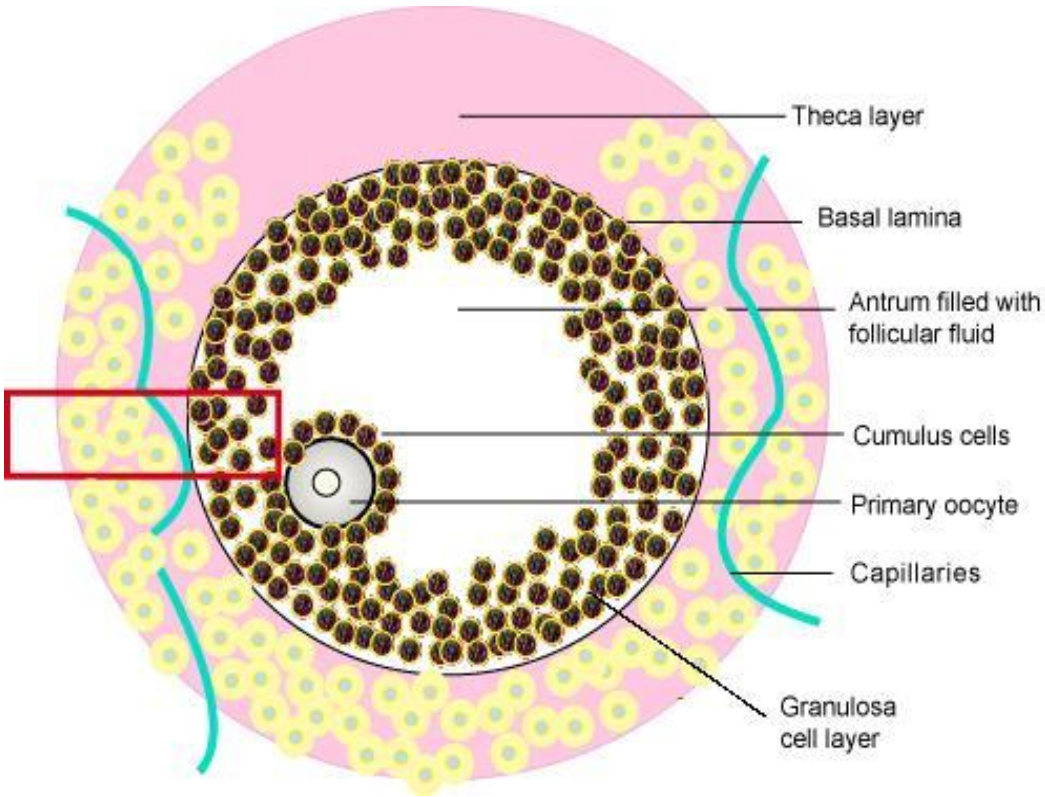
AMH prostorová struktura→

AMH – produkce a funkce postnatálně

Řez varletem



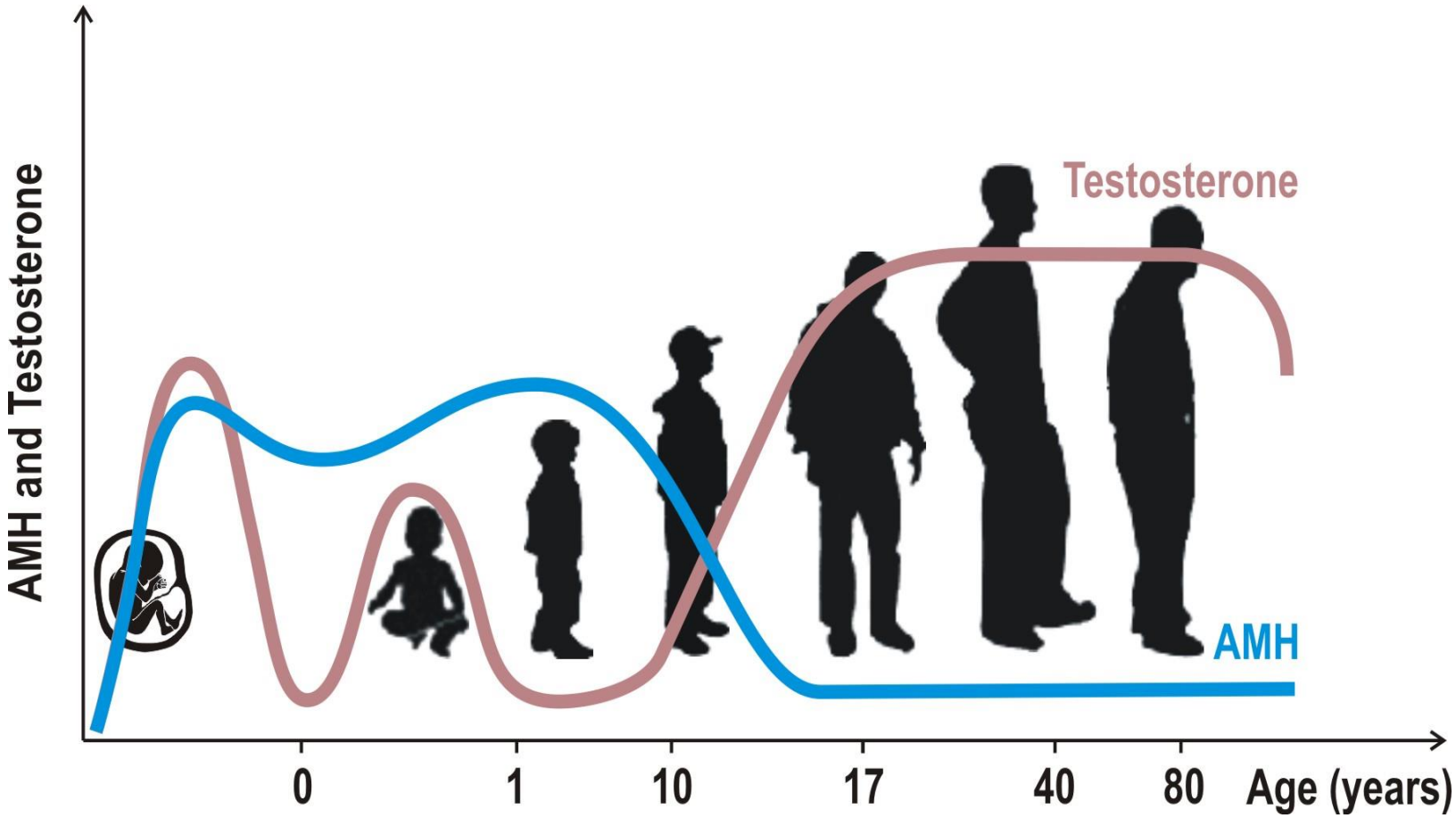
Řez ovariálním folikulem



Produkce AMH probíhá v Sertoliho buňkách varlat v prenatálním i postnatálním období u mužů, a v granulózových buňkách ovariálních folikulů v postnatálním období u žen.

