

Klinisk anvendelse af antimüllersk hormon i fertilitetsbehandling

Fie Pilsgaard¹, Anna Garcia-Alix Grynnerup², Kristine Løssl¹ & Anja Pinborg¹

STATUSARTIKEL

1) Fertilitetsklinikken, Gynækologisk/obstetrisk Afdeling, Hvidovre Hospital
2) Klinisk Biokemisk Afdeling, Hvidovre Hospital

Ugeskr Læger
2017;179:V02170099

I Danmark er gennemsnitsalderen for førstegangsfødsende steget fra 22,7 år i 1965 til 29,1 år i 2015 [1], og mandens alder er steget tilsvarende. Adgang til prævention og abort samt uddannelsesmuligheder har medført, at flere udskyder forældreskabet [2]. Den sociale norm har ændret sig, selvom biologien ikke har. Højere alder hos gravide er problematisk, da risikoen for spontan abort, ektopisk graviditet, præterm fødsel, kromosomfejl og dødfødsel stiger med alderen [3]. Samtidig falder sandsynligheden for at opnå graviditet [4]. Hvis et par udskyder graviditeten, sænkes graviditetschancen således, ligesom sandsynligheden for at parret får det antal børn, de ønsker sig, falder. I 2015 kom 9% af de danske børn til verden som følge af fertilitetsbehandling [5].

En pige fødes med en pulje af æganlæg, primordialfollikler, i ovarierne. Til forskel fra manden, som kontinuerligt danner nye sædceller, dannes der ikke nye æganlæg gennem livet hos kvinden. Dagligt rekrutteres folliklerne til atresi eller ovulation. I præpuberteten går alle rekrutterede follikler i atresi, men fra puberteten vil en ganske lille del ovuleres, mens resten fortsat går i atresi, indtil puljen er udtømt ved menopausen. Ovariereserven (OVR) er et udtryk for det antal primordialfollikler, en kvinde har tilbage, og afhænger af arv, alder og ydre påvirkninger som rygning og BMI [6]. Ved fertilitetsbehandling bestemmes OVR ved en transvaginal

ultralydskanning, hvor man tæller de antrale follikler, dvs. de rekrutterede follikler, som har en størrelse på 2-10 mm. Endvidere anvendes antimüllersk hormon (AMH)-niveau som en markør for OVR.

AMH er et glykoprotein tilhørende *transforming growth factor β*-familien og er navngivet efter dets rolle i den føtale kønsdifferentiering hos drenge. Ekspresion af genet for AMH er siden påvist i ovarierne. AMH dannes i ovariets granulosaaceller fra præantrale og antrale follikler, der secernerer hormonet til follikelvæsken og cirkulationen, hvorved det bliver målbart i blodet. Der rekrutteres kontinuerligt fra puljen af primordialfollikler, og under indvirkning af follikelstimulerende hormon (FSH) og luteiniserende hormon (LH) modnes der follikler under hver menstruationscyklus. AMH udskilles af præantrale og antrale follikler, indtil de har nået en størrelse og et differentieringsniveau, hvorfra normalt kun én dominant follikel rekrutteres i hver cyklus [6]. Et *peak* af LH medfører færdigmodning og ovulation af den dominante follikel, som ikke secernerer AMH længere, og således er det kun puljen af follikler, som er i vækst, der udskiller AMH. Antallet af voksende follikler, der secernerer AMH, korrelerer med antallet af primordialfollikler, og AMH-niveauet er herved et udtryk for antallet af hvilende primordialfollikler i ovarierne og dermed OVR. I det følgende beskrives den kliniske anvendelse af AMH i forbindelse med fertilitetsbehandling (Figur 1).

MÅLING AF OVARIERESERVEN

Ved in vitro-fertilisering (IVF) eller assisteret befrugtning stimuleres ovarierne, så mere end én dominant follikel kan rekrutteres. Målet er at rekruttere et vist antal follikler, så chancen øges for at mindst ét æg befrugtes, deler sig fint og kan tilbagelægges i uterus. Respons på hormonbehandling er varierende og afhænger bl.a. af OVR. Man ønsker derfor en markør, hvormed man kan forudsige ovarieresponsen inden påbegyndelse af IVF.

