

*Opšti pregled /
General Review*

HORMONALNI LABORATORIJSKI
MARKERI OVARIJSKE REZERVE

HORMONAL LABORATORY MARKERS OF
OVARIAN RESERVE

Correspondence to

Mr. Almedina Hajrović, ass.

Fakultet zdravstvenih studija

Univerzitet u Sarajevu

e-mail: almedina.ha@hotmail.com

Almedina Hajrović¹, Snežana Unčanin^{1,2},
Sanela Hajro^{1,2}, Selvedina Duškan^{1,2}

¹ Fakultet zdravstvenih studija, Univerzitet u Sarajevu

² Univerzitetski Klinički Centar u Sarajevu

Ključne reči

ovarijska rezerva, Anti-Müllerov hormon (AMH), FSH, estradiol, imunohemijske metode

Key words

ovarian reserve, Anti-Müller hormone (AMH), FSH, estradiol, immunochemical methods

Sažetak

Obzirom da su vrlo česti problemi današnjice neplodnost različite etiologije, kao i pronalazak adekvatnog terapijskog postupka, neizostavno i vrlo važnu ulogu ima laboratorijsko određivanje korisnih hormonskih markera ovarijske rezerve. Od najznačajnijih hormonskih screening testova neizostavan je Anti-Müllerov hormon (AMH), a potom folikostimulirajući hormon (FSH), estradiol koji su precizniji testovi u odnosu na inhibin B i klomifen citratni test (CC) test. Anti-Müllerov hormon (AMH) je najznačajniji laboratorijski prediktor ovarijske rezerve. Samostalno određivanje koncentracije estradiola i koncentracije FSH ne bi trebalo se upotrebljavati u procjeni ovarijske rezerve, prvenstveno zbog varijacije hormona tokom menstrualnog ciklusa. Vrijednosti estradiola jedino mogu poslužiti kao unutarnja kontrola faze menstrualnog ciklusa, dok FSH za procjenu folikulogeneze, perimenopausalnog statusa, hipergonadotropnog i hipogonadotropnog gonadizma, te centralnog preuranjenog puberteta. Međutim, AMH u kombinaciji sa hormonima kao što su FSH i estradiol ljeakar uz druge dijagnostičke (ultrazvučne) procedure dobiva sagledivu sliku u smislu terapijskog tretmana, što i ukazuje na sam značaj laboratorijskog određivanja navedenih hormona u procjeni ovarijske rezerve. Kada je u pitanju osjetljivost i specifičnost metoda određivanja navedenih hormona, iste su vremenom razvijane, te su imunohemijske metode u širokoj primjeni s zadovoljavajućom osjetljivošću i specifičnošću.

UVOD

Problem neplodnosti je vrlo čest i kao takav procjenjuje se da je incidenca u populaciji oko 8-12% (1). U 35% slučajeva uzrok neplodnosti je definiran ženskim faktorom, u 30% muškim, a u 20% parova riječ je o kombiniranom uzroku (1). U 15% slučajeva se ne nalazi jasan uzrok neplodnosti, odnosno riječ je o idiopatskoj neplodnosti (1). Uzroci ženske neplodnosti dijele se na poremećaje ovulacije, abnormalnosti maternice, oštećenja jajovoda, peritonealne faktore te ostale uzroke (2).

Velike izazove u reprodukcijskoj endokrinologiji i liječenju neplodnosti predstavljaju smanjena ovarijska rezerva, starenje jajnika i porast prosječne dobi majke pri prvoj trudnoći koja sa sobom nosi rizik da različiti faktori oštete reprodukcijsko zdravlje žene (3).

Uprkos tome što je malo poznato o etiologiji i terapijskim mogućnostima kod žena sa smanjenom ovarijskom rezervom, zna se da je promjena ireverzibilna, te povećava rizik za pojavu slabog odgovora na indukciju ovulacije u metodama potpomognute oplodnje. Iz tih razloga

postoji potreba za daljnjim istraživanjem i razvojem metoda potpomognute oplodnje, a zahvaljujući postojanju vrlo pouzdanih laboratorijskih testova i markera za procjenu stanja ovarijske rezerve olakšan je odabir prikladne terapijske opcije za žene kod kojih je utvrđena smanjena ovarijska rezerva (3).