AMH – muži

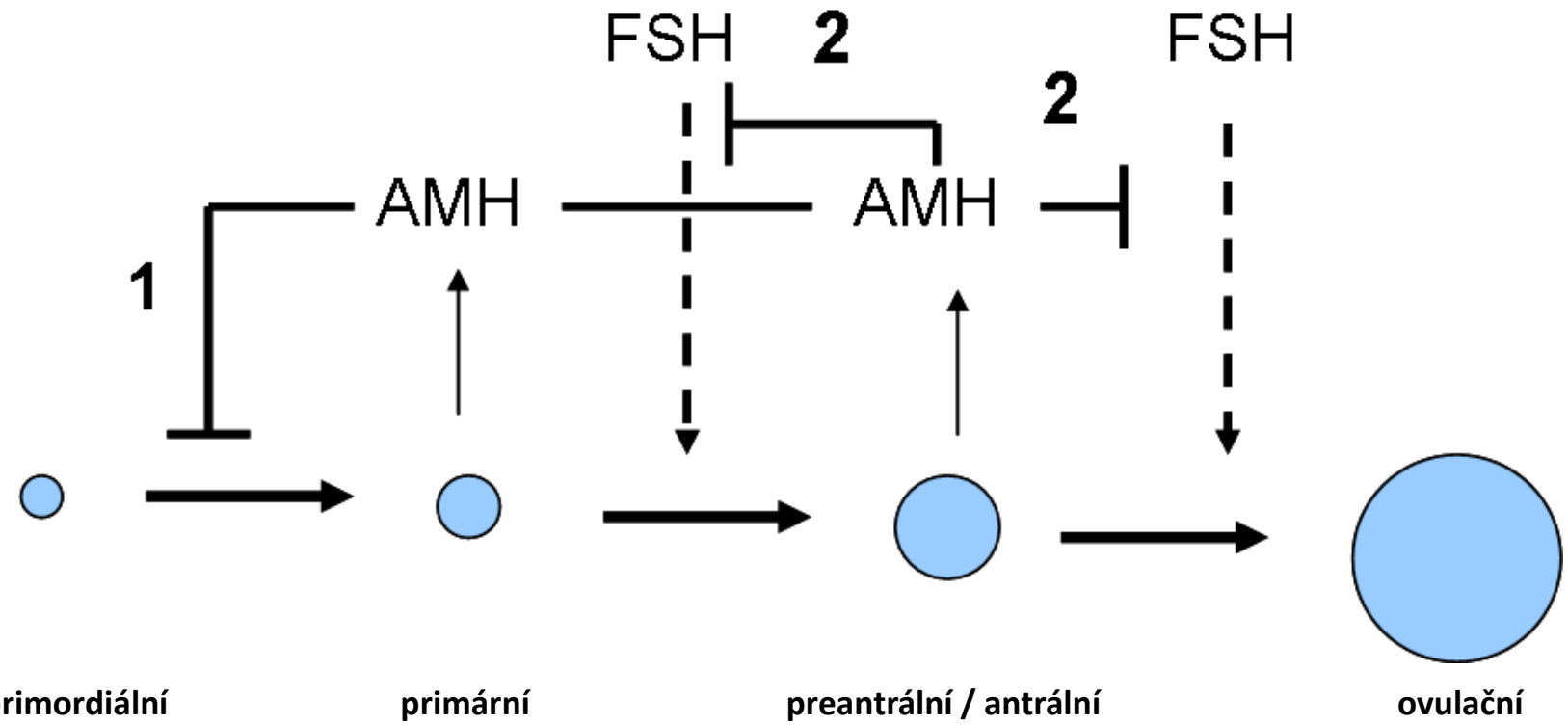
Hladiny AMH a testosteronu u mužů



AMH je specifický funkční marker nezralých Sertoliho buněk.
S nástupem puberty je jeho produkce utlumena testosteronem.

AMH – Fyziologická funkce - ženy

Model působení AMH ve vaječníku



Visser J.A. et al., Reproduction, 2006

AMH se spolu s FSH podílí na procesu zrání folikulů.
FSH podporuje zrání folikulů a AMH tento proces inhibuje.

☺☺☺

- AMH základní charakteristika
- ♂ nebo ♀
- Klinické použití
- ?????
- Závěr

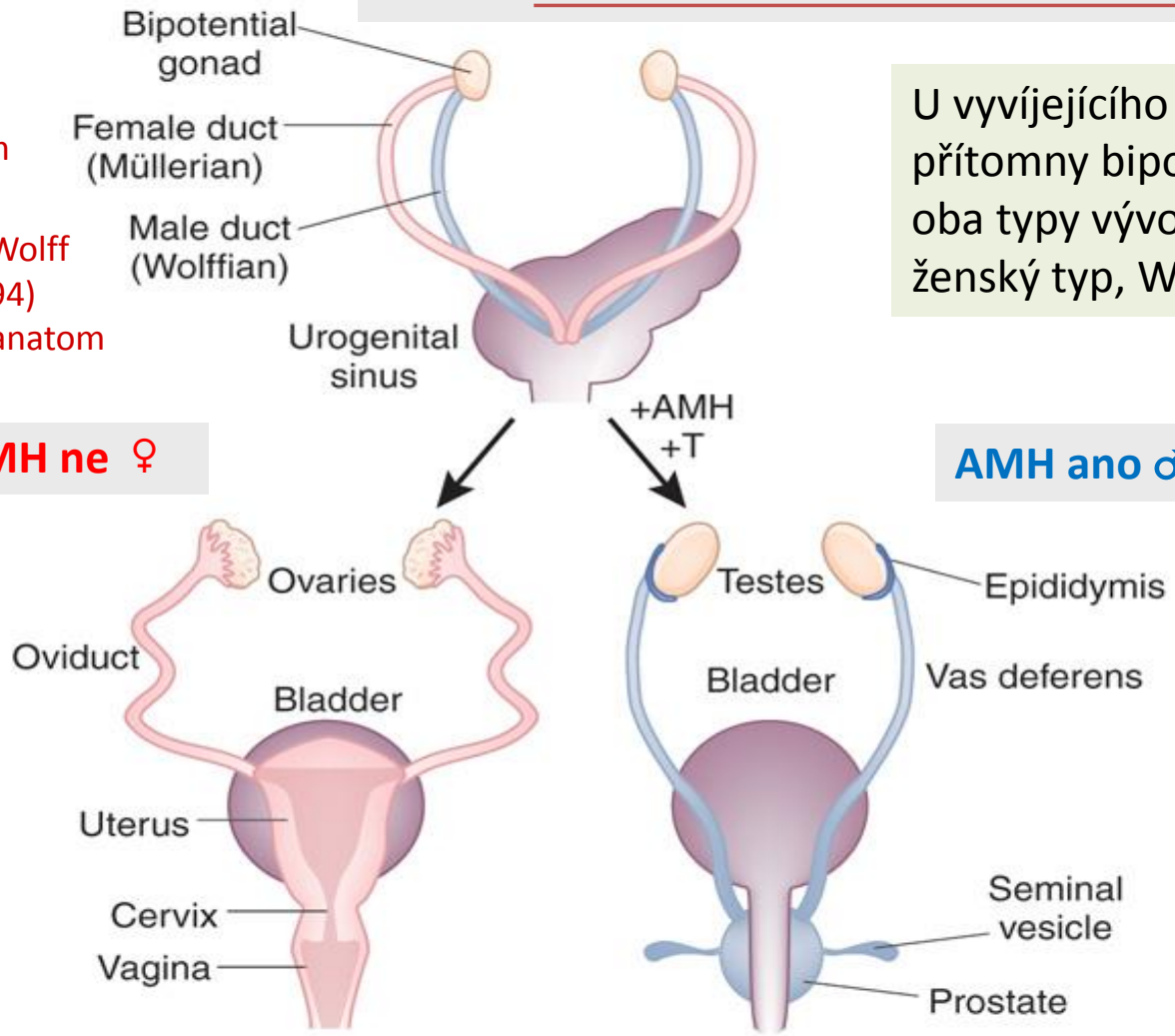
AMH – Fyziologická funkce - prenatálně

Sexuální diferenciace lidského plodu

Johannes Müller
(1801–1858)
německý anatom

Caspar F. Wolff
(1733–1794)
německý anatom

U vyvíjejícího se embrya jsou přítomny bipotenciální žlázy a oba typy vývodů Můllerův – ženský typ, Wolfův – mužský typ