Valget af den bedste ovariereservetest er kontroversielt. I et studie har man fundet, at antallet af antrale follikler (AFC) bestemt ved ultralydskanning gav det bedste estimat for ovarierespons ved gonadotropinbehandling [7], men det er også påvist, at AMH-niveau

HOVEDBUDSKABER

- ▶ I 2015 udførtes der 19.000 inseminationsbehandlinger og 17.000 behandlinger med assisteret befrugtning i Danmark, og behovet for fertilitetsbehandling er stigende.
- ▶ Antimüllersk hormon (AMH) produceres i ovariets præantrale og antrale follikler og kan anvendes til bestemmelse af kvindens ægreserve forud for IVF-behandling.
- ▶ AMH-niveau anvendes i stigende grad til fastsættelse af startdosis af gonadotropin til hormonstimulation før fertilitetsbehandling og får dermed betydning for individualiseret fertilitetsbehandling med dannelse af det ønskede antal modne follikler ved hormonstimulation og forebyggelse af ovarielt hyperstimulationssyndrom.
- ▶ Et nyt serum-assay gør det muligt at analysere AMH hurtigere og at detektere meget lave værdier af AMH < 3 pmol/l, hvorved AMH kan bidrage til fertilitetslægens vejledning af kvinder, der overvejer ægdonation pga. meget lav ægreserve.

er den bedste enkeltstående prædikator herfor [8]. I en metaanalyse fandt man, at man fik den bedste vurdering af responset, når man kombinerede kvindens alder med enten AMH-niveau eller AFC [8]. Begge test er nu accepteret til bestemmelse af OVR og anses for at være ligeværdige til vurdering af ovarierespons ved gonadotropinbehandling [9]. De indgår begge i Bolognakriterierne, hvor man definerer nedsat OVR og dermed formodet dårligt respons på gonadotropinbehandling. Kriterierne opfyldes ved to ud af tre kriterier: 1) alder > 40 år, 2) < 3 æg ved ægudtagning efter gennemført stimulationsbehandling og 3) nedsat ovariereservetest (AMH-niveau < 3,6-7,9 pmol/l eller AFC < 5-7) [10].

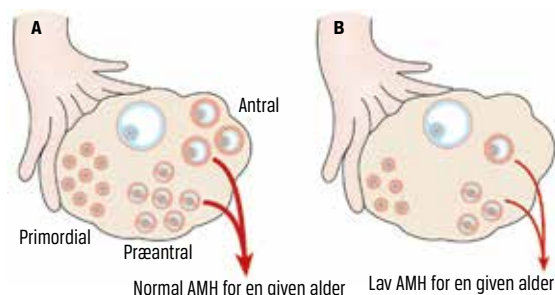
En biomarkørs validitet afhænger foruden markørens sensitivitet og specificitet af den positive prædiktive værdi (PPV). Ved en ovariereservetest angiver PPV sandsynligheden for, at en kvinde med en positiv test (lavt AMH-niveau) har nedsat OVR. PPV forringes ved lav prævalens, og dermed er det ikke anbefalelsesværdigt at anvende AMH-niveau til screening i normalbefolkningen [11]. Der er således heller ikke dokumentation for, at man ved hjælp af AMH-bestemmelse kan forudse chancen for spontan graviditet hos raske kvinder eller kvinder med uforklaret infertilitet [12]. Derimod har flere studier vist, at man ved AMH-bestemmelse med en vis nøjagtighed kan forudse respons på IVF – altså ægudbyttet [8, 13].

Brug af AMH-bestemmelse har flere fordele. Da værdien måles i serum, er der, til forskel fra ved brug af AFC, ikke risiko for interobservatorvarians. Det er kun nødvendigt med én måling forud for IVF for at identificere kvinder med lav OVR og formodet dårligt respons på hormonstimulation. Man mente før, at AMH-niveau var helt cyklusafhængig, men det viser sig, at AMH-niveauet falder lidt henimod slutningen af follikulærfasen [14]. Et studie, hvor man har målt AMH-niveau hos mere end 3.000 kvinder fra fødslen og frem til menopause, viste, at en tredjedel af den intracykliske variation er aldersbetinget [15], og man har påvist, at den intracykliske variation er mest udtalt hos ældre kvinder [14, 16]. På trods af den lille variation [17] er AMH-niveauet rimeligt cyklusstabil og fortsat den bedste hormonelle markør for OVR [18]. Prøven prædikerer godt i yderområderne – altså ved meget dårlig eller meget god ægreserve [11].

