Hormon antymüllerowski w surowicy krwi u chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy

Anti-müllerian hormone serum level in patients with congenital adrenal hyperplasia

¹Katarzyna Ziora, ²Elżbieta Borawska-Dziadek, ¹Joanna Oświęcimska, ³Elżbieta Świętochowska, ³Zofia Ostrowska, ⁴Dariusz Kajdaniuk, ⁵Beata Wikiera, ⁵Jolanta Bieniasz, ⁵Anna Noczyńska, ⁶Janusz Bursa, ⁷Ewa Małecka-Tendera

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, SUM w Katowicach ²Oddział Pediatrii, Szpital w Rudzie Śląskiej ³Katedra Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, SUM w Katowicach ⁴Zakład Patofizjologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, SUM w Katowicach ⁵Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wzrostu i Rozwoju we Wrocławiu, Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu ⁶Klinika Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka Katedry Pediatrii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, SUM w Katowicach ⁷Katedra i Klinika Pediatrii, Endokrynologii i Diabetologii, Wydział Lekarski w Katowicach, SUM w Katowicach

¹Department of Paediatrics in Zabrze, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice ²Department of Pediatrics, Hospital in Ruda Śląska ³Department of Medical and Molecular Biology, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice ⁴Department of Pathophysiology in Zabrze, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice ⁵Wrocław Medical University, Faculty of Postgraduate Medical Training, Department and Clinic of Endocrinology and Diabetology for Children and Adolescents ⁶Department of Intensive Care and Neonatal Pathology, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice ⁷Department of Paediatrics, Paediatrics Endocrinology and Diabetes in Katowice, School of Medicine in Katowice, Medical University of Silesia in Katowice

Słowa kluczowe

hormon antymüllerowski, wrodzony przerost nadnerczy

Key words

anti-Müllerian hormone, congenital adrenal hyperplasia

Streszczenie

Wstęp. Pomiar stężenia hormonu antymüllerowskiego (AMH) we krwi służy do oceny rezerwy jajnikowej u kobiet i funkcjonowania komórek Sertoliego u mężczyzn. U chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy (WPN) stwierdza się obniżoną płodność. W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest danych na temat stężeń AMH w surowicy krwi u chorych z WPN.

Cel pracy. 1. Ocena stężeń AMH w surowicy krwi u chorych z WPN. 2. Analiza zależności pomiędzy stężeniem AMH a stężeniem hormonów płciowych w surowicy krwi u tych chorych. **Materiał i metody.** Badania wykonano u 68 osób z WPN w wieku 4–30 lat (śr. wiek: $15,0 \pm 6,4$ lat), w tym u 12 mężczyzn i 27 chłopców oraz 13 kobiet i 16 dziewcząt. AMH w surowicy krwi oznaczono metodą ELISA (Beckman Coulter; USA), a estradiol, testosteron, LH i FSH metodą EC-

Abstract

Background. Anti-müllerian hormone (AMH) concentration measurement is used to assess ovarian reserve in women and Sertoli cell function in men. In patients with congenital adrenal hyperplasia (CAH) fertility is reduced. There is a few data on serum AMH concentrations in CAH patients in the literature available. **The aim of the study.** 1. Assessment of serum AMH in patients with CAH. 2. Analysis of relationship between AMH and sexual hormones serum concentrations in these patients. **Material and methods.** The study comprised 68 CAH patients aged 4–30 years (mean age: $15,0 \pm 6,4$ years), including 12 men, 27 boys and 13 women, 16 girls. Serum AMH was determined by ELISA method (Beckman Coulter; USA), and estradiol, testosterone, LH and FSH by ECLIA (ROCHE, Switzerland). **Results.** Mean

LIA (firma ROCHE). **Wyniki.** Śr. stężenia AMH w surowicy krwi wynosiły: u chłopców $10,8 \pm 10,3$ ng/ml, u mężczyzn $10,2 \pm 8,0$ ng/ml, u dziewcząt $5,98 \pm 7,4$ ng/ml, a u kobiet $5,12 \pm 5,9$ ng/ml i u większości badanych były prawidłowe. U 15,4% chłopców nie wykryto AMH w surowicy krwi, a u 20,9% dziewcząt i kobiet stężenia AMH były nieprawidłowe (zawyżone lub zaniżone). Stwierdzono istotną korelację pomiędzy stężeniem AMH a LH w surowicy krwi ($r = -0,9$; $p < 0,05$) u kobiet, a w grupie mężczyzn pomiędzy wiekiem a stężeniami AMH ($r = -0,61$; $p < 0,05$). **Wnioski.** 1. Stężenia AMH we krwi u większości chorych osób z WPN są prawidłowe. 2. Nieobecność AMH we krwi u chłopców z WPN może świadczyć o uszkodzeniu jąder. Nieprawidłowe wartości stężeń AMH we krwi u dziewcząt i kobiet z WPN mogą wskazywać na zwiększone ryzyko zaburzeń płodności. 3. Nie stwierdza się istotnych zależności pomiędzy stężeniem AMH we krwi a stężeniami hormonów płciowych we krwi u chorych z WPN. Jedynie u kobiet występuje ujemna zależność pomiędzy stężeniem AMH a LH we krwi.

Endokrynol. Ped. 2016.15.3.56.21-30.
© Copyright by PTEIDD 2016

Wstęp

Hormon antymüllerowski (*Anti-Müllerian Hormone*, AMH), znany także jako czynnik hamujący Müllera (*Müllerian-inhibiting substance*, MIS; *Müllerian inhibiting factor*, MIF, *Müllerian-inhibiting hormone*, MIH), to glikoproteina należąca do rodziny transformujących czynników wzrostu TGF- β (*transforming growth factor beta*). Hormon ten wiąże się z receptorami (AMHR), które wykazują ekspresję w przewodach Müllera, komórkach Sertoliego i Leydiga w jądrach oraz w komórkach ziarnistych jajnika. U ludzi gen kodujący AMH znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 19. Zidentyfikowano kilka genów regulujących produkcję AMH, takich jak: *SF1*, *GATA1*, *WT1*, *DAX1* i *SOX9* [1].