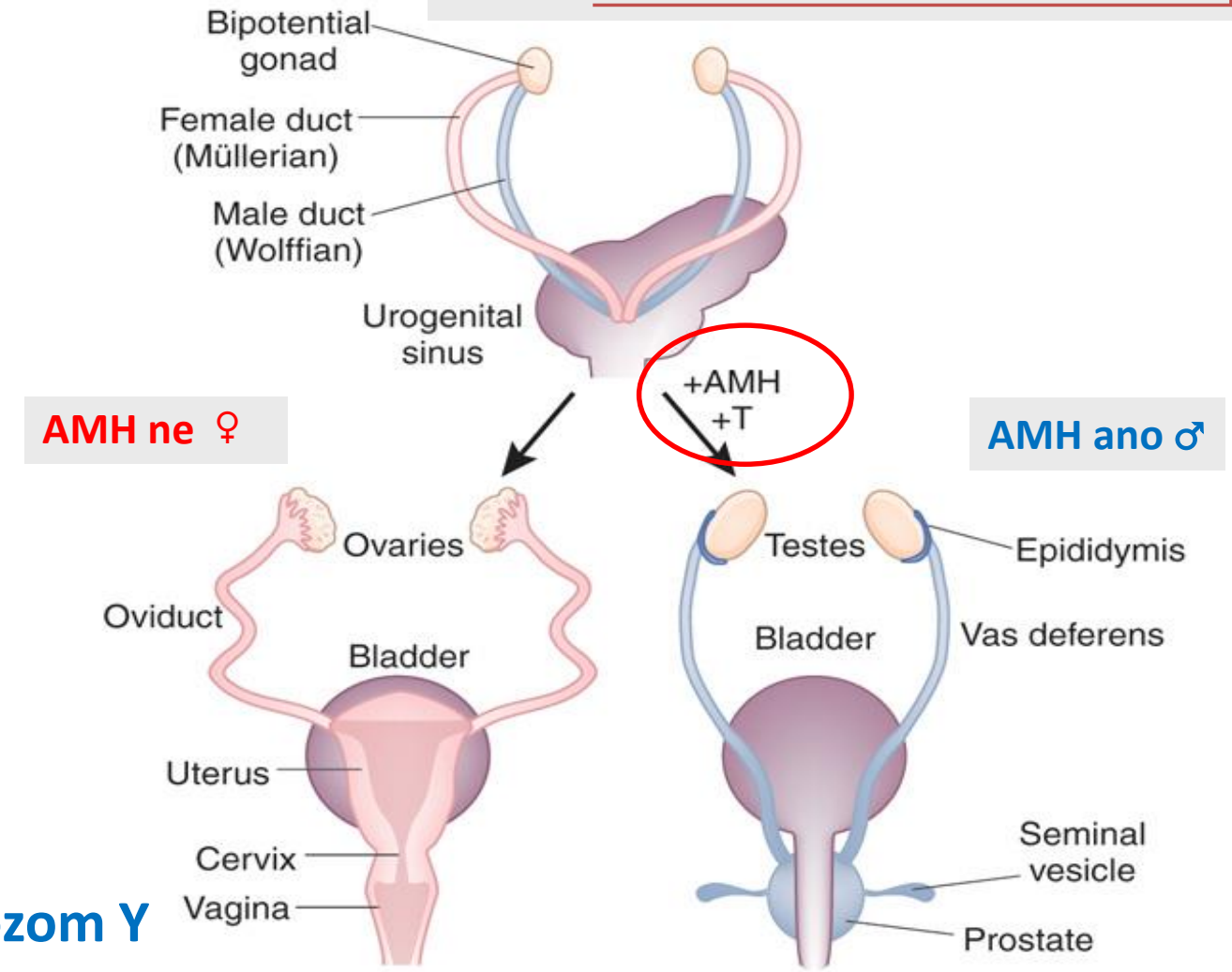
AMH ne ♀

AMH ano ♂

AMH izoloval
Alfred Jost (1947)

AMH – Fyziologická funkce - prenatálně

Sexuální diferenciace lidského plodu

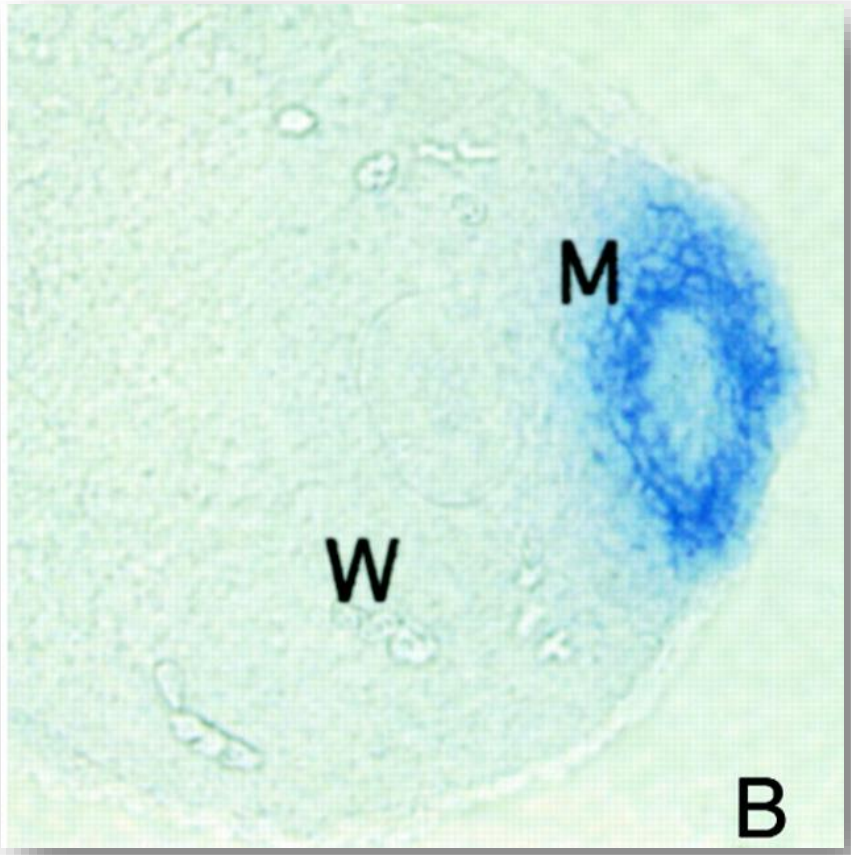


Chromozom Y

Gen SRY nacházející se na chromozomu Y spouští produkci proteinu **testicular determination factor (TDF)** - transkripční faktor. Váže se na specifických oblastí DNA a pomáhá kontrolovat aktivitu jednotlivých genů → spouští kaskádu dějů → vývoj plodu mužského pohlaví.

