

Hormona Anti-Mülleriana. Novo marcador de reserva ovárica?

Anti-Müllerian Hormone. A new ovarian reserve marker?

Selma B. Souto^{1,2}, Sónia Sousa³, Sandra Soares³, Ana Margarida Póvoa³, Lucinda Calejo³, Pedro Xavier³, Daniel Carvalho-Braga^{1,2}, Davide Carvalho^{1,2}

¹ Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar São João, E.P.E.

² Faculdade de Medicina, Universidade do Porto

³ Unidade de Medicina da Reprodução, Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Centro Hospitalar São João, E.P.E.

Correspondência: Selma B. Souto › Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo › Centro Hospitalar de São João, Alameda Professor Hernâni Monteiro › 4200-319 PORTO › sbsouto.md@gmail.com

RESUMO

A hormona anti-Mülleriana (HAM) é uma glicoproteína dimérica, produzida exclusivamente nas gónadas e envolvida na regulação do crescimento e desenvolvimento folicular. No ovário, é produzida pelas células da camada granulosa dos folículos primários e parece ser capaz de inibir o início do crescimento dos folículos primordiais e o crescimento dos folículos dependentes da FSH. O seu nível sérico representa a quantidade e a qualidade da reserva ovárica. Comparativamente com os outros testes de reserva ovárica, parece ser o melhor marcador que reflecte o declínio da idade reprodutiva. Pode ser útil para prever a resposta ovárica e possivelmente o prognóstico dos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). A HAM parece ser igualmente um bom marcador na síndrome de ovário poliquístico (SOP). Tem sido ainda usada como marcador nos tumores das células da granulosa. A compreensão clara do papel da HAM na fisiologia ovárica pode ajudar na descoberta da sua importância no âmbito da medicina reprodutiva.

PALAVRAS-CHAVE

Hormona anti-Mulleriana; reserva ovárica.

ABSTRACT

Anti-Müllerian hormone is a dimeric glycoprotein, exclusively produced in the gonads and involved in the regulation of follicular growth and development. In the ovary AHM is produced by granulosa cells of early developing follicles and seems to be able to inhibit the initiation of primordial follicle growth and FSH-induced follicle growth. Serum levels of AMH may represent both the quantity and quality of the ovarian follicle pool. Compared to other ovarian tests, AMH seems to be best marker reflecting the decline of reproductive age. It could also be used to predict the ovarian response and possibly the prognosis of in vitro fertilization cycles. AHM has been shown to be a good surrogate marker for polycystic ovary syndrome. Finally, its use as a marker for granulosa cell tumours has been proposed. A clearer understanding of its role in ovarian physiology may help clinicians to find a role for AMH measurement in the field of reproductive medicine.

KEYWORDS

Anti-Müllerian hormone; Ovarian reserve.

INTRODUÇÃO

Perante o adiamento da maternidade pela mulher contemporânea e o cada vez mais frequente recurso a técnicas de procriação medicamente assistida (PMA), a avaliação da reserva ovárica funcional surge como uma tentativa de melhor aconselhar os casais e nortear os protocolos de estimulação ovárica.

A avaliação da reserva ovárica pode ser efetuada através de doseamentos hormonais, na fase folicular do ciclo menstrual, nomeadamente da FSH, da inibina B e do estradiol, e pela contagem dos folículos antrais (CFA) e avaliação do volume dos ovários por ecografia endovaginal¹.

Desde a década de 80 que o doseamento da FSH na fase folicular é usado como um marcador da reserva ovárica¹. A persistência elevada de níveis de FSH sugere diminuição da reserva ovárica. Porém, algumas mulheres apresentam elevações transitórias da FSH que não estão relacionadas com a reserva dos folículos primordiais². O facto de a FSH apresentar uma secreção pulsátil e com ritmo circadiano, em associação com a presença de flutuações das isoformas da FSH, pode causar variações no seu doseamento laboratorial.

Relativamente ao doseamento do estradiol na fase folicular do ciclo menstrual, a presença de níveis séricos muito elevados, superiores a 75 pg/mL tem sido associada a fraca resposta nas técnicas de FIV.³

No que respeita à inibina B, a presença de níveis séricos inferiores a 45 pg/mL está associada a má resposta à estimulação com gonadotrofinas, a um número elevado de ciclos de FIV cancelados e a obtenção de um número reduzido de ovócitos⁴. O seu nível sérico varia durante o ciclo menstrual, diminui com a idade e na falência ovárica prematura (FOP).

