

• 临床检验研究论著 •

136 例育龄妇女血清抗苗勒管激素检测分析*

杨小岗¹, 王芳², 武佳敏³, 武保乡³, 武春燕³

(1. 河北省邯郸市第一医院核医学科, 河北邯郸 056002; 2. 河北工程大学医学院护理系, 河北邯郸 056029; 3. 河北省邯郸和平医院不育症科, 河北邯郸 056002)

摘要:目的 探讨月经正常的育龄妇女血清抗苗勒管激素 (AMH) 水平变化。方法 选择 136 例月经正常的育龄期妇女, 按年龄分成 5 组, 于黄体中期测定 AMH 及其他 6 种生殖激素。结果 21~25、26~30、31~35、36~40、41~45 岁组血清 AMH 水平分别为 5.67、4.26、4.62、1.72、0.56 ng/mL, 不同年龄组血清 AMH 水平比较差异有统计学意义 ($H=25.454, P=0.000$); 血清 AMH 与年龄呈负相关, 差异有统计学意义 ($r=-0.385, P=0.000$); 血清 AMH 与其他 6 项激素间均无相关关系 ($P>0.05$)。结论 测量育龄妇女血清 AMH 水平, 为了解不孕妇女生育潜力和卵巢功能大概持续时间提供参考。

关键词: 不育; 女性; 抗苗勒管激素; 黄体期; 年龄因素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.002 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2012)17-2051-03

Detection of serum levels of anti-Müllerian hormone in 136 women of childbearing age*

Yang Xiaogang¹, Wang Fang², Wu Jiamin³, Wu Baoxiang³, Wu Chunyan³

(1. Department of Nuclear Medicine, the First Hospital of Handan, Handan, Hubei 056002, China; 2. Department of Nursing, Medical College of Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056029, China; 3. Department of Infecund Sterility, Heping Hospital of Handan, Handan, Hebei 056002, China)

Abstract: Objective To explore the serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels in women of childbearing age with normal menstrual cycle. **Methods** 136 women of childbearing age with normal menstrual cycle were selected and divided into 5 groups according to their ages. Serum levels of AMH and other 6 kinds of reproductive were determined in corpora luteum metaphase. **Results** The comparison of serum AMH levels in different age groups had significant difference. ($P=0.000$). The serum AMH level and age showed a significant negative correlation with significant difference. ($r=-0.385, P=0.000$). There was no correlation between the serum levels of AMH and the other 6 kinds of hormones ($P>0.05$). **Conclusion** AMH determination for women of childbearing age can provide reference for the evaluation of reproductive potential of infertile women and duration time of ovarian function.

Key words: infertility, female; anti-Müllerian hormone; luteal phase; age factors

抗苗勒管激素 (AMH) 由卵巢窦前和小窦状卵泡颗粒细胞所分泌^[1-2], 能够间接反映生长卵泡数量和原始卵泡库存量的变化。血清 AMH 水平已经被用作观察卵巢老化和检测卵巢功能的可靠标记^[3-5]。本研究通过测量月经正常育龄妇女的 AMH 水平, 观察随着年龄增长 AMH 的变化规律, 为评估本地不孕妇女生育潜力和卵巢功能大概持续时间提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 3~8 月邯郸市第一医院、邯郸和平医院不孕症门诊因男性因素不孕的育龄妇女 136 例, 分为 5 组: 1 组 51 例, 21~25 岁; 2 组 52 例, 26~30 岁; 3 组 14 例, 31~35 岁; 4 组 14 例, 36~40 岁; 5 组 5 例, 41~45 岁。各组均有正常的月经周期 (25~35 d), 基础体温 (BBT) 典型双相, 近 3 个月内未服用促排卵或避孕药, 并征得同意。排除标准: 卵巢手术史、妇科肿瘤、高催乳素、黄体功能不全和内分泌疾病史。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 于月经周期的黄体中期 BBT 升高 4~8 d 晨空腹, 上午 8:00~11:00 取肘静脉血 5 mL, 室温静置 60 min 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取血清, -40 ℃ 冻存待测。