Najwcześniej poznano rolę hormonu antymüllerowskiego jako czynnika mającego znaczenie w procesie różnicowania płci u płodów męskich [2–4]. Jednakże od roku 1990 wiadomo też, że AMH bierze udział w procesie rozwoju preantralnych i małych antralnych pęcherzyków jajnikowych u płci żeńskiej [1]. Uważa się, że AMH odgrywa potencjalną rolę w zachowaniu rezerwy jajnikowej [1].

serum AMH concentrations were: $10,8 \pm 10,3$ ng/ml in boys, $10,2 \pm 8,0$ ng/ml in men, $5,98 \pm 7,4$ ng/ml in girls and $5,12 \pm 5,9$ ng/ml in women and were within normal ranges in most examined patients. In 15,4% of boys serum AMH concentrations were below detection threshold and in 20,9% girls and women these values were abnormal (increased or decreased). Significant correlation between serum AMH and LH was observed in women ($r = -0,9$; $p < 0,05$) and in men serum AMH correlated with age ($r = -0,61$; $p < 0,05$). **Conclusions.** 1. Serum AMH concentrations in most of patients with CAH are normal. 2. The absence of AMH in serum of boys with CAH may suggest testicular failure. Abnormal values of serum AMH in female with CAH may indicate increased risk of infertility. 3. There is no statistically significant correlations between serum AMH and sexual hormones in CAH patients. Only in women a negative relationship between serum AMH and LH was found.

Pediatr. Endocrinol. 2016.15.3.56.21-30.
© Copyright by PTEIDD 2016

U kobiet pomiar stężenia AMH w surowicy krwi jest wykorzystywany jako biomarker rezerwy jajnikowej, niezmiennie przydatny w klinicznej ocenie płodności, monitorowaniu leczenia niepłodności, a także określeniu czasu wystąpienia menopauzy [5].

Hormon antymüllerowski pozwala na ocenę funkcjonowania jajników u kobiet z obniżoną rezerwą jajnikową w przypadkach przedwczesnego wygaśnięcia ich czynności. Stwierdza się wtedy znacznie obniżone stężenia AMH w surowicy krwi [3].

Ocena stężenia AMH w surowicy krwi może służyć także jako pomocny marker w rozpoznawaniu zespołu policystycznych jajników (PCOS) [6]. U chorych z PCOS notuje się podwyższone stężenia AMH w surowicy krwi, prowadzące do względnego braku FSH. U kobiet z wrodzonym przerostem nadnerczy jednym z odległych powikłań choroby jest zespół policystycznych jajników, związany z wysokimi stężeniami testosteronu i androstendionu we krwi [4,5].

Dane z piśmiennictwa wskazują na to, że u chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy (WPN) stwierdza się obniżoną płodność w porównaniu do populacji ludzi zdrowych. U kobiet z WPN przyczynami obniżonej płodności mogą być m.in. nieprawidłowa budowa pochwy, obniżona

aktywność seksualna, hiperandrogenemia, *oligomenorrhea* czy PCOS [7–13], a u mężczyzn azospermia, supresja osi podwzgórze-przysadka-gonady związana ze wzrostem stężeń androgenów nadnerczowych we krwi [14–20] oraz guzy typu *testicular adrenal tumor* (TART) [7,14,16,21,22]. Inne wymieniane przyczyny niepłodności u mężczyzn z WPN to nadmiar estrogenów i związany z tym zanik kanalików nasieniowców, szkliwienie kanalików, zanik komórek śródmiąższowych jądra, zmniejszenie sekrecji GnRH, deficyt lub brak komórek rozrodczych (*Sertoli cell only*) [23]. Badania wskazują także, że pacjenci z WPN wykazują niższą aktywność seksualną, nie wiążą się z partnerem, mają negatywny obraz samego siebie, niższą wiarę w siebie, ubogą towarzyskość i akceptację społeczną [8,11–13,16].

Pomiary stężeń AMH w surowicy krwi wykorzystuje się do oceny funkcjonowania niedojrzałych komórek Sertoliego u chłopców z niebadalnymi palpacyjnie gonadami w okresie przedpokwitaniowym [25–27]. AMH służy też do różnicowania pomiędzy wrodzonym brakiem jąder a niezstąpieniem jąder u chłopców z obustronnym wnetrstwem. To również cenny parametr świadczący o integralności jądra u dzieci z zaburzeniami interseksualnymi [25]. Zaletą oznaczania tego specyficznego dla jąder markera jest to, że do oceny stężenia tego hormonu nie jest wymagana wcześniejsza stymulacja gonad przez gonadotropiny. Gonady są jedynym źródłem produkcji AMH, nie wykryto bowiem pozajądrowego wydzielania tego hormonu [26,28].

W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest danych na temat stężeń AMH w surowicy krwi u chorych mężczyzn i kobiet z wrodzonym przerostem nadnerczy [25,28,30].

Cel pracy

1. Ocena stężeń hormonu antymüllerowskiego w surowicy krwi u chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy.
2. Analiza zależności pomiędzy stężeniem hormonu antymüllerowskiego a stężeniem hormonów płciowych w surowicy krwi u tych chorych.