Målet med fertilitetsbehandling er naturligvis en graviditet, der resulterer i fødslen af et raskt barn, og man kunne derfor ønske en markør for netop dette. Ud over OVR har mange faktorer betydning for opnåelse af graviditet, herunder ægkvaliteten, som primært afhænger af kvindens alder. Man har ikke fundet en entydig sammenhæng imellem AMH-niveau og chancen for at opnå graviditet ved IVF, og det diskuteres, om AMH kun er en markør for kvantitative aspekter af OVR, eller om hormonet også kan anvendes som markør for æg-

FIGUR 1

Ovariereserven. De voksende præantrale og antrale follikler secerer antimüllersk hormon (AMH) til follikelvæsken og til cirkulationen. AMH-niveauet kan måles med én blodprøve, der tages på et vilkårligt tidspunkt i kvindens menstruationscyklus. Ved nedsat ovariereserve er der færre voksende follikler, der udskiller AMH, og hormonniveauet er derfor nedsat. **A.** Normal æggestok. **B.** Æggestok med lavere ægreserve. (Tegning: Birgitte Lerche-Barlach, Lerches Tegnestue).



kvaliteten. I en metaanalyse fandt man, at AMH-niveau ikke kunne bruges som prædikator for graviditet forud for IVF [9], dog har man i andre studier fundet en sammenhæng imellem AMH-niveau og kumuleret graviditets- og fødselsrate, hvor også graviditeter, som blev opnået med nedfrosne æg, blev medregnet [19]. Formentlig er det et udtryk for, at høje AMH-niveauer er associeret med et højt ægudbytte ved stimulationsbehandling, men næppe bedre ægkvalitet. Omvendt er det påvist, at et højt AMH-niveau forud for IVF øger chancen for levendefødsel uafhængigt af ægudbyttet, og her konkluderes det, at AMH-niveau også er en markør for ægkvalitet [20]. Den bedste prædikatorer for ægkvalitet er fortsat kvindens alder, og et studie viste, at kun ud fra alderen kunne man forudse chancen for fødsel af et levedygtigt barn [7]. Generelt er lavt AMH-niveau associeret med nedsat ovarierespons og nedsat graviditetschance efter IVF, men AMH-niveau er ikke en absolut prædikator for behandlingsrespons [11]. Især hos yngre ses der til trods for meget lave værdier ofte acceptable graviditetschancer [21]. Endvidere fandt man i et studie ingen forskel på AMH-niveauet hos kvinder i fertilitetsbehandling og raske kontrolpersoner [22]. Dette understreger, at man bør undlade at afvise nogen til IVF alene på baggrund af AMH-niveau.

INDIVIDUALISERET BEHANDLING

Ved hormonstimulering tilføres gonadotropiner og gonadotropinfrisættende hormon (GnRH)-analoger for at modne oocytter, gerne 6-12, og kontrollere ovulations-tidspunktet uden at skabe unødigt risiko for ovarie hyperstimulationssyndrom (OHSS). OHSS er en komplikation, som man er særligt opmærksom på, da det er en potentielt livstruende tilstand.

Der findes forskellige stimulationsprotokoller – overordnet set en lang og en kort. Lang behandling har tidligere været førstevalg i Danmark, hvor GnRH-agonistbehandling påbegyndes fra midtlutealfasen og medfører en forbigående gonadotropinstimulering. Efter behandling i 7-14 dage opnås en nedsat receptorfølsomhed i hypofysen og heraf nedsat udskillelse af gonadotropiner. Resultatet er et østrogen- og progesteronfald, som fører til menstruationsblødning. Herefter gives gonadotropininjektioner i 10-14 dage for at stimulere follikelvækst. Behandlingen med GnRH-agonisten fortsætter, indtil injektion med humant choriongonadotropin (hCG), der inducerer ovulation inden for 40 timer. Ca. 36 timer herefter aspireres æggene umiddelbart før ovulation [23].

Den korte behandling med GnRH-antagonist introduceredes i slutningen af 1990'erne. Her påbegyndes gonadotropinbehandlingen i den tidlige follikulærfase, så den fysiologiske FSH-stigning forstærkes, og flere follikler rekrutteres. Omkring cyklusdag 5-6 påbegyndes injektion med GnRH-antagonist, som binder kompetitivt til GnRH-receptorerne i hypofysen og blokerer for binding af endogent GnRH. LH-sekretionen hæmmes, hvilket ses bare otte timer efter behandlingsstart. Derved hæmmes ovulationen, indtil den induceres ved injektion af hCG-hormon, som har LH-aktivitet [23].