1.2.2 检测方法 血清黄体生成素 (LH)、促卵泡素 (FSH)、睾酮 (T)、雌二醇 (E2)、催乳素 (PRL)、黄体酮 (P) 的检测应用磁分离酶联免疫法 (试剂和 BIOZYME I 型磁分离免疫测定仪器, 均为北京倍爱康生物技术有限公司提供)。血清 AMH 检测用 ELISA 法, 试剂盒购自美国 DSL (Diagnostic Systems Laboratories) 公司, 产品号为 DSL-10-14400, 最低检测浓度 0.006 ng/mL, 批内、批间变异系数分别为 8.0% 和 4.6%。采用上海科华 KHB-ST-360 酶标仪。均严格按试剂盒及仪器说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件系统进行数据分析。对各变量进行正态性检验, 数据不服从正态分布, 参考值范围采用中位数 (M) 和 95% 参考区间 (第 2.5~97.5 百分位数, P2.5~P97.5)。组间差异比较采用非参数 Kruskal-Wallis H 检验。多个样本两两比较采用文献 [6] 推荐的方法。双变量相关分析使用 Spearman 相关性检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 AMH 及其他 6 种生殖激素水平比较 经 Kruskal Wallis H 检验, 136 例月经正常育龄妇女不同年龄层血清 AMH 水平比较差异有统计学意义 ($P=0.000$), 随着年

* 基金项目: 邯郸市科学技术研究与发展计划资助项目 (1023108098-3)。

龄的增长,血清 AMH 水平呈逐渐下降的趋势;血清 T、E2、LH、FSH、PRL、P 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 136 例月经正常育龄妇女不同年龄组血清 AMH 及其他 6 项激素水平比较[M(P2.5~P97.5)]

组别	<i>n</i>	AMH(ng/mL)	T(ng/mL)	E2(pg/mL)	LH(mIU/mL)	FSH(mIU/mL)	PRL(ng/mL)	P(ng/mL)
1 组	51	5.67*** (0.63~11.64)	0.74 (0.54~0.93)	129.50 (59.61~234.64)	5.03 (1.10~21.43)	3.43 (1.52~7.56)	15.11 (5.39~24.99)	10.65 (5.09~19.38)
2 组	52	4.26** (0.65~11.54)	0.79 (0.49~0.95)	132.40 (61.08~315.50)	4.98 (1.77~21.13)	4.03 (1.14~11.62)	13.84 (2.59~25.29)	10.92 (5.97~26.98)
3 组	14	4.62** (0.67~5.76)	0.75 (0.62~0.90)	110.20 (60.23~192.34)	5.16 (1.77~11.21)	3.29 (2.04~7.95)	10.45 (5.01~23.41)	14.26 (8.16~20.81)
4 组	14	1.72*# (0.75~6.95)	0.81 (0.57~0.93)	106.70 (74.38~243.90)	4.20 (1.65~9.49)	3.74 (1.23~5.37)	11.33 (3.05~17.97)	12.02 (4.123~20.67)
5 组	5	0.56* (0.48~2.79)	0.70 (0.42~0.73)	155.33 (95.14~161.22)	5.35 (3.67~7.72)	4.71 (3.79~6.00)	10.17 (7.12~15.80)	11.71 (6.77~14.39)
<i>H</i>	—	25.454	4.252	1.553	2.950	3.357	5.917	6.751
<i>P</i>	—	0.000	0.373	0.817	0.566	0.508	0.205	0.150

*: $P<0.01$,与 1 组比较;**: $P<0.05$,与 5 组比较;***: $P<0.05$,与 3 组比较;#: $P<0.05$,与 2 组比较;—:无数据。

2.2 各组血清 AMH 水平 各组间两两比较 136 例育龄妇女不同年龄组进行多个样本两两比较,1 组与 2 组、2 组与 3 组、3 组与 4 组和 4 组与 5 组分别比较,各组间差异均无统计学意义($P>0.05$);1 组与 3 组、2 组与 4 组、2 组与 5 组和 3 组与 5 组比较,各组间差异均有统计学意义($P<0.05$);1 组与 4 组和 1 组与 5 组比较,各组间差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

2.3 血清 AMH 及其他 6 项激素水平与年龄的相关性分析 血清 AMH 与年龄呈负相关,且有统计学意义($r=-0.385$, $P=0.000$);血清 T、E2、LH、FSH、PRL、P 与年龄无相关关系(r 分别为 -0.047 、 0.081 、 -0.120 、 0.037 、 -0.144 、 0.148 , P 分别为 0.570 、 0.323 、 0.145 、 0.648 、 0.078)。AMH 与其他 6 项激素间均无相关关系($P>0.05$)。