Pacjenci i metody

Badania wykonano u 68 chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy, w tym u 49 pacjentów

z zespołem utraty soli i 18 pacjentów bez zespołu utraty soli z powodu niedoboru 21-hydroksylazy oraz u jednej chorej z niedoborem 18-hydroksylazy. Do grupy badanej zakwalifikowano 39 chorych płci męskiej, w tym 12 mężczyzn i 27 chłopców oraz 29 chorych płci żeńskiej, w tym 13 kobiet i 16 dziewcząt. U wszystkich badanych rozpoznanie WPN zostało ustalone po urodzeniu. Chorzy pozostawali pod kontrolą Poradni Endokrynologicznych przy Katedrze i Klinice Pediatrii w Zabrze, Klinice Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej w Katowicach SUM w Katowicach i Klinice Endokrynologii Diabetologii Wieku Rozwojowego UM we Wrocławiu.

Zebrano szczegółowy wywiad chorobowy z uwzględnieniem wyników badań USG jąder u chłopców i mężczyzn (w kierunku *testicular adrenal rest tumor*, TART) oraz zaburzeń miesiączki u dziewcząt i kobiet.

Celem oceny stężenia hormonów w surowicy krwi u wszystkich badanych pobrano krew w godzinach rannych (7.00–8.00) na czczo. Hormon antymüllerowski (AMH) oznaczono metodą ELISA (firma Beckham Countler, USA). Wyniki stężeń hormonu antymüllerowskiego w surowicy krwi odniesiono do zakresu norm pozyskanych z dostępnego aktualnego piśmiennictwa według Grinspona i wsp. [97]. Do pomiarów stężeń AMH we krwi zastosowano przelicznik stężeń: 1 ng/ml = 7,14 pmol/l. Ocenę stężenia estradiolu, testosteronu, LH i FSH w surowicy krwi wykonano metodą ECLIA (firma ROCHE).

Badanie to było prowadzone w ramach pracy doktorskiej i stanowi część szerszego opublikowanego przez nas już badania [31] oceniającego rozwój somatyczny i płciowy chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy. Tak jak wyjaśniano już wcześniej, w badaniu [31] nie dobierano grupy kontrolnej zdrowych dzieci z kilku powodów. Wyniki badań hormonalnych rutynowo wykonywanych w praktyce klinicznej porównywano do powszechnie obowiązujących zakresów referencyjnych norm dla poszczególnych hormonów, uwzględniając płeć i wiek badanych. Natomiast z uwagi na zbyt duże koszty odczynników badań laboratoryjnych, trudności techniczne i brak dodatkowych funduszy wyniki oznaczeń hormonu antymüllerowskiego odniesiono do zakresu norm z piśmiennictwa zagranicznego [26], ponieważ brakuje opracowanych norm dla oznaczeń tego hormonu w polskiej populacji dzieci i młodzieży.

Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

w Katowicach (Uchwała Nr KNW/0022/KB1/1/1/11 z dnia 18.01.2011r).

Opracowanie statystyczne

Uzyskane informacje zebrano w formie tabelarycznej i poddano analizie statystycznej. Bazę danych przygotowano w arkuszu kalkulacyjnym Excel firmy Microsoft, a następnie opracowano przy pomocy programu MedCalc ver.12.4.0.0.

W obliczeniach statystycznych przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$. W ocenie zgodności posłużono się testem D'Agostino-Pearsona oraz histogramami zmiennych z naniesioną krzywą Gaussa. Homogeniczność wariancji sprawdzono testem Levene'a. Do oceny istotności statystycznej wykorzystano testy nieparametryczne U Manna-Whitneya, ANOVA Rang Kruskala-Wallisa. Stosowano również testy do porównań wielokrotnych i obliczono współczynniki korelacji Rang Spearmana. Dla zmiennych skategoryzowanych wykonano analizę tabel wielodzielnych, obliczono Chi-kwadrat Pearsona i współczynniki korelacji Tau c Kendala.

Wyniki

Charakterystyka badanych

Średni wiek badanych wynosił $15,0 \pm 6,4$ lat (zakres wieku: 4–30 lat). Celem dokładnej analizy danych, uwzględniającej wiek i płeć, pacjentów podzielono na cztery grupy: chłopców, mężczyzn, dziewcząt i kobiet. W grupie chłopców średni wiek wynosił $13,1 \pm 3,1$ lat, w grupie mężczyzn $25,3 \pm 3,9$ lat, zaś w grupie dziewcząt $11,4 \pm 3,6$ lat, w grupie kobiet $21,6 \pm 3,1$ lat. Najlicniejsza była grupa chłopców (39,7% badanych), następnie dziewcząt (23,5%), kobiet (19,1%) i mężczyzn (17,6%).

Na podstawie danych z wywiadu i dokumentacji medycznej zanotowano, że ogółem u 32,4% badanych występowały w przeszłości lub aktualnie objawy przedwczesnego dojrzewania płciowego (*pubertas praecox*).

W grupie chłopców cechy te obserwowano u 33,3%, a wśród mężczyzn u 25% badanych. Natomiast u dziewcząt objawy *pubertas praecox* występowały u 43,7%, a wśród kobiet u 23% badanych. Czterech pacjentów płci męskiej miało przedwczesne dojrzewanie płciowe Gn-RH zależne.

Dziesięć pacjentek, co stanowiło 34,5% badanych dziewcząt i kobiet, miało w przeszłości wykonaną plastykę krocza, a cztery z nich poddano

w okresie pokwitania reoperacji z powodu zwężonego lub zarośniętego wejścia do pochwy.

Wśród badanych dziewcząt z WPN pięć miesiączkowało, natomiast w grupie 13 dorosłych kobiet miesiączki występowały tylko u sześciu pacjentek, co stanowiło 46,2 % badanych w tej grupie. Ogółem u miesiączkujących pacjentek u 66% krwawienia były skąpe i nieregularne.