S tim u vezi, pojam smanjene ovarijske rezerve se odnosi na fiziološko ili patološko smanjenje broja i kvalitete oocita te smanjenje reprodukcijskog potencijala. Klinički će se manifestirati kao prolongacija prosječnog vremena potrebnog za postizanje začeca. Povezuje se sa ženama reproduktivne dobi, koje imaju regularne menstruacije, ali smanjen odgovor na ovarijsku stimulaciju. Procjena ovarijske rezerve spada u rutinsku pripremu žene za liječenje neplodnosti i za stimulaciju jajnika. Međutim, kada je u pitanju in vitro fertilizacija (IVF) procjena ne može biti korištena za predikciju trudnoće nego odgovora na stimulaciju. Kako bi se evaluirao problem i pristupilo liječenju neplodnosti vrlo je bitna hormonalna laboratorijska procjena ovarijske rezerve koja označava broj kvalitetnih jajnih stanica u jajniku (3).

Za procjenu ovarijske rezerve koristi se nekoliko hormonskih screening testova i ultrazvučni testovi. Od najznačajnijih hormonskih screening testova neizostavan je Anti-Müllerov hormon (AMH), a potom folikostimulirajući hormon (FSH), estradiol koji su precizniji testovi u odnosu na inhibin B i klomifen citratni test CC test (4,5).

Testiranje ovarijske rezerve koristi se u pacijentica starijih od 35 godina, neobjašnjene neplodnosti, prijevremene porodične menopauze, pušenja, ginekoloških operacija u anamnezi, hemoterapije, zračenja, za planiranje doze lijeka kod stimulacije ovulacije te kod povišenog rizika od sindroma ovarijske hiperstimulacije (5).

Ciljevi ovog rada su ukazati na značaj laboratorijskog određivanja hormonskih markera ovarijske rezerve i ukazati na najčešće korištene specifične i osjetljive metode analiziranja kroz naučni pregled literature.

Anti-Müllerov hormon (AMH)

AMH se smatra najranijim i najsensitivnijim pokazateljem smanjenja ovarijske rezerve. Njegova koncentracija dobro korelira s brojem primordijalnih folikula, pouzdano predviđa odgovor jajnika na stimulaciju u medicinsko potpomognutoj oplodnji i može predvidjeti vrijeme menopauze (6). Žene sa sindromom policističnih jajnika (PCOS) imaju povišene koncentracije AMH, dok žene koje upotrebljavaju oralne kontraceptive imaju snižene koncentracije AMH, koje se vraćaju u normalu 2 do 3 mjeseca nakon prestanka korištenja (7). U usporedbi sa brojem antralnih folikula (AFC), AMH se pokazao kao bolji prediktor dobrog odgovora jajnika na terapiju gonadotropinima u postupcima medicinski potpomognute oplodnje (8).

Međutim, AMH je slab prediktor kvalitativnih ishoda IVF-a: implantacije, trudnoće i živorođenja. To se objašnjava time da za te ishode nije bitna samo rezerva jajnika, nego i drugi faktori poput kvalitete embrija, protokola stimulacije, tehnike transfera i receptivnosti endometrija. Veća je povezanost kod starijih žena, što se objašnjava time da kod njih veći broj jajnih stanica daje veću mogućnost da će neke od njih biti kvalitetne, dok kod mlađih žena, neovisno o broju jajnih stanica, velika je vjerojatnost da je većina njih dobre kvalitete (9).

Također, AMH je loš prediktor trudnoće u žena s PCOS-om, budući da je kod njih njegova razina povišena zbog povećanog broja malih preantralnih folikula (10).