3 讨 论

研究发现,正常月经育龄妇女血清 AMH 水平有 2 个显著的特征,即月经周期内和周期间的相对稳定性和一致性,及随着年龄增长而逐渐下降的相对变异性。与其他卵巢激素类的周期性变化相反,AMH 水平不伴随月经周期而改变,整个周期内均无明显波动^[7-10]。连续数个月经周期相同的月经时相之间^[11]、不同的月经周期随机时相以及间隔 1 年重复测定^[12-13],其卵泡液或血清内 AMH 也表现为稳定的一致性。

妊娠期^[14]、产褥期^[15]、经产及自然流产次数^[16]、重复卵子赠送^[17]、体质量指数(BMI)^[18]、吸烟^[19]、激素避孕(口服药、注射剂、阴道用药)^[20-21]、排卵正常妇女重组体促卵泡素超促排卵等^[22-23],对血清 AMH 水平均无影响。另外,血清 AMH 水平也未显示昼夜间节率变化^[24];血标本采集时间、采集季节、空腹与否^[25-26],均不影响 AMH 水平。不同种族年龄相似妇女之间 AMH 水平也无差异^[27]。

健康育龄妇女血清 AMH 水平相对变异性表现为,随着年龄增长逐渐降低,绝经后无法检测到,与年龄呈负相关^[25,27-28]。其降低速率为,24~35 岁健康育龄妇女血清 AMH 水平 M 值每年平均减少 0.2 ng/mL,35 岁后每年平均减少 0.1 ng/mL^[29]。说明血清 AMH 水平总趋势是随着年龄的增加而逐渐降低,但

在相邻的年龄段上是相对稳定的。

本研究月经正常育龄妇女不同年龄组血清 AMH 水平检测结果显示,随着年龄增长,血清 AMH 水平呈逐渐下降的趋势,与年龄呈负相关,与文献一致^[12-13,16,25-29]。相邻年龄段,如 1 组(21~25 岁)与 2 组(26~30 岁)、2 组与 3 组(31~35 岁)比较,血清 AMH 水平组间差异不明显,其可能机制与 Kevenaar 等^[30]研究结果类似,即某种代偿机制,从原始卵泡池不断募集始基卵泡或减少闭锁而维持生长卵泡数,以保持血清 AMH 水平相对稳定。本组 136 例月经周期正常育龄妇女各年龄段血清 AMH 水平与韩国 1 298 例测定结果相似^[28]。

本研究以血 $P>3$ ng/mL,或 BBT 双相型升高为判断有排卵的方法^[31],排除了育龄妇女正常月经周期中 7% 的无排卵者,故选择黄体期而非传统周期第 3 天。结果各年龄组黄体期血清 T、E2、LH、FSH、PRL、P 水平均无明显变化,显示与年龄无相关性,与绝经前整个生育期月经周期的同一时间内是稳定的结论相符合^[31]。血清 AMH 与 T、E2、LH、FSH、PRL、P 水平间均无相关关系,与其他学者研究结果一致^[8,25,32]。

总之,AMH 是唯一从初级卵泡到窦卵泡期由颗粒细胞产生的激素,随时间推移和年龄增长而降低,并在其他卵巢储备标记,在月经周期内和周期间、妊娠期及产褥期 AMH 水平无明显变化,且不受内外激素的影响,也不受月经周期的限制,是反映生育能力下降最好的标记物。并可在任何时间,不受进食、服药等限制采集血清,方便临床。育龄妇女血清 AMH 水平测定,对评估生育潜力和卵巢功能大概持续时间是实用和有价值的^[32]。

参考文献

[1] Weenen C, Laven JS, von Bergh AR, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary; potential implications for initial and cyclic follicle recruitment[J]. Mol Hum Reprod, 2004, 10(2): 77-83.