W badaniu USG wykazano, że objętość jąder u mężczyzn była prawidłowa dla wieku (12–30 ml). Średnia objętość jądra prawego wynosiła $30,5 \pm 28,0$ ml, a lewego: $23,5 \pm 13,3$ ml. W grupie chłopców średnia objętość jądra prawego wynosiła $8,43 \pm 7,6$ ml, a lewego: $8,44 \pm 7,8$ ml.

Wyniki badań hormonalnych

Wyniki średnich stężeń badanych hormonów w surowicy krwi przedstawiono w tabeli I.

Uzyskane średnie wyniki pomiarów stężeń hormonu antymüllerowskiego w surowicy krwi mieściły się w granicach normy i wynosiły odpowiednio: u chłopców $10,8 \pm 10,3$ ng/ml, u mężczyzn $10,2 \pm 8,0$ ng/ml, u dziewcząt $5,98 \pm 7,4$ ng/ml, a u kobiet $5,12 \pm 5,9$ ng/ml (tab. I).

U większości osób płci męskiej stężenia AMH w surowicy krwi były prawidłowe. U sześciu chłopców, co stanowi 15,4% badanych płci męskiej, nie wykryto obecności hormonu antymüllerowskiego. Dwóch z nich miało guz typu TART i obniżone poniżej normy stężenia testosteronu we krwi.

U większości badanych płci żeńskiej wyniki stężeń AMH w surowicy krwi były także prawidłowe. Jednakże u sześciu chorych dziewcząt i kobiet, co stanowi 20,9% badanych płci żeńskiej, wyniki stężeń AMH w surowicy krwi odbiegały od normy, w tym u czterech pacjentek (w wieku 17–29 lat) obserwowano podwyższone wartości stężeń AMH w surowicy krwi, a u dwóch kobiet wartości AMH we krwi były znacznie obniżone poniżej normy.

Średnie stężenia testosteronu w surowicy krwi także były prawidłowe i w grupie chłopców wynosiły $172,46 \pm 141,7$ ng/dl, u mężczyzn $405,2 \pm 119,2$ ng/dl, zaś w grupie dziewcząt $48,5 \pm 46,6$ ng/dl, a u kobiet $72,5 \pm 88,0$ ng/dl (tab. I). Jednakże u 10 pacjentek (w wieku 9–27 lat) stężenia testosteronu były podwyższone, większość z nich nie miesiączkowała.

Średnie stężenia estradiolu u dziewcząt wynosiły $55,54 \pm 46,5$ pg/ml, a u kobiet $69,37 \pm 111,3$ pg/ml i mieściły się w normie (tab. I).

Średnie stężenia LH w surowicy krwi nie odbiegały od normy we wszystkich badanych gru-

Tabela I. Średnie stężenia hormonów w surowicy krwi u badanych chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy
Table I. Mean serum hormones concentrations in examined patients with congenital adrenal hyperplasia

Grupy badanych z WPN	Chłopcy	Mężczyźni	Dziewczynki	Kobiety	Wartość średnia całej grupy
FSH					
(n K: 1,7–13,4 mIU/ml, n M: 2,0–9,2 mIU/ml)	4,1 ±5,1 (0,19–25,7)	4,8 ±2,3 (1,6–9,2)	3,9 ±2,3 (0,4–7,9)	8,6 ±14,4 (0,1–52,0)	5,0 ±7,3 (0,1–52,0)
LH					
(n K: 2,4–12,6 mIU/ml, n M: 1,5–9,0 mIU/ml)	4,08 ±4,8 (0,01–17,0)	4,01 ±2,6 (1,4–8,7)	2,7 ±3,4 (0,1–9,7)	4,6 ±7,0 (0,1–26,3)	3,8 ±4,7 (0,01–26,3)
Testosteron					
(n K: 6,0–86,0 ng/dl, n M: 270–1100 ng/dl)	172,46 ±141,7 (2,55–382,4)	405,2 ±119,2 (233,6–579,0)	48,5 ±46,6 (2,5–115,0)	72,5 ±88,0 (2,56–289,8)	127,0 ±169,8 (0,2–579,0)
Estradiol					
(n: 12,5–166,0 pg/ml)	–	–	55,5 ±46,4 (15,7–164,0)	69,3 ±111,3 (5,0–391,0)	61,6 ±80,3 (5,0–391,0)
AMH					
(n K: 1,0–10,0 ng/ ml, n M: 0,7–240 ng/ml)	10,8 ±10,2 (0,0–30,4)	10,2 ±8,0 (1,18–30,4)	5,9 ±7,4 (0,8–29,7)	5,1 ±5,9 (0,09–14,4)	9,0 ±8,9 (0,0–30,4)

pach i wynosiły u chłopców $4,08 \pm 4,8$ mUI/ml, u mężczyzn $4,01 \pm 2,7$ mUI/ml, u dziewcząt $2,8 \pm 3,4$ mUI/ml, a u kobiet $4,6 \pm 7,0$ mUI/ml. Podobnie było ze średnim stężeniem FSH, które wynosiło w surowicy krwi u chłopców $4,16 \pm 5,2$ mUI/ml, u mężczyzn $4,87 \pm 2,3$ mUI/ml, u dziewcząt $3,9 \pm 2,4$ mUI/ml, a u kobiet $8,7 \pm 14,5$ mUI/ml (tab. I).

Zaobserwowano istotną statystycznie zależność pomiędzy stężeniem hormonu antymüllerowskiego a stężeniem LH ($r = -0,9$; $p < 0,05$) we krwi u kobiet. W pozostałych grupach pacjentów nie stwierdzono znamienych statystycznie zależności pomiędzy stężeniami we krwi analizowanych hormonów (tab. II).