AMH ima inhibicijski učinak na folikulogenezu jer onemogućava prijelaz folikula od primordijalnog do primarnog stadija (11,12). Smatra se „čuvarom“ ovarijske rezerve jer ograničava broj regrutiranih jajnih stanica i rastućih folikula te vrši selekciju dominantnog folikula za ovulaciju (13,14).

Optimalne laboratorijske vrijednosti bi bile u rasponu 10 do 20 pmol/L (15). Žene sa sindromom policističnih jajnika (PCOS) imaju značajno povećanu razinu AMH zbog povećanog broja antralnih folikula, što može doprijeti anovulaciji (11,12). AMH se smatra najpouzdanijim markerom ovarijske rezerve u kliničkoj dijagnostici u usporedbi s ostalim trenutno dostupnim markerima, jer se proizvodi u ranim stadijima razvoja folikula koje karakterizira rast neovisan o gonadotropinu, za razliku od inhibina B i estradiola koje proizvode folikuli u kasnijim stadijima razvoja te su ovisni o FSH (14, 16).

U mnogim studijama istraživali su se brojni faktori koji mogu uticati na serumske vrijednosti AMH. Među najznačajnijima navode se: dob, prekomjerna tjelesna masa, konzumiranje alkohola, pušenje, polimorfizam AMH i njegovog receptora, autoimune bolesti, PCOS, endometriozna, hirurške intervencije, te primjena GnRH agonista. Uticaj oralne hormonske kontracepcije na AMH još uvijek ostaje kontroverzan (16).

Primjena oralne hormonske kontracepcije koja sadrži 35 µg etinil estradiola i 2 mg ciproteron acetata u periodu od 3 mjeseca smanjuje AMH za oko 20 %. Ovarijska rezerva ne može se procijeniti neposredno nakon prestanka primjene oralne hormonske kontracepcije (14).

U usporedbi s drugim markerima ovarijske rezerve, određivanje AMH pokazuje prednosti u tome što: najranije pokazuje smanjenje rezerve jajnih stanica, vrijednosti se najmanje mijenjaju od jednog do drugog menstruacijskog ciklusa, vrijednosti se najmanje mijenjaju unutar istog menstruacijskog ciklusa, AMH ne ovisi o FSH (sve dok su vrijednosti FSH unutar granica) i egzogeni FSH koji se daje ženama koje normalno ovuliraju ili imaju sindrom policističnih jajnika ne mijenja vrijednosti AMH u serumu (14, 17).

Laboratorijska koncentracija AMH se određuje uz pomoć imunohemijskih metoda (ECLIA), najčešće imunoenzimskom metodom (ELISA). Na početku razvoja imunoenzimskih testova za određivanje AMH, osjetljivost metoda bila je slaba (14 pmol/L). S vremenom se osjetljivost različitih proizvođača znatno povećala (0,18 pmol/L), ali nepostojanje univerzalnog standarda otežava usporedbe rezultata dobivene različitim metodama. Razlike u koncentracijama AMH dobivene različitim testovima bile su i do 400% (18). Referentni intervali za AMH prema starosti je prikazan u tabeli 1 (18).

Tabela 1.

DOBNA SKUPINA (god)	REF. INTERVAL (pmol/L)
20-24	(25,7 – 31,7)
25-29	(21,4 – 27,8)
30-34	(16,8 – 24,8)
35-39	(12,4 – 16,9)
40-44	(5,18 – 8,07)
45-50	(1,03 – 1,92)

Foliklostimulirajući hormon (FSH)

Foliklostimulirajući hormon (FSH) hormon je koji se oslobađa iz adenohipofize i potiče rast folikula i lučenje estradiola (6). Njegove vrijednosti određuju se 2. do 5. dan menstrualnog ciklusa, a povišene vrijednosti ukazuju na smanjenje ovarijske rezerve (14). Prema standardima Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) vrijednosti FSH > 16,7 predstavljaju visoku, FSH > 11,4 umjereno visoku i FSH < 10 mlU/mL referentnu koncentraciju (19). Određivanje serumske vrijednosti FSH je jednostavno, ali je nedovoljno osjetljivo te se zbog toga preporučuje koristiti u kombinaciji s drugim pokazateljima, kao što su dob, AFC i AMH (14).

