Лабораторная служба
2019, Т. 8, № 2, с. 25–35
https://doi.org/10.17116/labs2019802125

Laboratory Service=Laboratornaya sluzhba
2019, vol. 8, no2, pp. 25–35
https://doi.org/10.17116/labs2019802125

Определение референтных интервалов антимюллерова гормона, специфичных для российской популяции

© И.И. ГУЗОВ[1], Е.Ю. ПЕЧЕРИНА[1], А.В. РУЖАНСКАЯ[2], В.А. КОЗЛОВ[1], О.И. ЛАСКИНА[1], Н.Н. СИНТЮРИНА[1], Е.А. СЕДЫШКИНА[2], Е.Ю. ГВОЗДИК[2], С.А. ТЕ[3], А.В. ЗЕНКИНА[3], А.С. КУРГАННИКОВ[3]

[1]ООО «Лаборатории ЦИР», Москва, Россия;
[2]ООО «Бекмен Культер», Москва, Россия;
[3]Центр иммунологии и репродукции, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель исследования — установление референтных интервалов (РИ) для антимюллерова гормона (АМГ) для женщин и мужчин; проведено сравнение данных РИ с представленными в источниках литературы, специфичными для других популяций, и с РИ, разработанными производителем метода. Была исследована корреляция между возрастом, концентрацией АМГ и числом антральных фолликулов (ЧАФ).

Материал и методы. Согласно требованиям протокола CLSI EP 28 AC, в исследование были включены 460 здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 60 лет, в том числе 436 женщин и 24 мужчины. Концентрация АМГ была измерена с использованием иммунохимического анализатора Access 2 («Beckman Coulter Inc.») в лаборатории ЦИР (Москва). У женщин кровь была отобрана в любой день менструального цикла, ЧАФ определяли на 1—4-й дни цикла. Трансвагинальное ультразвуковое исследование (ТВУЗИ) было выполнено врачом ультразвуковой диагностики на аппарате Medison Ultrasound Systems. ЧАФ определяли как сумму фолликулов диаметром 2 — 10 мм в обоих яичниках. Женщины были разделены на группы с недетектируемым, единичным (<10) и достаточным (11—20) числом фолликулов по ТВУЗИ. Для расчета РИ использовали непараметрический метод анализа (статистическая программа Stata 11). Из исследования были исключены беременные женщины, женщины с синдромом поликистозных яичников и проведенными хирургическими операциями на яичниках. Разделение РИ по возрасту было сделано для женщин от 18 до 60 лет.

Результаты. В российской популяции в группе женщин от 26 до 30 лет и от 31 года до 35 лет медиана и верхний предел (ВП) РИ АМГ были значительно выше по сравнению с представленными производителем (медиана 3,38 против 2,27; 2,85 против 1,88; ВП 11,03 против 7,37; 11,61 против 7,35 соответственно). Медиана и ВП РИ российского исследования были ниже для группы 18—30 лет по сравнению с бразильским исследованием (медиана 3,35 против 3,7; ВП 11,7 против 12,5 соответственно). Для групп женщин 41 года—45 лет, старше 46 лет и мужчин РИ были верифицированы к интервалам, представленным производителем, согласно протоколу CLSI. Значительная негативная корреляция между АМГ и возрастом была продемонстрирована у женщин с 35 лет (r_p= –0,46); показана корреляция между концентрацией АМГ и ЧАФ для обоих яичников (r_p=0,64; r_p=0,69); отмечено значительное различие между уровнями АМГ в группах одного и того же возраста, но с разным ЧАФ (единичные по сравнению с нормальным числом фолликулов: 1,15 против 2,6 соответственно).

Заключение. Впервые были установлены РИ для АМГ, специфичные для российской популяции, с использованием метода Access AMH («Beckman Coulter Inc.»). Произведено сравнение с доступными исследованиями РИ. Показана корреляция между концентрацией АМГ, возрастом и ЧАФ.