W grupie mężczyzn zaobserwowano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy wiekiem a stężeniami hormonu antymüllerowskiego we krwi ($r = -0,61$; $p < 0,05$) (ryc. 1).

Nie stwierdzono zależności pomiędzy AMH we krwi a objętością jąder i stopniem dojrzałości płciowej zarówno w grupie chłopców, jak i męż-

czyn. Nie stwierdzono także istotnych statystycznie różnic w stężeniach AMH we krwi w obu tych grupach. Jednakże u trzech pacjentów, którzy mieli w przeszłości objawy przedwczesnego dojrzewania płciowego, poziomy AMH we krwi były bardzo niskie.

Omówienie

Hormon antymüllerowski u płci męskiej jest wydzielany przez komórki podporowe Sertoliego kanalików nasiennych, natomiast u płci żeńskiej przez komórki ziarniste jajnika [3,5,32].

Zmiany stężeń AMH zależą od wieku i stadium rozwoju płciowego. Wydzielanie AMH przez komórki Sertoliego jąder jest intensywne przez cały okres dzieciństwa. Maksymalne wydzielanie tego hormonu stwierdza się między 12 a 16 tygodniem życia, a jego poziom wzrasta do 2 roku życia, następnie stężenia AMH obniżają się i pozostają na

Tabela II. Korelacje pomiędzy stężeniami hormonu antymüllerowskiego (AMH) we krwi a stężeniami: testosteronu, estradiolu, LH i FSH we krwi u chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy

Table II. Correlations between serum concentrations of anti-müllerian hormone (AMH) and: testosterone, estradiol, LH, FSH in patients with congenital adrenal hyperplasia

Grupy badanych z WPN	Hormon antymüllerowski	Testosteron (ng/dl)	Estradiol (pg/ml)	LH (IU/ml)	FSH (IU/ml)
Chłopcy	AMH (ng/ml)	r=0,01 p=0,94		r=0,01 p=0,95	r=0,13 p=0,55
Mężczyźni	AMH (pg/ml)	r=0,29 p=0,38		r=0,10 p=0,79	r=-0,03 p=0,93
Dziewczęta	AMH (ng/ml)	r=0,26 p=0,40	r=-0,34 p=0,29	r=0,39 p=0,23	r=0,19 p=0,57
Kobiety	AMH (ng/ml)	r= 0,11 p= 0,89	r= -0,1 p= 0,87	r= -0,9 p<0,05	r=- 0,70 p= 0,19

Ryc. 1. Korelacja pomiędzy wiekiem a stężeniami AMH we krwi badanych mężczyzn

Fig. 1. Correlation between age and serum AMH in examined men

stosunkowo stałym poziomie do okresu pokwitania, kiedy to następuje ponowne stopniowe zmniejszanie się stężeń tego hormonu (najczęściej pomiędzy II a III stadium dojrzewania płciowego według skali Tannera). Jest to spowodowane radykalnymi zmianami w morfologii i funkcji komórek

Sertoliego, zachodzącymi w okresie dojrzewania. Wraz z pokwitaniem dochodzi do wzrostu poziomu testosteronu we krwi, a wraz z nim do nasilenia ekspresji receptorów androgennych na komórkach Sertoliego, w wyniku czego komórki te z niedojrzałej proliferującej postaci produkującej

AMH przekształcają się w dojrzałą nieproliferującą postać, która traci zdolność produkcji tego hormonu. W wyniku tych zmian po okresie dojrzewania i u dorosłych mężczyzn AMH jest niski lub niewykrywalny (stanowi ok. 3–4% poziomu stwierdzanego u noworodków) z powodu tłumionej produkcji AMH przez testosteron, a komórki Sertoliego od tego czasu głównie wspierają proces spermatogenezy. Przejściowy wzrost aktywacji osi podwzgórze-przysadka-gonady i w konsekwencji wysokie stężenie testosteronu w życiu płodowym oraz w pierwszych miesiącach życia, ze względu na niewrażliwość receptorową komórek Sertoliego na androgeny w tym okresie, nie powodują spadku AMH, którego stężenie we krwi pozostaje wysokie [25,26,28].

Nasze badanie wykazało, że stężenie hormonu antymüllerowskiego u większości chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy nie odbiega od normy. Pomiar stężenia hormonu antymüllerowskiego był wykonywany w grupie 35 pacjentów, w tym u 23 chłopców i 12 mężczyzn. U sześciu chłopców w wieku 5–15 lat, w I–III stadium rozwoju płciowego według Tannera, nie wykryto we krwi AMH. Może to świadczyć bądź o uszkodzeniu jąder u dwóch z nich, którzy mieli bardzo niskie stężenia testosteronu we krwi i stwierdzoną obecność TART, bądź o przedwczesnym dojrzewaniu komórek Sertoliego pod wpływem wysokich stężeń androgenów.

Zależność pomiędzy zmianami stężeń hormonu antymüllerowskiego a okresem rozwoju osobniczego oceniali w swoich badaniach Aksgleade i wsp. [28]. Przeanalizowali oni sekrecję hormonu antymüllerowskiego u 1027 zdrowych pacjentów w wieku 0–69 lat, będących w różnych okresach rozwoju płciowego (od okresu niemowlęcego do pełnej dojrzałości). Średnie stężenie AMH we krwi w całej badanej grupie wynosiło 148 pmol/l (20,72 ng/ml). W badanej przez nas grupie chorych średnie wartości stężeń AMH były o połowę niższe i wynosiły dla płci męskiej 10,6 ng/ml, w tym u chłopców 10,8 ng/ml, a u mężczyzn 10,23 ng/ml. Pomimo tego, że średnie wartości stężeń AMH we krwi u tych chorych mieściły się w granicach normy, zauważono zdecydowaną różnicę pomiędzy stężeniami tego hormonu w porównaniu z bardzo dużą grupą zdrowych mężczyzn w cytowanym wyżej artykule, co być może świadczy o toczącym się u pacjentów z WPN powolnym procesie destrukcji tkanki jądrowej.