Em relação aos marcadores ecográficos de reserva ovárica (i.e. o volume ovárico e a CFA), têm a vantagem de serem métodos não invasivos, porém muito dependentes da

experiência do observador^{5,6}. O número de folículos antrais e o volume ovárico diminuem com a idade⁷.

Neste artigo, os autores discutem os avanços mais recentes do papel da HAM como marcador da reserva e de disfunção ovárica.

HORMONA ANTI-MÜLLERIANA

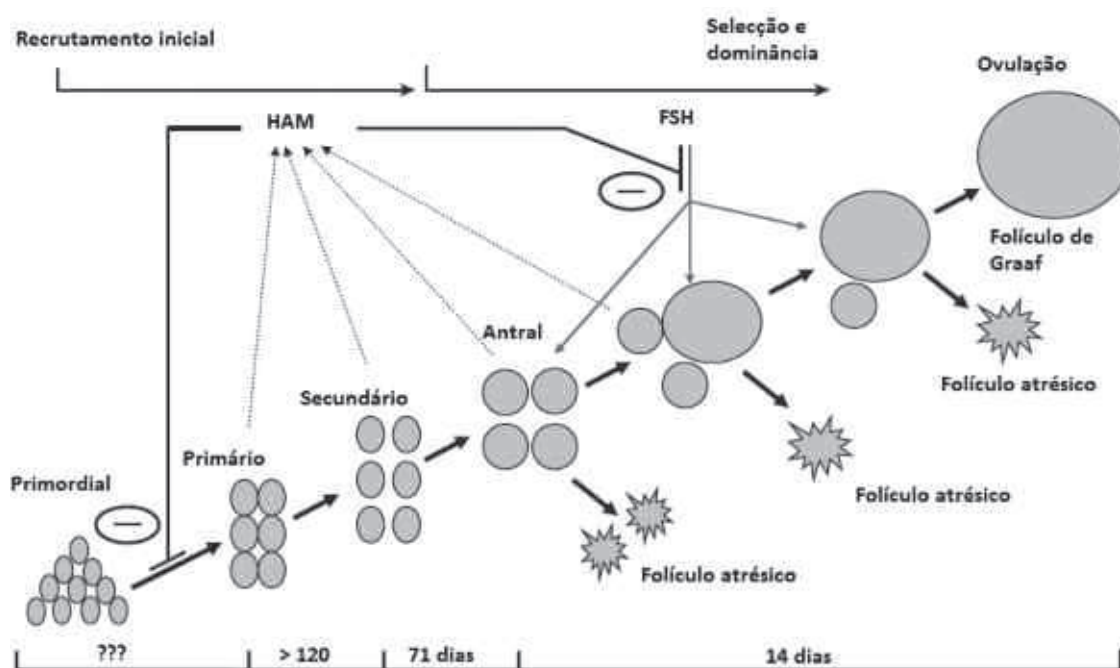
A HAM, também designada de substância inibidora anti-Mülleriana, é uma glicoproteína dimérica com peso molecular de 140 kDa e membro da família do TGFb (*transforming growth factor b*)⁸. O gene que a codifica localiza-se no cromossoma 19p13.3.⁹.

O seu papel na diferenciação sexual está amplamente estudado^{10,11}. No sexo masculino, a hormona é produzida pelas células de *Sertoli* durante a diferenciação testicular induzindo a regressão dos ductos de *Müller*, permitindo que os ductos de *Wolf* formem o epidídimo, os canais deferentes e as vesículas seminais¹⁰. No feto do sexo feminino a HAM pode ser detectada às 36 semanas de gestação¹¹, e a sua ausência nos estádios iniciais do desenvolvimento fetal, permite o desenvolvimento de útero, das trompas de Falópio e dos dois terços superiores da vagina a partir dos ductos de *Müller*¹².

Estão comercializados dois imunoenaios para doseamento da HAM, o *Beckmann Coulter ELISA* e o *DSL ELISA*, com limites de detecção de 0,1 e 0,017 ng/mL (1 ng/mL = 7,14 pmol/L), respetivamente¹³. Os resultados obtidos com estes dois imunoenaios nem sempre são concordantes, sendo os resultados do *Beckmann Coulter* cerca de 3 a 4 vezes mais elevados que os doseamentos do *DSL*.

PAPEL NA FOLÍCULOGENESE

A partir da puberdade, um pequeno grupo de folículos primordiais inicia diaria-

FIGURA 1: Função intra-ovárica da hormona anti-Mülleriana. Adaptado de Broer e colaboradores¹⁴.

HAM – hormona anti-Mulleriana; FSH – follicle-stimulating hormone.

mente o processo de recrutamento e maturação folicular, levando ao crescimento de folículos antrais para posterior seleção do folículo dominante (folículo de *Graaf*) destinado à ovulação (Figura 1)¹⁴.