Prenatální funkce AMH - diferenciace pohlaví plodu

Exprese receptorů pro AMH při regresi Müllerova duktu



Teixeira J et al. Endocrine Reviews 2001;22:657-674

ENDOCRINE REVIEWS

AMH způsobuje vývoj plodu mužského pohlaví

6. – 8. gestační týden - exprese receptoru MIS1 a MIS2, po navázání AMH → regrese Můllerova vývodu díky indukci apoptózy → dále se vyvíjí Wolfův duktus a plod mužského pohlaví

☺☺☺

- AMH základní charakteristika
- ♂ nebo ♀
- Klinické použití
- ?????
- Závěr

AMH – Klinické využití

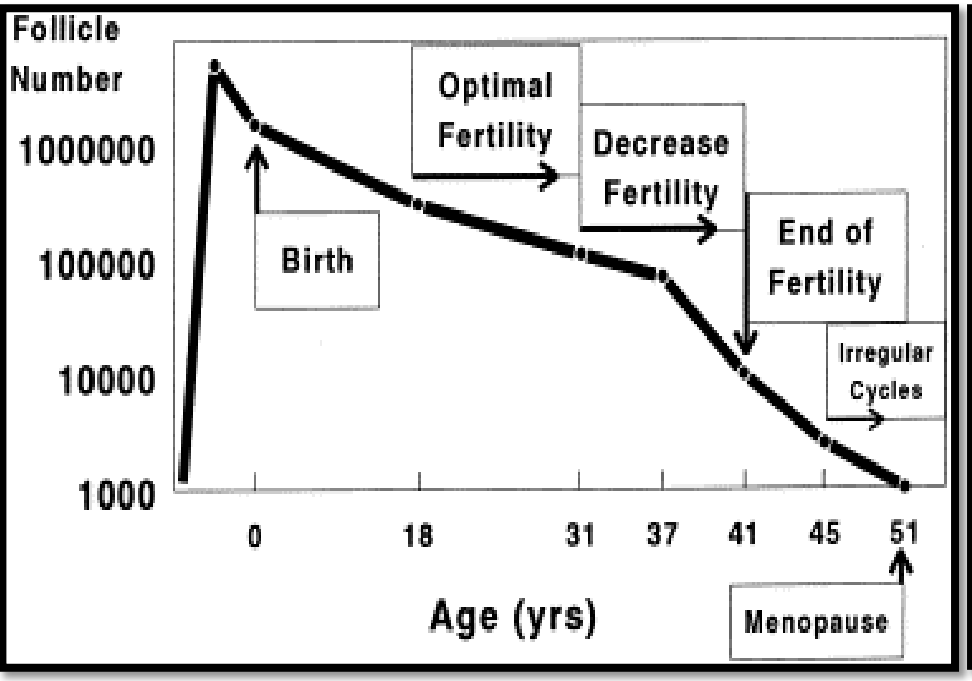
- STANOVENÍ OVARIÁLNÍ REZERVY
- ODHAD RIZIKA VZNIKU OHSS PŘED INDUKCÍ OVULACE PŘI IVF

- Diagnostika a sledování PCOS

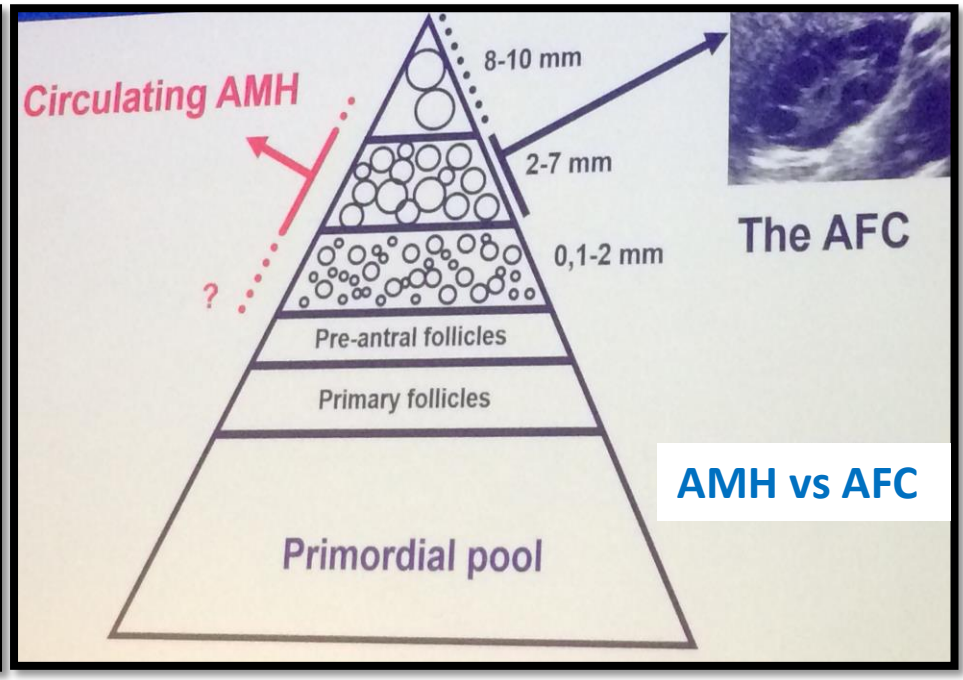
- Pooperační sledování u nádorů granulózových buněk