Cytowani autorzy [28] wykazali, że w okresie dojrzewania stężenia AMH we krwi obniżały się

z wiekiem pacjentów, a wraz ze stopniem awansowania dojrzewania (oceniano powiększanie się jąder) ten spadek był wyraźniejszy. Z kolei poziomy LH, FSH i testosteronu we krwi podwyższały się z wiekiem. Zaobserwowano też, że spadek stężeń hormonu antymüllerowskiego wyprzedzał kliniczne oznaki początku pokwitania. Zanotowano, że w I stadium rozwojowym według skali Tannera (G1) stężenie AMH pozytywnie korelowało ze stężeniem LH we krwi, natomiast nie obserwowano korelacji z FSH i testosteronem. W stadium G2 i G3 występowała ujemna znamienna korelacja pomiędzy stężeniem AMH we krwi a LH, FSH i testosteronem, z tym że w stadium G3 korelacja ze stężeniem LH we krwi była na granicy znamienności statystycznej. W stadium rozwojowym G4 i G5 ponownie nie obserwowano korelacji pomiędzy stężeniem AMH a ocenianymi wyżej hormonami we krwi [28].

W naszym badaniu także wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniami hormonu antymüllerowskiego a wiekiem w grupie mężczyzn, natomiast nie stwierdzono zależności pomiędzy AMH a objętością jąder i stopniem dojrzałości płciowej zarówno w grupie chłopców, jak i mężczyzn. Nie stwierdzono także korelacji pomiędzy stężeniem AMH a stężeniem testosteronu, LH i FSH we krwi, co być może wynikało ze zbyt małej liczbie grupy pacjentów.

U pacjentów z wrodzonym przerostem nadnerczy, zwłaszcza ze słabą kontrolą hormonalną, obserwuje się przyspieszenie tłumienia produkcji AMH przez testosteron. Wysokie stężenia testosteronu mogą stymulować receptory androgenne i wywoływać przedwczesne dojrzewanie niedojrzałych komórek Sertoliego, w wyniku czego dochodzi do obniżenia stężenia AMH w surowicy krwi [25].

U badanych przez nas chorych nie stwierdziliśmy znamiennych statycznie korelacji pomiędzy stężeniami hormonu antymüllerowskiego a stężeniem testosteronu we krwi we wszystkich badanych grupach chorych. Jednakże u jednego dorosłego pacjenta zanotowano bardzo niski poziom AMH przy wysokim poziomie testosteronu i obecności TART.

Podobne wyniki w swoich badaniach w grupie chłopców z WPN przedstawili Martinez-Aguayo i wsp. [25], stwierdzając najniższe wartości stężenia AMH we krwi u pacjenta z najwyższym podstawowym stężeniem testosteronu i z obustronnymi guzami jąder, co mogło świadczyć o zbyt słabym przestrzeganiu prawidłowego leczenia.

Negatywną korelację pomiędzy stężeniem testosteronu a AMH w surowicy krwi obserwuje się także w GnRH- zależnym i GnRH - niezależnym przedwczesnym dojrzewaniu płciowym. To zdaje się potwierdzać, że androgeny mogą być odpowiedzialne za obniżenie stężenia AMH we krwi niezależnie od wieku i poziomu gonadotropin, a ujemny efekt wpływu androgenów przeważa nad dodatnim efektem działania FSH w okresie dojrzewania [26]. Podobne spostrzeżenia podali Aksglaede i wsp. [28], wskazując, że u chłopców z przedwczesnym dojrzewaniem płciowym stężenia AMH we krwi były niższe w porównaniu do zdrowych chłopców w tym samym wieku.

W naszym badaniu porównaliśmy średnie stężenia hormonu antymüllerowskiego we krwi u pacjentów z objawami i bez objawów przedwczesnego dojrzewania płciowego. Nie zaobserwowaliśmy istotnych różnic w stężeniach AMH we krwi w grupach chłopców i mężczyzn, natomiast aż u trzech pacjentów z objawami przedwczesnego dojrzewania płciowego w wywiadzie poziomy AMH we krwi były bardzo niskie.

Inni autorzy [25] zaobserwowali istotnie niższe wartości stężeń AMH we krwi u pacjentów z guzami typu TART w jądrach w porównaniu do pacjentów bez tych zmian.

W niniejszej pracy nie wykazaliśmy istotnych korelacji pomiędzy stężeniami AMH we krwi a obecnością guzów typu TART w jądrach u chłopców i mężczyzn. Nie stwierdziliśmy także istotnych różnic w poziomach AMH w surowicy krwi w grupach z guzami TART i bez TART. Jednakże u dwóch pacjentów z obustronnym guzem TART nie wykryto obecności AMH, a u kolejnych sześciu wartości stężeń AMH były bardzo niskie.

U kobiet AMH jest produkowany przez komórki ziarniste pęcherzyków pierwotnych, preantralnych i małych antralnych. Obecność tego hormonu u płodów żeńskich stwierdza się od ok. 36 tygodnia ciąży. W okresie płodowo-noworodkowym występuje wzmożona synteza AMH. Jego poziom we krwi wzrasta do 3 miesiąca życia u dziewcząt, po czym zmniejsza się i utrzymuje się na stałym niskim poziomie do okresu pokwitania, kiedy to ponownie wzrasta. Po 25 roku życia następuje ponowny spadek AMH do bardzo niskich bądź niewykrywalnych wartości w okresie pomenopauzalnym. Stężenia AMH w surowicy kobiet korelują z liczbą pęcherzyków antralnych [4,5].