A HAM está ausente nos folículos primordiais sendo apenas detectável nas células da granulosa dos folículos primários após o início da maturação folicular¹⁴. A sua expressão é máxima nas células da granulosa dos folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais, até 6 mm de diâmetro. Alguns estudos demonstraram que nos estádios de folículos antrais maiores (≥ 7 mm de diâmetro), quando o crescimento folicular é FSH dependente, a expressão da HAM torna-se indetetável^{15,16}. Também não é detetada nos folículos atrésicos e nas células da camada teca¹⁷.

O padrão de expressão da HAM, dos folículos antrais primários até ao estádio de folículos antrais dependentes da FSH, suporta os achados de que a HAM tem um papel inibitório em duas fases da foliculogénese (figura 1). A primeira fase, corresponde à transição de folículos primordiais para o início da maturação folicular, regulando desta forma o número de folículos que per-

manece no estádio primordial¹⁸ e a segunda fase, diz respeito ao efeito inibitório da sensibilidade folicular à FSH, regulando o processo de selecção folicular.

UTILIDADE CLÍNICA

Dado que a HAM está relacionada com o recrutamento inicial de folículos levando ao desenvolvimento dos folículos primários e do folículo dominante, o seu nível sérico pode fornecer informações importantes nos casos de anomalias da função ovárica (p.e. FOP, SOP). A alteração no seu nível sérico antecede as alterações dos outros marcadores de reserva ovárica como a inibina B e o estradiol¹⁹.

Na mulher, o nível sérico de HAM é máximo na puberdade, diminuindo posteriormente de forma progressiva até à menopausa, tornando-se indetetável²⁰⁻²². Níveis séricos inferiores a 0,086 $\mu\text{g/L}$ (Diagnostic Systems Laboratories) sugerem menopausa²¹. Alguns estudos demonstraram que o nível sérico de HAM é independente da fase do ciclo menstrual²³⁻²⁵, podendo no entanto ocorrer ligeiras variações, especialmente

nas mulheres com valores muito elevados de HAM²⁶. O seu doseamento não é influenciado pela contracepção hormonal²⁷, pelos agonistas GnRH²⁸ e pela gravidez²⁹.

Alguns estudos efectuados em mulheres com SOP revelaram utilidade no doseamento da HAM. Na SOP, a morfologia ovárica poliquística é bem caracterizada pelo aumento do número de pequenos folículos antrais, revelando um recrutamento folicular inicial elevado, porém com maturação atrasada apesar de concentrações normais de FSH¹³. Vários estudos demonstraram que a HAM é 2 a 3 vezes mais elevada no SOP^{30,31}, o que representa um aumento da produção de HAM pelos folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais. Além disso, os níveis de HAM estão associados ao número de folículos avaliados por ecografia transvaginal. Estes dados sugerem que o doseamento de HAM nas mulheres com hiperandrogenismo e/ou oligo-anovulação pode indicar a presença de SOP quando a ecografia não está disponível³². Foi ainda sugerido que o grau de elevação da HAM nas obesas com SOP, seria um marcador da probabilidade de normalização do ciclo menstrual após perda de peso³³. Outro estudo demonstrou a diminuição da HAM e da CFA em mulheres com SOP medicadas com metformina³⁴.

Também foram observados níveis elevados de HAM na fase pré-púbere das filhas de mulheres com SOP e nas adolescentes com SOP com ciclos menstruais regulares, o que indica que as alterações do desenvolvimento folicular já estão presentes durante a infância antes da instalação de um fenótipo clínico de disfunção ovárica³⁵. Outros estudos demonstram que a diminuição dos níveis de HAM ao longo dos anos é menos pronunciada nas mulheres com SOP, sugerindo que a falência ovárica e a menopausa ocorrem mais tarde nestas mulheres³⁴.

O doseamento da HAM também tem revelado utilidade na avaliação da reserva ovárica das mulheres submetidas a quimio-

terapia e a radioterapia³⁶. Nestes casos, a reserva ovárica diminui, o que é demonstrado pela elevação da FSH e redução da HAM³⁷, mesmo antes de ocorrerem alterações nos níveis de inibina B e de estradiol³⁸.

Outro estudo sugeriu que a HAM possa ser usada como um marcador tumoral nos casos de tumores da camada granulosa (TCG)³⁹, pelo facto de ser expressa apenas nas células da camada granulosa do ovário. Foi demonstrada elevação do nível sérico da HAM nas mulheres com TCG em 76 a 93% dos casos.