Pri normalnoj funkciji jajnika, skupina folikula koja sazrijeva izlučuje estradiol i inhibin B, koji suprimiraju FSH i tako ga zadržavaju u normalnom rasponu. U slučaju manje folikularne skupine i sniženih koncentracija estradiola i

inhibina B dolazi do povećanja hipofizne sekrecije FSH, što se može vidjeti kao povišena koncentracija FSH rane folikularne faze. Ova povišena koncentracija FSH potiče brz rast folikula, što rezultira višim koncentracijama estradiola, kraćom folikularnom fazom i kraćim menstruacijskim ciklusom (4, 20).

Povišene koncentracije FSH možemo naći u sniženoj ovarijskoj rezervi, gdje je potrebna veća stimulacija FSH da bi se potaknula folikulogeneza, ali isto tako povišena koncentracija može se naći i u normalnoj ovarijskoj rezervi, ako je FSH mjeren u vrijeme najviše koncentracije LH (4).

Varijacije FSH među ženama i među ciklusima mogu biti značajne kod pacijentica s rizikom za umjereno povišene vrijednosti. Studija je pokazala da 75% žena od 40 do 44 godina starosti ima referentnu koncentraciju FSH, manje od 10 mIU/mL, a polovina žena od 45 do 49 godina koncentraciju nižu od 11 mIU/mL, iako je u tim godinama limitirana prediktivna vrijednost. FSH se sve više smatra manje vrijednim testom ovarijske rezerve, a više korisnim za procjenu perimenopausalnog statusa, hipergonadotropnog i hipogonadotropnog gonadizma te centralnog preuranjenog puberteta (4, 20).

FSH se određuje imunohemijskim metodama iz uzorka krvi na treći dan menstruacijskog ciklusa. Rezultati se, prema SZO smjernicama, svrstavaju u visoku (>16.7), umjereno visoku (>11.4) i referentnu koncentraciju (<10 mIU/mL) (4).

Estradiol

Koncentracija estradiola u krvi mjeri se od 2. do 5. dana ciklusa. Sam nalaz povišene vrijednosti estradiola ne ukazuje na smanjenu ovarijsku rezervu nego služi kao pomoćni nalaz za interpretaciju vrijednosti FSH. Te dvije vrijednosti trebaju biti analizirane zajedno (21).

Koncentracije su obično niske (60-80 pg/ml) u ranoj folikularnoj fazi mogu ukazivati na reproduktivno starenje (22). Kao i FSH, razine estradiola variraju tokom ciklusa, dosežući visoke koncentracije u kasnoj folikularnoj i sredini lutealne faze ciklusa (4). Smanjivanjem ovarijske rezerve smanjuje se i negativna povratna sprega koju uzrokuju folikuli regrutirani u prošlom ciklusu, što naposljetku dovodi do skraćivanja folikularne faze (4). To je i razlog zbog kojeg je sve kraće trajanje menstruacijskog ciklusa prvi klinički znak smanjenja ovarijske rezerve (4).

Estradiol u mjerenju ovarijske rezerve najveću vrijednost ima, kao unutarnja kontrola faze menstruacijskog ciklusa što nam omogućuje da pojedini test ovarijske rezerve možemo primijeniti određeni dan ciklusa. Bazalni estradiol ima nisku prediktivnu vrijednost slabog odgovora jajnika i neuspjeha začeca, zbog toga se ne bi trebao koristiti samostalno u procjeni ovarijske rezerve (4).

Laboratorijska koncentracija estradiola se pouzdano može odrediti imunohemijskom metodom (23).