U większości naszych chorych z WPN dziewcząt i kobiet stężenia AMH we krwi były prawidłowe. Jednakże aż 20% badanych miało wyniki

odbiegające od normy. U czterech pacjentek zaobserwowano podwyższone wartości stężeń AMH we krwi, a u dwóch kobiet wartości AMH we krwi były znacznie obniżone.

Badania prowadzone w ciągu ostatnich lat wykazują, że w przypadku zespołu policystycznych jajników u kobiet stwierdza się podwyższone stężenia AMH we krwi. Na przykład jedni z autorów [6] na podstawie dużego przekrojowego badania 117 kobiet w wieku 20–40 lat konstruując krzywe ROC ustalili, że stężenie AMH w surowicy krwi powyżej 3,15 ng/ml stanowi punkt odcięcia pozwalający na postawienie diagnozy PCOS przy 70,37% czułości i 77,36% specyficzności. Inni autorzy uważają, że poziom AMH powyżej 7,7 ng/ml [33] jest charakterystyczny dla kobiet z PCOS. Jeszcze inni autorzy twierdzą na podstawie własnych badań [34], że poziom odcięcia AMH we krwi dla diagnozy tego zespołu wynosi 3,5 ng/ml.

Oncul i wsp. [35] badali, czy na podstawie wyników oznaczeń AMH we krwi można zróżnicować zespół policystycznych jajników z późno ujawniającą się formą wrodzonego przerostu nadnerczy (*late onset form congenital adrenal hyperplasia*, LOCAH). Wyniki ich badań wykazały, że poziom AMH w surowicy krwi nie pozwala na odróżnienie LOCAH od zróżnicowanych form PCOS, ale może być przydatny w przypadku PCOS, gdy są spełnione wszystkie trzy kryteria rozpoznania tego zespołu, tj. zmiany morfologiczne w jajnikach, *oligomenorrhea* i hiperandrogenizm. Nadal więc test stymulacji z ACTH pozostaje kluczowy w ustalaniu diagnozy późno ujawniającej się postaci WPN. U badanych przez nich 25 kobiet z LOCAH średnie stężenia AMH w surowicy krwi wynosiły $4,43 \pm 1,29$ ng/ml, zaś u 105 kobiet z PCOS spełniających wszystkie trzy kryteria diagnostyczne średnie stężenie AMH we krwi było znacznie wyższe i wynosiło $8,12 \pm 1,82$ ng/ml ($p < 0,001$).

U badanych przez nas chorych z WPN średnie stężenia AMH we krwi wynosiły u dziewcząt 5,1 ng/ml, a u kobiet 5,9 ng/ml. U tych, u których wartości tego hormonu we krwi były znacznie wyższe, można przypuszczać, że rozwija się zespół PCOS, który jest jednym z częstszych powikłań tej choroby.

Z kolei dwie kobiety badane przez nas, u których stężenia AMH we krwi były znacznie obniżone w stosunku do normy, najpewniej miały obniżoną rezerwę jajnikową. Uważa się bowiem, że hormon antymüllerowski jest czułym markerem stanu rezerwy jajnikowej [1,3]. Według niektórych autorów [5] AMH ma przewagę nad inhibiną B

i FSH w ocenie rezerwy jajnikowej, gdyż nie obserwuje się zależności jego stężeń od fazy cyklu miesięcznego. Według nich zmiany jego wartości jako wskaźnika utraty zdolności reprodukcyjnej występują wcześniej w porównaniu z inhibiną B i FSH [5]. Jednakże inni autorzy [36], badając stężenia AMH w surowicy krwi u 45 zdrowych prawidłowo miesiączkujących kobiet w różnych fazach cyklu miesięczkowego, stwierdzili, że stężenie AMH we krwi wzrastało w fazie folikularnej, głównie u kobiet w wieku ok. 30 lat.

Wnioski

Stężenia hormonu antymüllerowskiego we krwi u większości chorych mężczyzn i kobiet z wrodzonym przerostem nadnerczy są prawidłowe.

Nieobecność hormonu antymüllerowskiego we krwi u chłopców z wrodzonym przerostem nadnerczy może świadczyć o uszkodzeniu jąder. Obserwowane nieprawidłowe (podwyższone lub zawyżone) wartości stężeń hormonu antymüllerowskiego we krwi u dziewcząt i kobiet z wrodzonym przerostem nadnerczy mogą wskazywać na zwiększone ryzyko zaburzeń płodności.

Nie stwierdza się istotnych zależności pomiędzy stężeniem AMH a stężeniami hormonów płciowych we krwi u chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy. Jedynie u kobiet występuje ujemna zależność pomiędzy stężeniem AMH a LH we krwi.