- Diferenciální diagnostika narušeného pohlavního vývoje u dětí

Ovariální rezerva - vývoj počtu folikulů



Te Velde et al. Mol Cell Endo 1998;145:67-73



Frank J. Broekmans, Lille 2012

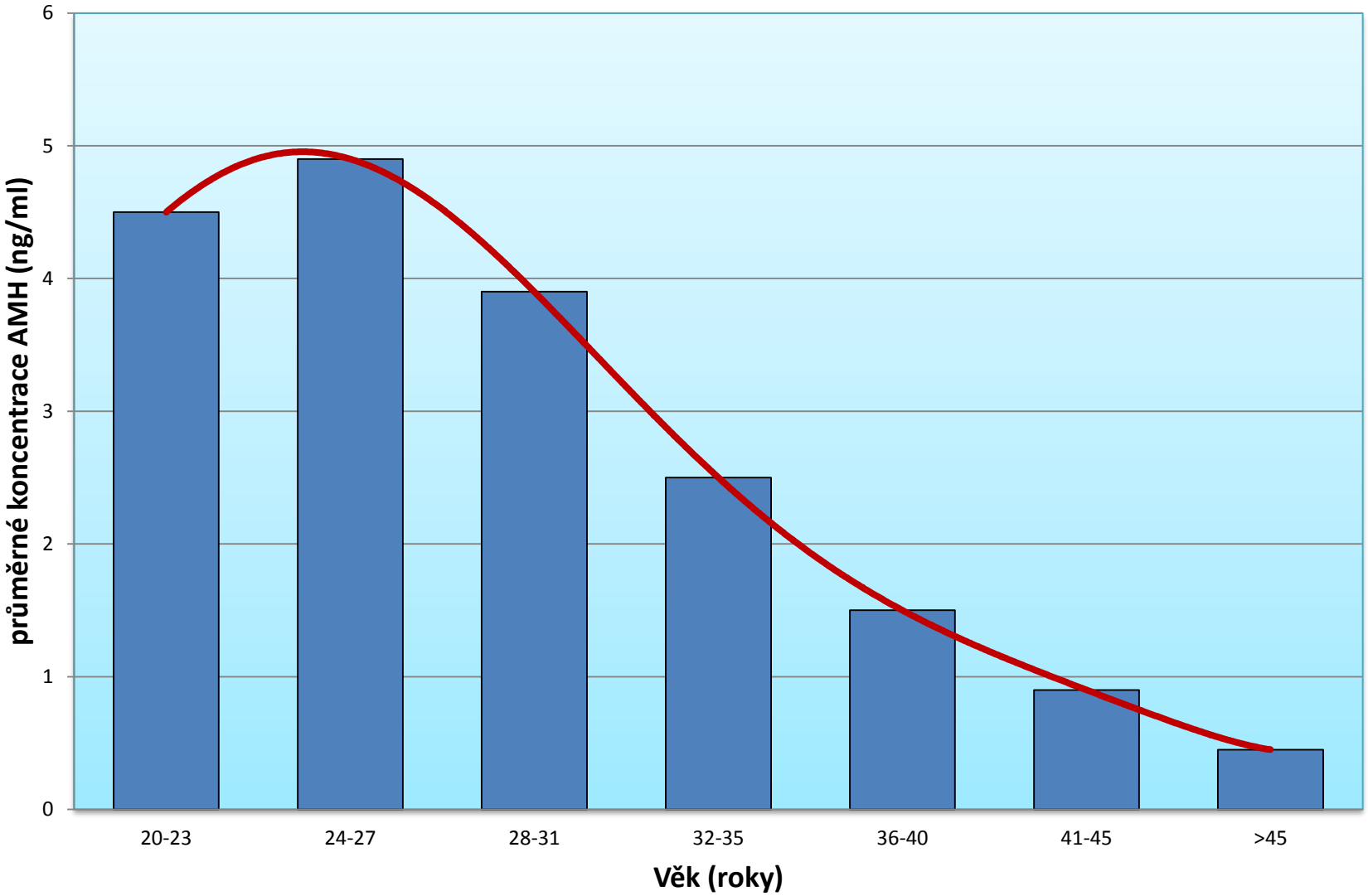
Počet folikulů klesá s věkem.
Ovariální rezerva se s věkem snižuje.

Ovariální rezerva - počet oocytů, které jsou vaječníky schopny poskytovat k případnému oplodnění.

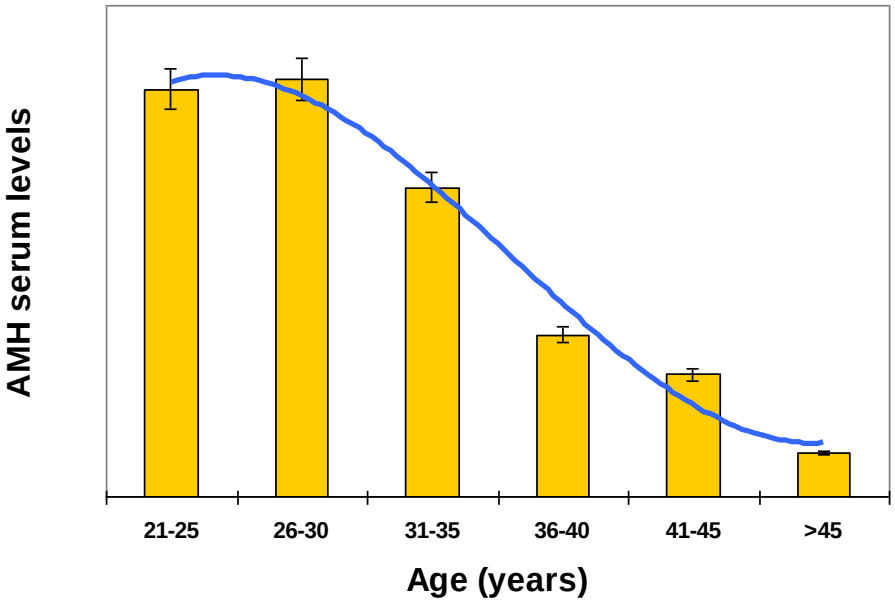
Produkce AMH začíná ve folikulech o velikosti < 1mm

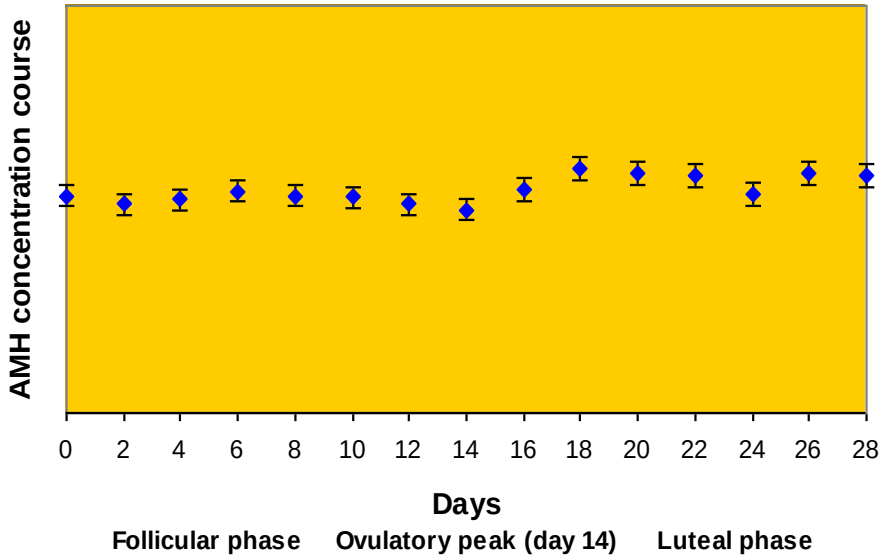
AMH odráží pokles ovariální rezervy v průběhu života ženy → → →

AMH ve fertilním věku u žen



Stanovení ovariální rezervy – proč právě AMH?