Inhibin B

Inhibin B je sličan AMH po tome što je glikoprotein kojeg izlučuju preantralni folikuli, te zato što mu se koncentracija smanjuje s godinama. I inhibin A i B reguliraju sekreciju FSH. Međutim, koncentracije inhibina A ne koriste se u predikciji ovarijske rezerve zato jer nastaju prvenstveno od

dominantnog folikula, a ne ranije folikularne skupine, zbog čega su manje prediktivne. Razine inhibina B relativno su korisnije, ali sveukupno ostaju nedovoljno prediktivne, budući da su kasni pokazatelj snižene rezerve jajnika te obično počinju padati oko četiri godine prije menopauze (4).

Dosadašnjim istraživanjima pokazalo se kako razine inhibina B nisu dovoljno siguran pokazatelj stanja ovarijske rezerve zbog čega se danas više ne koristi u rutinskim pretragama (5).

Klomifen citratni test (CC)

CC test dinamički je test koji uključuje primjenu 10mg klomifen citrata pet dana uzastopno od petog dana ciklusa. Zatim se mjere bazalne vrijednosti FSH trećeg dana ciklusa, te vrijednosti FSH nakon stimulacije deseti dan. Ukoliko se treći ili deseti dan pokažu abnormalne vrijednosti FSH zaključujemo da se radi o lošem odgovoru jajnika (5). U metaanalizama studija koje su proučavale CC test, te bazalna mjerenja FSH zaključeno je da CC test nema veću predikcijsku vrijednost u prognoziranju odgovora ovarija i danas se gotovo ne koristi u rutinskoj praksi (5).

Vrijednosti laboratorijskih hormonskih parametara za procjenu ovarijske rezerve

Shodno navedenim činjenicama iz istraživanja, najraniji pokazatelji smanjenja ovarijske rezerve su AMH i inhibin B uz višekratno određivanje FSH i estradiola, čije vrijednosti su prikazane na tabeli 2 (5, 24).

Tabela 2.

Parametri ovarijske rezerve	Vrijednosti
Oligo/amenoreja	
FSH	Dvokratno >40 mIU/mL
Estradiol	<50 pg/mL
Inhibin B	40 pmol/L
AMH	< 7 pmol/L

ZAKLJUČAK

Poređenjem svih činjenica iz dostupne literature zaključili smo da od svih ovarijskih laboratorijskih markera s kliničkog gledišta Anti-Müllerov hormon (AMH) je najznačajniji laboratorijski prediktor ovarijske rezerve. Samostalno određivanje koncentracije estradiola i koncentracije FSH ne bi trebalo se upotrebljavati u procjeni ovarijske rezerve, prvenstveno zbog varijacije hormona tokom menstrualnog ciklusa. Vrijednosti estradiola jedino mogu poslužiti kao unutarnja kontrola faze menstrualnog ciklusa, dok FSH za procjenu folikulogeneze, perimenopausalnog statusa, hipergonadotropnog i hipogonadotropnog gonadizma te centralnog preuranjenog puberteta. Međutim, AMH u kombinaciji sa hormonima kao što su FSH i estradiol ljekar uz druge dijagnostičke (ultrazvučne) procedure dobiva sagledivu sliku u smislu terapijskog tretmana, što i ukazuje na sam značaj laboratorijskog određivanja navedenih hormona u procjeni ovarijske rezerve. Kada je u pitanju osjetljivost i specifičnost metoda određivanja navedenih hormona, iste su vremenom razvijane, te su imunohemijske metode u širokoj primjeni s zadovoljavajućom osjetljivošću i specifičnošću.