Alguns estudos efectuados na avaliação de mulheres com amenorreia revelaram utilidade clínica no doseamento de HAM. Verifica-se que nas mulheres com hipogonadismo hipogonadotrófico, por amenorreia hipotalâmica funcional, os níveis de HAM são normais, revelando normal recrutamento folicular⁴⁰. Nos casos de hipogonadismo hipergonadotrófico, por FOP, a HAM é indetectável em 83% das mulheres, e tem um nível sérico muito baixo em 17% dos casos.

A HAM pode ainda ser útil na avaliação da reserva ovárica nas mulheres que vão efectuar técnicas de PMA. Nos dias de hoje, com o aumento da média de idade da primeira gravidez, torna-se útil um teste que avalie a "fertilidade feminina potencial". Vários estudos demonstraram uma correlação fortemente positiva entre a CFA e o tamanho dos folículos primordiais com o nível sérico de HAM^{1,41-43}. Outros investigadores demonstraram uma forte correlação entre o nível de HAM e o número de ovócitos obtidos^{6,44,45}. Um estudo retrospectivo com 109 mulheres submetidas a FIV demonstrou que níveis séricos de HAM < 1,1 ng/mL estavam associados a insucesso da FIV⁴⁶, sendo que estes dados foram confirmados num outro estudo, prospectivo, com 238 mulheres⁴⁷.

Alguns dados sugerem ainda que a HAM possa ser utilizada, antes do início da estimulação ovárica, como um meio predi-

tivo do risco de síndrome de hiperestimulação ovárica e desta forma permitir nortear os protocolos de estimulação ovárica^{48, 49}.

No futuro, com os avanços na área da biotecnologia e a possibilidade do desenvolvimento de HAM exógena, torna-se promissor a sua aplicação na medicina reprodutiva. A administração de doses supra-fisiológicas de HAM recombinante, poderia suspender o recrutamento folicular inicial, criando uma forma de contraceção alternativa, adiando o envelhecimento ovárico e a menopausa¹³.

CONCLUSÕES

Na literatura científica, encontram-se disponíveis várias publicações contribuindo para uma melhor compreensão do papel da HAM na função do ovário. A sua independência da fase do ciclo menstrual, a relação com a CFA e com a idade reprodutiva da mulher faz desta hormona um excelente marcador de avaliação da reserva ovárica funcional. O seu doseamento pode ser útil na prevenção da síndrome de hiperestimulação ovárica nas técnicas de PMA. À semelhança de outros testes de reserva ovárica, tais como a CFA e a FSH, a HAM não é um bom preditor de gravidez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Domingues, T.S., A.M. Rocha, and P.C. Serafini, *Tests for ovarian reserve: reliability and utility*. *Curr Opin Obstet Gynecol*. **22**(4): p. 271-6.
- de Koning, C.H., et al., *The endocrine and follicular growth dynamics throughout the menstrual cycle in women with consistently or variably elevated early follicular phase FSH compared with controls*. *Hum Reprod*, 2008. **23**(6): p. 1416-23.
- Roberts, J.E., et al., *Taking a basal follicle-stimulating hormone history is essential before initiating in vitro fertilization*. *Fertil Steril*, 2005. **83**(1): p. 37-41.
- Seifer, D.B., et al., *Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome*. *Fertil Steril*, 1997. **67**(1): p. 110-4.
- Kwee, J., et al., *Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization*. *Reprod Biol Endocrinol*, 2007. **5**: p. 9.
- Jayaprakasan, K., et al., *A prospective, comparative analysis of anti-Mullerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation*. *Fertil Steril*. **93**(3): p. 855-64.
- Hendriks, D.J., et al., *Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count*. *Fertil Steril*, 2007. **87**(4): p. 764-75.
- Cate, R.L., et al., *Isolation of the bovine and human genes for Mullerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells*. *Cell*, 1986. **45**(5): p. 685-98.
- Cohen-Haguenauer, O., et al., *Mapping of the gene for anti-mullerian hormone to the short arm of human chromosome 19*. *Cytogenet Cell Genet*, 1987. **44**(1): p. 2-6.
- Josso, N., et al., *Anti-mullerian hormone: the Jost factor*. *Recent Prog Horm Res*, 1993. **48**: p. 1-59.
- Rajpert-De Meyts, E., et al., *Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. **84**(10): p. 3836-44.
- Lee, M.M. and P.K. Donahoe, *Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions*. *Endocr Rev*, 1993. **14**(2): p. 152-64.
- Broekmans, F.J., et al., *Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction*. *Trends Endocrinol Metab*, 2008. **19**(9): p. 340-7.
- Broer, S.L., et al., *The role of anti-Mullerian hormone assessment in assisted reproductive technology outcome*. *Curr Opin Obstet Gynecol*. **22**(3): p. 193-201.
- Durlinger, A.L., J.A. Visser, and A.P. Themmen, *Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone*. *Reproduction*, 2002. **124**(5): p. 601-9.
- Durlinger, A.L., et al., *Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary*. *Endocrinology*, 2001. **142**(11): p. 4891-9.