Jo højere gonadotropindosis der gives, des flere æg kan der aspireres op til en grænse, der afhænger af kvindens OVR [24]. Dosis-respons-kurven er således stejlest hos kvinder med højt AMH-niveau. Behandlingen individualiseres nu i langt højere grad end tidligere, da man tilstræber den startdosis, der giver størst chance for graviditet og mindst risiko for komplikationer i form af enten OHSS eller afløsning af behandling (hvis ingen eller kun få follikler vokser på trods af stimulation). I et stort studie har man påvist, at kort og lang behandling er ligeværdige mht. chance for graviditet og fødsel, men at risikoen for OHSS er størst ved lang behandling [25].

ASSAYS TIL MÅLING AF ANTIMÜLLERSK HORMON

AMH-bestemmelse har været anvendt i fertilitetsbehandling, før der fandtes standardisering af hormonaværdien, ligesom man tidligere har anvendt forskellige manuelle assays. Disse er baseret på forskellige antistoffer, der hver retter sig imod bestemte dele af AMH-molekylet, hvilket kan give forskellige værdier [26]. Molekylet splittes op i forskellige fragmenter under analysen, hvilket også påvirker målingen [16]. Senere anvendte man et mere sensitivt andengenerations-assay, men på trods heraf var tolkningen af AMH-niveau fortsat problematisk [27]. Man kan ikke direkte sammenligne værdier, der er målt med forskellige assays [28], og det blev antydnet, at prøverne var ustabile pga. komplementinteraktion [29]. I 2014 udvikledes

et automatisk assay, der kan detektere værdier < 3 pmol/l, som var den tidligere nedre detektionsgrænse [30]. Dette åbner for at anvende AMH-niveau til identifikation af kvinder, der har så lav OVR, at IVF er formålsløst, og som derfor bør tilbydes ægdonation fra starten. En sådan værdi for AMH findes endnu ikke. Det nye assay bruges nu som standard i laboratorierne i Region Hovedstaden.

KONKLUSION

Danske par bliver stadig ældre, når de får deres første barn [1], og behovet for fertilitetsbehandling er stigende. Før behandlingen bestemmes OVR ved AFC, som måles ved transvaginal ultralydskanning eller med AMH-bestemmelse, som anses for at være ligeværdige test [9]. AMH-niveau bestemmes med en blodprøve og giver et godt estimat for OVR. Prøven kan anvendes som prædiktør for respons ved IVF [13], hvorfor den bruges til at individualisere gonadotropindosis [24]. Tidligere anvendte man flere assays til måling af AMH-niveau, og resultaterne var svære at sammenligne [28]. I dag anvendes der mange steder et nyere automatisk assay med en lavere detektionsgrænse [30], hvilket måske kan bidrage til at finde den nedre værdi, hvor kvinder ikke har gavn af IVF. Denne AMH-værdi vil formentlig være afhængig af kvindens alder. Man bør gøre sig klart, at AMH prædikterer respons på gonadotropinstimulation snarere end graviditetschance. Man skal være varsom med at bruge AMH-værdi til screening for graviditetschance i normalbefolkningen. Naturlig konception fungerer med dens monoovulation godt, også ved lavere AMH-værdier.

SUMMARY

Fie Pilsgaard, Anna Garcia-Alix Grynnerup, Kristine Løssl & Anja Pinborg:

The use of anti-Müllerian hormone in fertility treatment
Ugeskr Læger 2017;179:Vo2170099

The need for fertility treatment in Denmark is increasing, one of the main causes being postponed parenthood. Ovarian reserve is determined by the anti-Müllerian hormone (AMH) level and by antral follicle count. Both tests can predict the ovarian response to gonadotropin treatment prior to in vitro fertilization (IVF) and are used to individualize ovarian stimulation to achieve an appropriate number of follicles and to avoid ovarian hyperstimulation. A new assay detects low values of AMH and may predict who will benefit from IVF and who should be referred directly to oocyte donation.