Ключевые слова: *антимюллеров гормон, референтные интервалы, российская популяция, овариальный резерв, число антральных фолликулов, возраст.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Гузов И.И. — https://orcid.org/0000-0002-5628-8758
Печерина Е.Ю. — https://orcid.org/0000-0001-5974-4942
Ружанская А.В. — https://orcid.org/0000-0002-0889-0066
Козлов В.А. — https://orcid.org/0000-0003-1788-1484
Ласкина О.И. — https://orcid.org/0000-0003-2579-6474
Синтюрина Н.Н. — https://orcid.org/0000-0003-3104-6186
Седышкина Е.А. — https://orcid.org/0000-0002-8612-4084
Гвоздик Е.Ю. — https://orcid.org/0000-0002-4229-2393
Те С.А. — https://orcid.org/ 0000-0001-8248-7702
Зенкина А.В. — https://orcid.org/0000-0001-9814-8852
Курганников А.С. — https://orcid.org/0000-0001-7356-7612

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Гузов И.И., Печерина Е.Ю., Ружанская А.В., Козлов В.А., Ласкина О.И., Синтюрина Н.Н., Седышкина Е.А., Гвоздик Е.Ю., Те С.А., Зенкина А.В., Курганников А.С. Определение референтных интервалов антимюллерова гормона, специфичных для российской популяции. *Лабораторная служба*. 2019;8(2):25-35. https://doi.org/10.17116/labs2019802125

Автор, ответственный за переписку: Ружанская Анна Владиславовна — e-mail: aruzhanskaya@beckman.com; тел.: +7(915)021-1332; https://orcid.org/0000-0002-0889-0066

Corresponding author: Ruzhanskaya A.V. — e-mail: aruzhanskaya@beckman.com; tel.: +7(915)021-1332; https://orcid.org/0000-0002-0889-0066

Derivation of reference intervals for antimüllerian hormone, specific for russian population

© I.I. GUZOV[1], E.YU. PECHERINA[1], A.V. RUZHANSKAYA[2], V.A. KOZLOV[1], O.I. LASKINA[1], N.N. SINTYRINA[1], E.A. SEDYSHKINA[2], E.YU. GVOZDIK[2], S.A. TYE[3], A.V. ZENKINA[3], A.S. KURGANNIKOV[3]

[1]«CIR Laboratories» LLC, Moscow, Russia;
[2]Beckman Coulter LLC Moscow Russia;
[3]Immunology and Fertility Center, Moscow, Russia

ABSTRACT

Background. A study was organized to determine age-specific Russian reference intervals (RIs) for AMH for women and men and to compare the newly derived RIs with those provided in literature for other populations and by the manufacturer of the assay. The correlation between age, AMH concentration and antral follicle count (AFC) was estimated.

Materials and methods. By use of CLSI EP 28AC protocol, 460 healthy 18—60 year old (yo) volunteers including 436 women and 24 men were recruited. AMH was measured on the Access 2 immunochemistry analyzer (Beckman Coulter, Inc.) in CIR laboratory in Moscow. Blood collected on any day, AFC determined on day 1—4 of menstrual cycle in women. Transvaginal ultrasound (TVUS) was performed by sonographers using Medison Ultrasound Systems. AFC was defined as the sum of follicles 2—10 mm in diameter in both ovaries. The women were divided into groups with non-detectable, low (<10) and normal (11—20) number of follicles in TVUS. To explore RIs, non-parametric analysis was used (statistical program Stata 11). Pregnant women, women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and undergoing ovarian surgery were excluded from the investigation. Partition by age for women from 18 to 60 yo was performed.

Results. In the Russian population in groups of women 26—30 and 31—35 yo median and upper limit (UL) for AMH were significantly higher than those provided by the manufacturer (median 3.38 vs. 2.27; 2.85 vs. 1.88; UL 11.03 vs. 7.37, 11.61 vs. 7.35, respectively). In comparison to a Brazilian investigation the median and UL in Russian population were lower for group 18—30 yo (median: 3.35 vs. 3.7; UL 11.7 vs 12.5, respectively). For groups of women 41—45 yo, >46 yo and men RIs were verified to those provided by the manufacturer according to CLSI protocol. Significant negative correlation between AMH and age in women was shown starting from 35 yo (r_p = –0.46); correlation between AMH concentration and AFC in both ovaries was demonstrated (r_p=0.64; 0.69); the significant difference between AMH levels in groups of the same age but with different AFC (low vs normal number of follicles) was shown (1.15 vs 2.6 respectively).

Conclusion. For the first time RIs for AMH, specific for Russian population using Access AMH assay manufactured by Beckman Coulter Inc. were established. The comparison with available investigations dedicated to RIs was performed. Correlation between AMH concentration, age and AFC was shown.