17. Ueno, S., et al., *Mullerian inhibiting substance in the adult rat ovary during various stages of the estrous cycle*. *Endocrinology*, 1989. **125**(2): p. 1060-6.
18. Visser, J.A. and A.P. Themmen, *Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis*. *Mol Cell Endocrinol*, 2005. **234**(1-2): p. 81-6.
19. Hale, G.E., et al., *Endocrine features of menstrual cycles in middle and late reproductive age and the menopausal transition classified according to the Staging of Reproductive Aging Workshop (STRAW) staging system*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(8): p. 3060-7.
20. Sowers, M.R., et al., *Anti-mullerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(9): p. 3478-83.
21. van Disseldorp, J., et al., *Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(6): p. 2129-34.
22. van Rooij, I.A., et al., *Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition*. *Menopause*, 2004. **11**(6 Pt 1): p. 601-6.
23. Hehenkamp, W.J., et al., *Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. **91**(10): p. 4057-63.
24. Tsepelidis, S., et al., *Stable serum levels of anti-Mullerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(7): p. 1837-40.
25. La Marca, A., et al., *Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(12): p. 3103-7.
26. Sowers, M., et al., *Anti-Mullerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles*. *Fertil Steril*. **94**(4): p. 1482-6.
27. Arbo, E., et al., *Serum anti-mullerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(12): p. 3192-6.
28. Mohamed, K.A., W.A. Davies, and H. Lashen, *Antimullerian hormone and pituitary gland activity after prolonged down-regulation with goserelin acetate*. *Fertil Steril*, 2006. **86**(5): p. 1515-7.
29. La Marca, A., et al., *Anti-Mullerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy*. *Hum Reprod*, 2005. **20**(6): p. 1569-72.
30. Pigny, P., et al., *Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. **88**(12): p. 5957-62.
31. Laven, J.S., et al., *Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(1): p. 318-23.
32. Pigny, P., et al., *Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. **91**(3): p. 941-5.
33. Moran, L.J., et al., *The use of anti-mullerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(10): p. 3796-802.
34. Piltonen, T., et al., *Serum anti-Mullerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome*. *Hum Reprod*, 2005. **20**(7): p. 1820-6.
35. Sir-Petermann, T., et al., *Early metabolic derangements in daughters of women with polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(12): p. 4637-42.
36. Lutchman Singh, K., et al., *Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer*. *Br J Cancer*, 2007. **96**(12): p. 1808-16.
37. Bath, L.E., et al., *Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Mullerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound*. *Hum Reprod*, 2003. **18**(11): p. 2368-74.
38. Anderson, R.A., et al., *The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(10): p. 2583-92.
39. La Marca, A. and A. Volpe, *Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool?* *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2006. **64**(6): p. 603-10.
40. La Marca, A., et al., *Serum anti-mullerian hormone levels in women with secondary amenorrhea*. *Fertil Steril*, 2006. **85**(5): p. 1547-9.
41. van Disseldorp, J., et al., *Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts*. *Hum Reprod*. **25**(1): p. 221-7.

42. van Rooij, I.A., et al., *Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve*. Hum Reprod, 2002. **17**(12): p. 3065-71.
43. de Vet, A., et al., *Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging*. Fertil Steril, 2002. **77**(2): p. 357-62.
44. Nelson, S.M., R.W. Yates, and R. Fleming, *Serum anti-Mullerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles--implications for individualization of therapy*. Hum Reprod, 2007. **22**(9): p. 2414-21.
45. Wunder, D.M., et al., *Anti-Mullerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril, 2008. **90**(6): p. 2203-10.
46. Hazout, A., et al., *Serum antimullerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol*. Fertil Steril, 2004. **82**(5): p. 1323-9.
47. Tremellen, K.P., et al., *Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve*. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2005. **45**(1): p. 20-4.
48. Lee, T.H., et al., *Serum anti-Mullerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles*. Hum Reprod, 2008. **23**(1): p. 160-7.
49. Nakhuda, G.S., et al., *Elevated serum mullerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization*. Fertil Steril, 2006. **85**(5): p. 1541-3.