Abstract

Given that very common problems today are infertility of various etiologies, as well as finding an adequate therapeutic procedure, inevitably and very important role is played by laboratory determination of useful hormonal markers of ovarian reserve. Of the most important hormone screening tests, the Anti-Müller hormone (AMH) is indispensable, followed by follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol, which are more precise tests compared to inhibin B and the clomiphene citrate test (CC) test. Self-determination of estradiol concentration and FSH concentration should not be used in the assessment of ovarian reserve, primarily due to hormone variation during the menstrual cycle. Estradiol values can only serve as an internal control of the menstrual cycle phase, while FSH to assess folliculogenesis, perimenopausal status, hypergonadotropic and hypogonadotropic gonadism, and central premature puberty. However, AMH in combination with hormones such as FSH and estradiol, along with other diagnostic (ultrasound) procedures, the doctor gets a clear picture in terms of therapeutic treatment, which indicates the importance of laboratory determination of these hormones in the assessment of ovarian reserve. When it comes to the sensitivity and specificity of the methods for determining these hormones, they have evolved over time, and immunochemical methods are widely used with satisfactory sensitivity and specificity.

LITERATURA

1. Piskač T. Uzroci bračne neplodnosti. Diss. University of Zagreb. School of Medicine. Department of Gynecology and Obstetrics, 2020.
2. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin Biochem. 2018 Dec;62:2-10.
3. Jelinek D. Induction of ovulation in women with reduced ovarian reserve. Diss. University of Zagreb. School of Medicine. Chair of Gynecology and Obstetrics, 2018.
4. Mahovlić L. Biljezi ovarijske rezerve. Diss. University of Zagreb. School of Medicine. Chair of Gynecology and Obstetrics, 2017.
5. Palčić Z. Analiza ovarijske rezerve pacijentica liječenih postupcima medicinski potpomognute oplodnje na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode KKBC-a Split. Diss. University of Split. School of Medicine. Gynecology and obstetrics, 2017.
6. Perić M. Obrada neplodnog para. Diss. University of Zagreb. School of Medicine. Department of Gynecology and Obstetrics, 2019.
7. Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide. Am J Obstet Gynecol. 2017;217(2):129-140
8. 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(4):923-930.
9. Tal R, Tal O, Seifer BJ, Seifer DB. Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril. 2015;103(1):119-130.
10. Strauss III JF, Barbieri RL, Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology, Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management. 8. izd. Philadelphia: Elsevier; 2019.
11. Bhide P, Homburg R. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2016;37:38-45.
12. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS. Anti-Müllerian hormone (AMH): what do we still need to know? Hum Reprod. 2009;24(9):2264-2275
13. La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? Clin Endocrinol. 2006;64:603-610.
14. Dumanić K. Utjecaj oralne hormonske kontracepcije na reprodukcijску rezervu jajnika. Diss. University of Split. School of Medicine. Pharmacology, 2018.
15. Škratić L. Važnije laboratorijske vrijednosti i pretvorba nalaza. U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 697-699
16. Broer S, Broekmans F, Laven J, Fauser B. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. Hum Reprod. 2014;20(5):688-701.
17. Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. Fertility and Sterility. 2008;90(2):395-400.
18. Brkić I. Povezanost dobi i koncentracije AMH. Diss. University of Zagreb. Faculty of Pharmacy and Biochemistry. Department of medical biochemistry and haematology, 2017.
19. Wise PM, Suzuki S, Brown CM. Estradiol: a hormone with diverse and contradictory neuroprotective actions. Dialogues Clin Neurosci. 2009;11(3):297-303.
20. Parry, J. P. and Koch, C. A. (2016) 'Ovarian Reserve Testing'. Available at: <http://www.endotext.org/chapter/ovarian-reserve-testing1/>.
21. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. Fertil Steril. 2012;98:302-7.
22. Roudebush, W. E., Kivens, W. J. and Mattke, J. M. (2008) 'Biomarkers of ovarian reserve', Biomarker Insights, 2008(3), p. 1-23.
23. Hanulak J. Hormonski disbalans kao uzrok neplodnosti muškaraca. Diss. Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Faculty of Medicine., 2018.
24. Goldštajn Šprem M. Umanjena funkcija jajnika i prijevremena menopauza. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 297-307.

■ The paper was received / Rad primljen: 12.09.2021.
Accepted / Rad prihvaćen: 30.09.2021.