AMH:

- Stabilní molekula
- Relativně stabilní v průběhu cyklu
- Stabilní mezi cykly
- Validovaná závislost AMH na věku
- Významná korelace s množstvím oocytů
- Predikuje slabou odezvu
- Predikuje nadměrnou odezvu

Odhad rizika OHSS

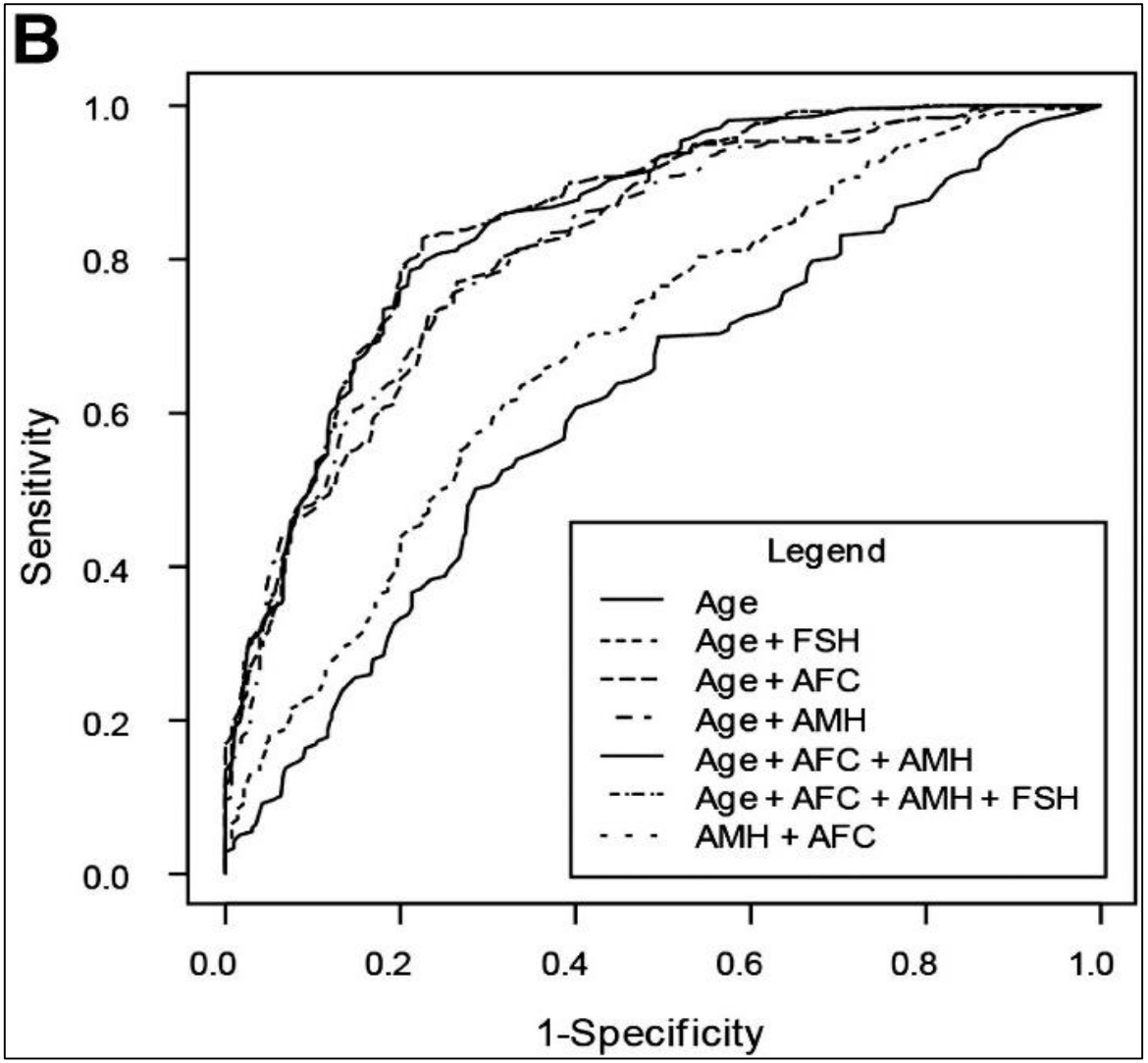
- **OHSS** – ovariální hyperstimulační syndrom
  - Stimulace a rychlý růst příliš velkého počtu folikulů
  - Nahromadění velkého objemu folikulární tekutiny
  - Popraskání folikulů a uvolnění tekutiny → komplikace

- Hladiny AMH korelují s odezvou na stimulaci gonadotropiny

- AMH je jednoznačným přínosem při predikci odezvy na stimulaci gonadotropiny

  (kongres COGI - Controversies in obstetrics and gynecology, Amsterdam, 2016)

Nadměrná odezva na stimulaci gonadotropiny



ROC analýza

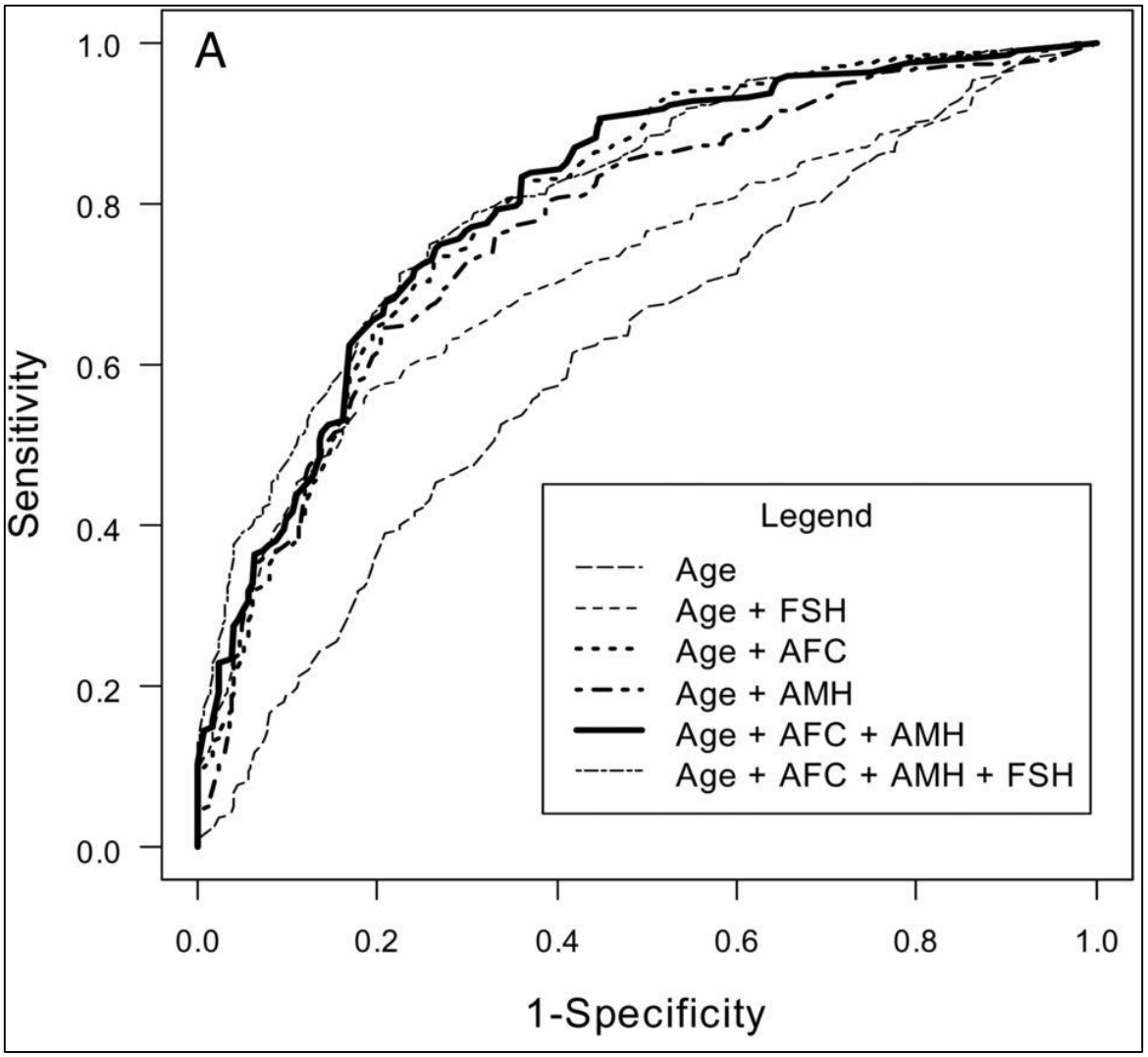
Skupina žen s nadměrnou odezva na stimulaci gonadotropiny vs normální odezva