KORRESPONDANCE: Fie Pilsgaard. E-mail: fie.pilsgaard.01@regionh.dk

ANTAGET: 31. maj 2017

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 7. august 2017

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

LITTERATUR

1. Danmarks Statistik. 2016. www.statistikbanken.dk (1. dec 2016).
2. Hvidman HW, Petersen KB, Larsen EC et al. Individual fertility assessment and pro-fertility counselling; should this be offered to women and men of reproductive age? *Hum Reprod* 2014;30:9-15.
3. Schmidt L, Sobotka T, Bentzen JG et al. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. *Hum Reprod* 2012; 18:29-43.
4. European Society of Human Reproduction and Embryology. Fertility and ageing. *Hum Reprod Update* 2005;11:261-76.
5. Dansk Fertilitetsselskab. 2015. www.fertilitetsselskab.dk (1. dec 2016).
6. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update* 2002;8:141-54.
7. Mutlu MF, Erdem M, Erdem A et al. Antral follicle count determines poor ovarian response better than anti-Müllerian hormone but age is the only predictor for live birth in vitro fertilization cycles. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:657-65.
8. Broer SL, van Disseldorp J, Broeze KA et al. 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;19:26-36.
9. Broer SL, Mol B, Hendriks D et al. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705-14.
10. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod* 2011;26:1616-24.
11. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2015;103:9-17.
12. Casadei L, Manicuci C, Puca F et al. Can anti-Müllerian hormone be predictive of spontaneous onset of pregnancy in women with unexplained infertility? *J Obstet Gynaecol* 2013;33:857-61.
13. Nelson SM, Klein BM, Arce JC. Comparison of antimüllerian hormone levels and antral follicle count as predictor of ovarian response to controlled ovarian stimulation in good-prognosis patients at individual fertility clinics in two multicenter trials. *Fertil Steril* 2015;103:923-30.
14. Lambert-Messerlian G, Plante B, Eklund EE et al. Levels of antimüllerian hormone in serum during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril* 2016;105:208-13.e1.
15. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM et al. A validated model of serum anti-Müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS One* 2011;6: 1-7.
16. Robertson DM, Kumar A, Kalra B et al. Detection of serum antimüllerian hormone in women approaching menopause using sensitive antimüllerian hormone enzyme-linked immunosorbent assays. *Menopause* 2014;21:1277-86.
17. Overbeek A, Broekmans F, Hehenkamp WJ et al. Intra-cycle fluctuations of anti-Müllerian hormone in normal women with a regular cycle: a re-analysis. *Reprod BioMed Online* 2012;24:664-9.
18. La Marca A. Whatever its variability, antimüllerian hormone remains the most stable hormonal predictor. *Fertil Steril* 2013;100:1.
19. Arce JC, La Marca A, Mirner Klein B et al. Antimüllerian hormone in gonadotropin releasing-hormone antagonist cycles: prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good-prognosis patients. *Fertil Steril* 2013;99:1644-53.
20. Brodin T, Hadziosmanovic N, Berglund L et al. Antimüllerian hormone levels are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:1107-14.
21. Weghofer A, Dietrich W, Barad DH et al. Live birth chances in women with extremely low-serum anti-Müllerian hormone levels. *Hum Reprod* 2011;26:1905-9.
22. Hvidman HW, Bentzen JG, Thuesen LL et al. Infertile women below the age of 40 have similar anti-Müllerian hormone levels and antral follicle count compared with women of the same age with no history of infertility. *Hum Reprod* 2016;31:1034-45.
23. Ekerhovd E. Bruk av GnRH-antagonist ved in vitro-fertilisering. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2011;131:1649-52.
24. Arce JC, Andersen AN, Fernandez-Sanchez M et al. Ovarian response to recombinant human follicle-stimulating hormone: a randomized, antimüllerian hormone-stratified, dose-response trial in women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2014;102:1633-40.
25. Toftager M, Bogstad J, Bryndorf T et al. Risk of severe ovarian hyperstimulation syndrome in GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol: RCT including 1050 first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod* 2016;31: 1253-64.
26. Mamsen LS, Petersen TS, Jeppesen JV, et al. Proteolytic processing of anti-Müllerian hormone differs between human fetal testes and adult ovaries. *Mol Hum Reprod* 2015;21:571-82.
27. Clark CA, Laskin CA, Cadesky K. Anti-Müllerian hormone: reality check. *Hum Reprod* 2014;29:184-7.
28. Li HW, Ng EH, Wong BP et al. Correlation between three assay systems for anti-Müllerian hormone (AMH) determination. *J Assist Reprod Genet* 2012;29:1443-6.
29. Rustamov O, Smith A, Roberts SA et al. Anti-Müllerian hormone: poor assay reproducibility in a large cohort of subjects suggests sample instability. *Hum Reprod* 2012;27:3085-91.
30. Anckaert E, Öktem M, Thies A et al. Multicenter analytical performance evaluation of a fully automated anti-Müllerian hormone assay and reference interval determination. *Clin Biochem* 2015;49:260-7.