[2] Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and folliculo-

- genesis[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 234(1/2): 81-86.
- [3] Themmen AP. Anti-Müllerian hormone; its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker[J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2005(34): 18-21.
- [4] 梁元晶, Changhui XU, Beomsu KM, 等. 不同年龄大鼠血清抗中肾旁管激素水平与卵巢储备功能的关系[J]. *中国比较医学杂志*, 2008, 18(6): 450-452.
- [5] Tremellen KP, Kolo M, Gilmore A, et al. Anti-müllerian hormone as a marker of ovarian reserve[J]. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2005, 45(1): 20-24.
- [6] 刘万里, 薛茜, 曹明芹, 等. 用 SPSS 实现完全随机设计多组比较秩和检验的多重比较[J]. *地方病通报*, 2007, 22(2): 27-29.
- [7] Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, et al. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(10): 4057-4063.
- [8] La Marca A, Stabile G, Ardenisio AC, et al. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle[J]. *Hum Reprod*, 2006, 21(12): 3103-3107.
- [9] Tsepidelis S, Devreker F, Demeestere I, et al. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle; a prospective study in normo-ovulatory women[J]. *Hum Reprod*, 2007, 22(7): 1837-1840.
- [10] van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(1): 221-227.
- [11] Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, et al. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multistaged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(4): 923-927.
- [12] Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG, et al. Concentration of anti-Müllerian hormone and inhibin-B in relation to steroids and age in follicular fluid from small antral human follicles[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(6): 2344-2349.
- [13] Dorgan JF, Spittle CS, Egleston BL, et al. Assay reproducibility and within-person variation of Müllerian inhibiting substance[J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(1): 301-304.
- [14] Lutterodt M, Byskova AG, Skoubyb SO, et al. Anti-Müllerian hormone in pregnant women in relation to other hormones, fetal sex and in circulation of second trimester fetuses[J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 18(5): 694-699.
- [15] Marca AL, Giuliani S, Orvieto R, et al. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(6): 1569-1572.
- [16] La Marca A, Sighinolfia G, Giulinia S, et al. Normal serum concentrations of anti-Müllerian hormone in women with regular menstrual cycles[J]. *Reprod Biomed Online*, 2010, 21(4): 463-469.
- [17] Bukulmez O, Li Q, Carr BR, et al. Repetitive oocyte donation does not decrease serum anti-Müllerian hormone levels [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(3): 905-912.
- [18] Sahmay S, Guralp O, Senturk LM, et al. Serum anti-Müllerian hormone concentrations in reproductive age women with and without polycystic ovary syndrome; the influence of body mass index[J]. *Reprod Med Biol*, 2011, 10(2): 113-120.
- [19] Dafopoulos A, Dafopoulos K, Georgoulis P, et al. Smoking and AMH levels in women with normal reproductive history[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2010, 282(2): 215-219.
- [20] Li HWR, Wong CYG, Yeung WSB, et al. Serum anti-Müllerian hormone level is not altered in women using hormonal contraceptives[J]. *Contraception*, 2011, 83(6): 582-585.
- [21] Streuli I, Fraisse T, Pillet C, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids[J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(2): 395-400.
- [22] Fanchin R, Pawn KD, Taieb J, et al. Lack of AMH response to EFORT suggests that AMH production is gonadotropin-independent in adult women[J]. *Fertil Steril*, 2005, 84(S1): S424.
- [23] Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, et al. Serum anti-mullerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(5): 1871-1874.
- [24] Bungum L, Jacobsson AK, Rosén F, et al. Circadian variation in concentration of anti-Müllerian hormone in regularly menstruating females; relation to age, gonadotrophin and sex steroid levels [J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(3): 678-684.
- [25] Shaw CM, Stanczyk FZ, Egleston BL, et al. Serum anti-Müllerian hormone in healthy premenopausal women[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(8): 2718-2721.
- [26] Seifer D, Golub E, Lambert-Messerlian G, et al. Variations in serum of Müllerian inhibiting substance between white, black and Hispanic women[J]. *Fertil Steril*, 2009, 92(5): 1674-1678.
- [27] de Vet A, Laven JSE, de Jong FH, et al. Anti-Müllerian hormone serum levels; a putative marker for ovarian aging[J]. *Fertil Steril*, 2002, 77(2): 357-362.
- [28] Yoo JH, Kim HO, Cha SW, et al. Age specific serum anti-Müllerian hormone levels in 1,298 Korean women with regular menstruation [J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2011, 38(2): 93-97.
- [29] Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(2): 747-750.
- [30] Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice[J]. *Endocrinology*, 2006, 147(7): 3228-3234.
- [31] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004, 43-52.
- [32] Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, et al. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(1): 170-175.

(收稿日期: 2012-02-15)

(上接第 2050 页)

- [8] Morrow DA, Cannon CP, Rifai N, et al. Ability of minor elevations of troponin I and T to predict benefit from an early invasive strategy in patients with unstable angina and non-ST elevation myocar-

dial infarction; results from a randomized trial[J]. *JAMA*, 2001, 286(19): 2405-2412.

(收稿日期: 2012-03-15)