AUC

Věk	0.61
Věk + AMH	0.81
Věk + AFC + AMH	0.85
Věk + AFC + AMH + FSH	0.85

Broer SL, Dólleman M, van Disseldorp J, Broeze KA, Opmeer BC, Bossuyt PM, Eijkemans MJ, Mol BW, Broekmans FJ; IPD-EXPORT Study Group. Prediction of an excessive response in in vitro fertilization from patient characteristics and ovarian reserve tests and comparison in subgroups: an individual patient data meta-analysis. Fertil Steril. 2013 Aug;100(2):420-9.e7.

Nedostatečná odezva na stimulaci gonadotropiny



ROC analýza

Skupina žen s nedostatečnou odezva na stimulaci gonadotropiny vs normální odezva

AUC

Věk	0.61
Věk + AMH	0.77
Věk + AFC + AMH	0.80
Věk + AFC + AMH + FSH	0.81

Broer SL, van Disseldorp J, Broeze KA, Dolleman M, Opmeer BC, Bossuyt P, Eijkemans MJ, Mol BW, Broekmans FJ; IMPORT study group. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. Hum Reprod Update. 2013 Jan-Feb;19(1):26-36.

human reproduction update

PCOS – syndrom polycystických ovarií

Klinické projevy

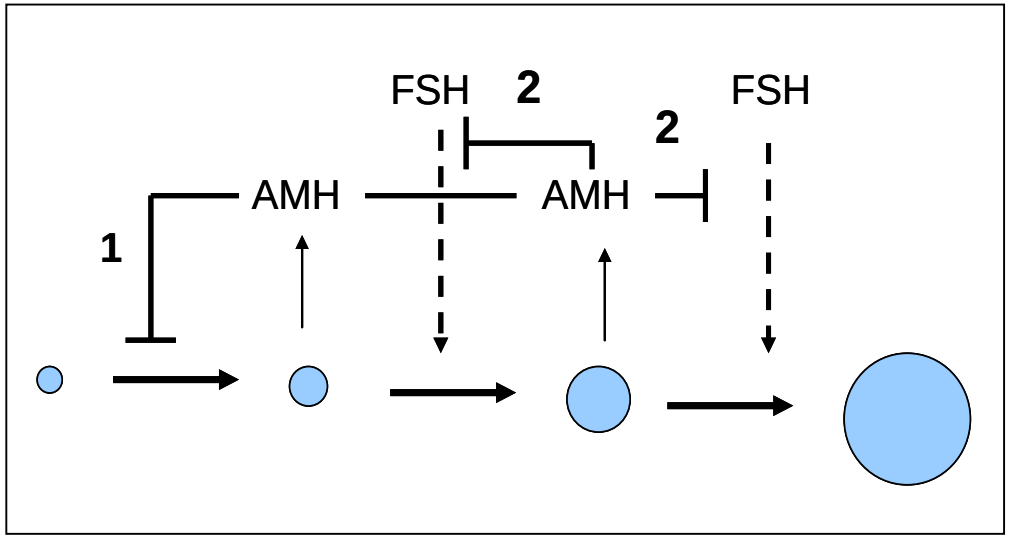
- poruchy menstruačního cyklu
- hyperandrogenismus
- hirsutismus a mužský typ alopecie
- poruchy glukózové tolerance
- diabetes mellitus 2. typu (10x více než u ostatních žen)
- PCOS je diagnostikován u 5 - 10% žen v reprodukčním věku

AMH a PCOS

- Zvýšení hladin AMH u žen s PCOS (o 50% - 75%)

- Neovulující ovaria produkují mnohem více AMH než ovulující

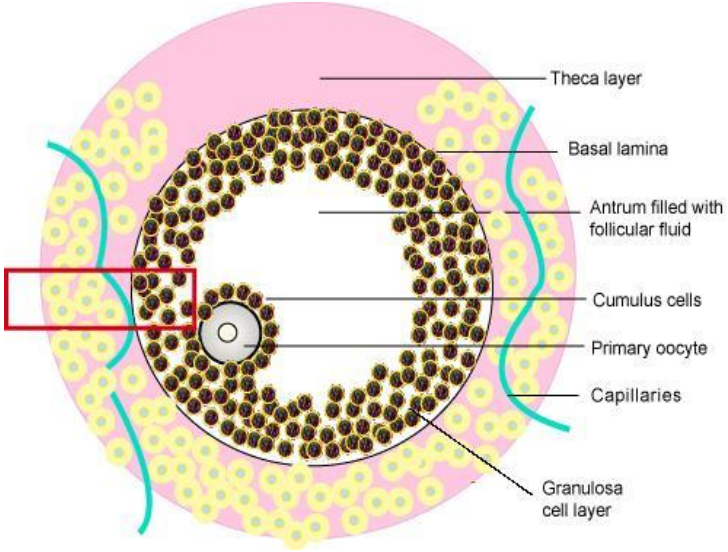
- Rozhodující je přítomnost folikulů o vel. Ø 2 – 6 mm (nejvyšší produkce AMH)



Dg kritéria PCOS: anovulace, hyperandrogenizmus, UZ (PCO)

- Snížení hladiny AMH při podávání metforminu o 20 – 60%

AMH a ovariální nádory



- Hladiny AMH zvýšené při nádorech granulózových buněk (2x i více)
- AMH je extrémně citlivý a specifický marker pro sledování žen po ovariektomii
- AMH je marker časné detekce recidivy
- Recidiva se může objevit 10 i více let po odstranění primárního nádoru

☺☺☺

- AMH základní charakteristika
- ♂ nebo ♀
- Klinické použití
- ?????
- Závěr

?

Užívání antikoncepce

- Pacientka: 27 let
- Užívala antikoncepci – 10 let (do 9/2014)
- 11/2014 dárcovství oocytů - hormonální stimulace neúspěšná
- 2 oocyty, nízká kvalita

↓

- Stanovení AMH → AMH: **0.8 ng/ml**

Latentní hypotyreóza

- Pacientka: 27 let

- **únor 2015** – vyšetření v endokrinologické ambulanci FN Plzeň
- TSH: 1.38 mIU/l (0.30 - 4.00 mIU/l)
- FT4: 12.35 pmol/l (11.50 - 23.00 pmol/l)
- → léčba: 75µg L-tyroxinu/den

- **červenec 2015** – vyšetření v endokrinologické ambulanci FN Plzeň
- TSH: 1.86 mIU/l
- FT4: 15.81 pmol/l

Atypické hladiny AMH

- Pacientka: 27 let

červenec 2015
AMH: 3.8 ng/ml

9 měsíců

listopad 2014
AMH: 0.8 ng/ml

?