Piśmiennictwo / References

1. Jamil Z., Fatima S., Ahmed K. et al.: Anti-Müllerian Hormone: Above and beyond conventional ovarian reserve markers. *Dis. Markers*, 2016: 105246217. Doi:10.1155/2016/5246217.
2. Rymkiewicz-Kluczyńska B., Kucharska A.: Zaburzenia hormonalne w wieku rozwojowym. W: Kubicka K., Kawalec W., red. *Pediatrica. PZWL*; Warszawa 2006, t. II: 528-530, 537-539, 547-551.
3. Podfigurna-Stopa A.: Ocena stężeń kortykoliberyny, kisspeptyny oraz inhibiny B i inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jądłowstrętym psychicznym. *Rozprawa doktorska. Poznańska Akademia Medyczna*. Poznań 2011.
4. Wallach J.: Choroby układu wewnątrzwydzielniczego. W: Franek E., Kokot F., Pietruszczuk M. red. *nauk. wyd. pol. Interpretacja badań laboratoryjnych. Medipage*, Warszawa 2011, 902-903.
5. Marszałek A., Kalota H., Grabasa R. et al.: Diagnostyka laboratoryjna. *Hormon anty-Müllerowski*. *J. Lab. Diagn.*, 2011:47(2), 223-225.
6. Zadehmodares S., Heidar Z., Razzaghi Z. et al.: Anti-mullerian hormone level and polycystic ovarian syndrome diagnosis. *Iran. J. Reprod. Med.*, 2015:13(4), 227-230.
7. Krysiak R., Okopień B., Herman S.H.: Wrodzony przerost nadnerczy na tle niedoboru 21-hydroksylazy steroidowej. *Pol. Merk. Lek.*, 2006:20, 236-241.
8. Forest M.: Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hum. Reprod. Update*, 2004:10(6), 469-485.
9. White P., Speiser Ph.: Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr. Rev.*, 2000:21(3), 245-291.
10. Stikkelbroeck N., Hermus R., Braat D. et al.: Fertility in women with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Obstet. Gynecol. Surv.*, 2003:58(4), 275-283.
11. Merke D.: Approach to the adult with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008:93(3), 653-660.
12. Hagenfeldt K.: Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency – the adult women. *Growth. Horm. IGF Res.*, 2004:14, 67-71.
13. Meyer-Bahlburg H.: What causes low rates of child-bearing in congenital adrenal hyperplasia? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999:84(6), 1844-1847.
14. Ambroziak U., Bednarczyk T., Ginalska-Malinowska M. et al.: Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency – management in adults. *Endokrynol. Pol.*, 2010:61(1), 142-155.
15. Arit W., Krone N.: Adult consequences of congenital adrenal hyperplasia. *Horm. Res.*, 2007:68(5), 158-164.
16. Witchel S.F.: Management of CAH during pregnancy: optimizing outcomes. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes.*, 2012:19: 489-496.
17. Speiser Ph., Azziz R., Baskin L. et al.: Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010:95(9), 4133-4160.
18. Conway G.: Congenital adrenal hyperplasia: adolescence and transition. *Horm. Res.*, 2007:68(5), 155-157.
19. Ogilvie C., Croucht N., Rumsby G. et al.: Congenital adrenal hyperplasia in adults: a review of medical, surgical and psychological issues. *Clin. Endocrinol.*, 2006:64: 2-11.
20. Mouritsen A., Juul A., Jorgensen N.: Improvement of semen quality in an infertile man with 21-hydroxylase deficiency, suppressed serum gonadotropins and testicular adrenal rest tumors. *Int. J. Androl.*, 2010:33, 518-520.
21. Auchus R.: Congenital adrenal hyperplasia in adults. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes.*, 2010:17, 210-216.
22. Murphy H., George C., de Kretser D. et al.: Successful treatment with ICSI of infertility caused by azoospermia associated with adrenal rest in the testes. *Hum. Reprod.*, 2001:16(2), 263-267.
23. Kruś S.: Gonady. Podłoże morfologiczne objawów chorób układu

- plciowego męskiego. W: Kruś S., Skrzypek-Fakhoury E., red. Patomorfologia kliniczna. PZWL, Warszawa 1996, 644-648, 700-706.
24. Nermoen I., Husebye E., Svartberg J. et al.: Subjective health status in men and women with congenital adrenal hyperplasia: a population-based survey in Norway. *Eur. J. Endocrinol.*, 2010;163, 453-459.
 25. Martinez-Aguayo A., Rocha A., Rojas N. et al.: Testicular adrenal Rest tumors and Leydig and Sertoli cell function in boys with classical congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007;92(12), 4583-4589.
 26. Grinspon R., Rey R.: Anti-müllerian hormone and Sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm. Res. Paediatr.*, 2010;73, 81-92.
 27. Rey R., Belville C., Nihoul-Fekete C. et al.: Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999;84(2), 627-631.
 28. Aksglaede L., Sorensen K., Boas M. et al.: Changes in anti-müllerian hormone (AMH) throughout the life span: a population-based study of 1027 healthy males from birth (cord blood) to the age of 69 years. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010;95 (12), 5357-5364.
 29. Claahsen-van der Grinten H., Otten B., Stikkelbroeck M. et al.: Testicular adrenal rest tumors in congenital adrenal hyperplasia. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009;23, 209-220.
 30. Reisch N., Flade L., Scherr M. et al.: High prevalence of reduced fecundity in men with congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009;94(5), 1665-1670.
 31. Ziara K., Borawska-Dziadek E., Oświęcimska J. et al.: Analiza stanu somatycznego i rozwoju płciowego chorych z wrodzonym przerostem nadnerczy oraz określenie częstości występowania u nich guzów typu *testicular rest tumor* oraz *ovarian rest tumor*. *Endokrynol. Ped.*, 2015;14, 19-36.
 32. Stevens A., Lowe J.: Układ reprodukcyjny męski. W: Stevens A., Lowe J., red. *Histologia*. Wydawnictwo Medyczne Słotwiński Verlag, Brema 1994, 304-321.
 33. Azziz R., Carmina E., Dewailly D. et al.: Position statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006;91, 4237-4245.
 34. Chao K.C., Ho C.H., Shyong W.Y. et al.: Anti mullerian hormone serum level as a predictive marker of ovarian function in Taiwanese women. *J. Clin. Med. Assoc.*, 2010;75, 70-74.
 35. Oncul M., Sahmay S., Tuten A. et al.: May AMH levels distinguish LOCAH from PCOS among hirsute women? *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2014;178, 183-187.
 36. Lambert-Messerlian G., Plante B., Eklund E.E. et al.: Levels of antimüllerian hormone in serum during the normal menstrual cycle. *Fertil. Steril.*, 2016;105(1), 208-213.