Preanalytické vlivy

- Důležité je včasné oddělení červené krevní složky
- Stočení krve do **3h** po náběru (některé zdroje 8h)
- Jinak je molekula AMH stabilní
  - Laboratorní teplota: 24h
  - Lednice 4 - 8°C: 72h
  - Opakované rozmrazení séra: max. 3x

- Skladovatelnost zamražených vzorků
  - -20°C → 1rok
  - -80°C → více než 1rok – max. ???? (v 2015 zprac. vz. z roku 1994)

?

Reproductive BioMedicine Online (2012) xxx, xxx–xxx

ELSEVIER

www.sciencedirect.com
www.rbmonline.com

SHORT COMMUNICATION

Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes

Richard Fleming *, Craig Fairbairn, Catherine Blaney, Dorothy Lucas, Marco Gaudoin

Glasgow Centre for Reproductive Medicine, 21 Fifty Pitches Way, Glasgow G51 4FD, UK
* Corresponding author. *E-mail address:* richard.fleming@gcrm.co.uk (R Fleming).

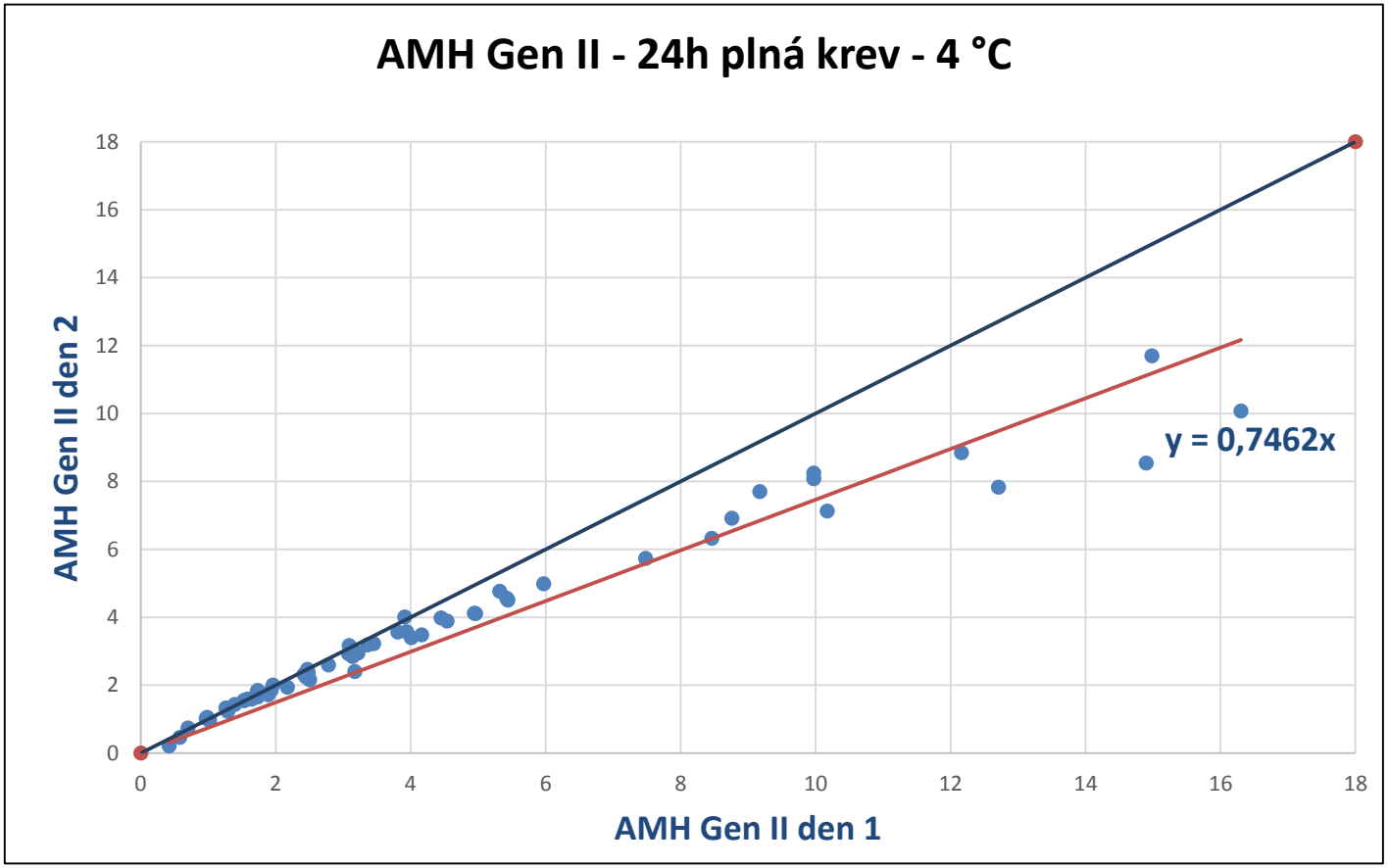
Table 1 Effect of time and temperature on AMH concentration in whole-blood samples.

	20 h at 20°C (n = 23)	*44 h at 20°C (n = 11)*	*90 h at 20°C (n = 21)*	*90 h at 4°C (n = 32)*
Control AMH (pmol/l)[a]	8.6	12.1	10.5	13.9
Experimental sample AMH (pmol/l)	9.9	13.6	13.8	15.4
Increment (%)	15	12	31	11
P (paired t-test)	<0.001	<0.016	<0.001	0.002

[a]Control sample = serum immediately separated from blood cells and refrigerated until assayed within 24 h of venepuncture.

Please cite this article in press as: Fleming, R et al. Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes. Reproductive BioMedicine Online (2012), http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.11.005

Vliv stání plné krve 24h při - 4 °C na hodnotu AMH



Rozdíl	AMH Gen II: den 1 vs den 2
Průměr	+ 11%

☺☺☺

- AMH základní charakteristika
- ♂ nebo ♀
- Klinické použití
- ?????
- Závěr

Závěr

- AMH je významný marker pro stanovení ovariální rezervy
- Využití při IVF – predikce odpovědi na stumulaci gonadotropiny → snížení rizika OHSS
- Diagnostika, sledování, mechanizmus PCOS
- AMH jako nádorový marker při nádorech granulózových buněk
- Důležité dodržovat preanalytické podmínky!
- Sledovat klinické stavy pokud je vývoj hladin AMH atypický!

doc. PharmDr. Radek Kučera, Ph.D.
Oddělení imunochemické diagnostiky
Fakultní nemocnice Plzeň
Edvarda Beneše 1128/13
305 99 Plzeň
Tel.: +420 377 401 158
Mobil: +420 603 456 958
E-mail: kucerar@fnplzen.cz

Děkuji za pozornost