Keywords: *Antimüllerian hormone (AMH), reference intervals (RI), Russian population, ovarian reserve, antral follicle count (AFC), age.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Guzov I.I. — https://orcid.org/0000-0002-5628-8758
Pecherina E.Yu. — https://orcid.org/0000-0001-5974-4942
Ruzhanskaya A.V. — https://orcid.org/0000-0002-0889-0066
Kozlov V.A. — http://orcid.org/0000-0003-1788-1484
Laskina O.I. — https://orcid.org/0000-0003-2579-6474
Sintyrina N.N. — https://orcid.org/0000-0003-3104-6186
Sedyshkina E.A. — https://orcid.org/0000-0002-8612-4084
Gvozdik E.Yu. — https://orcid.org/0000-0002-4229-2393
Tye S.A. — https://orcid.org/ 0000-0001-8248-7702
Zenkina A.V. — https://orcid.org/0000-0001-9814-8852
Kurgannikov A.S. — https://orcid.org/0000-0001-7356-7612

TO CITE THIS ARTICLE:
Guzov II, Pecherina EYu, Ruzhanskaya AV, Kozlov VA, Laskina OI, Sintyrina NN, Sedyshkina EA, Gvozdik EYu, Tye SA, Zenkina AV, Kurgannikov AS. Derivation of reference intervals for Antim?llerian hormone, specific for russian population. *Laboratory Service = Laboratornaya sluzhba*. 2019;8(2):25-35. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/labs2019802125

Введение

В середине XIX в. анатом Йохан Мюллер впервые описал эмбриональный проток — предшественник женской половой системы, из которого при развитии эмбриона по женскому типу формируются матка, фаллопиевы трубы и верхняя часть влагалища. Впоследствии он был назван «мюллеров проток». Другой физиолог — Каспар Вольф — исследовал проток, являющийся предшественником органов мужской половой системы, из которого при развитии эмбриона по мужскому типу на 8—10-й неделе гестации формируются придатки яичка, семенные пузырьки и семявыносящий проток. Впоследствии он был наз-

ван «вольфов проток». В начале I триместра в организме эмбриона присутствуют и вольфов, и мюллеров протоки.

Роль антимюллерова гормона (АМГ) в половой дифференциации плода была впервые описана Альфредом Йостом в 1947 г. [1]. Исследователем было показано, что при формировании плода по мужскому типу происходит регрессия мюллерова протока под влиянием АМГ, вырабатывающегося клетками Сертоли. Соответственно в мужском организме АМГ выделяется с высокой интенсивностью в течение фетального периода и в детстве, однако уровень экспрессии снижается, когда половые клетки в яичках начинают процесс мейоза — в пубертатный период и у взрослых мужчин. В связи с этим определение уровня сывороточного АМГ у мужчин используется для оценки наличия тестикулярной ткани и функции клеток Сертоли — в основном у мальчиков с низким уровнем тестостерона в препубертате, в комплексе с оценкой лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и тестостерона [2, 3].

У женщин синтез АМГ происходит в клетках яичников и отмечается примерно с 23-й недели гестации, достигая пиковых значений, наоборот, в период пубертата [4]. Ориентировочно до 25 лет концентрация АМГ остается на достаточно стабильном уровне, после чего начинает проявляться выраженная отрицательная корреляция с возрастом; снижение до неопределяемых концентраций достигается примерно за 5 лет до наступления менопаузы [5—8].

Подобное снижение уровня АМГ у женщин обусловлено физиологическими аспектами. Исследователями показано, что девочка рождается с определенным количеством ооцитов, окруженных фолликулярными клетками (примордиальных фолликулов). Число и/или качество ооцитов, отражающее способность к репродукции, принято называть «овариальным запасом» [9]. Количество примордиальных фолликулов в течение жизни женщины будет только уменьшаться. До достижения половой зрелости переходящие в рост примордиальные фолликулы подвергаются дегенерации. После достижения половой зрелости часть растущих примордиальных фолликулов достигает по мере созревания фазы преантрального, малого антрального, антрального и впоследствии доминантного фолликула; при этом до последней стадии доходят единичные фолликулы. Синтез АМГ происходит в клетках гранулезы растущих преантральных и малых антральных фолликулов, диаметром до 8 мм. При этом по принципу обратной связи АМГ как ингибирует первичную рекрутизацию примордиальных фолликулов, так и снижает чувствительность антрального фолликула к ФСГ, ингибируя ФСГ-зависимый рост и отбор преантральных и малых антральных фолликулов. На этапе рекрутизации больших антральных фолликулов, чувствительных к ФСГ, уровень АМГ снижается до недетектируемых уровней, и антральные фолликулы достигают размера 8 мм [10, 11].

Таким образом, предполагается, что концентрация АМГ косвенно отражает количество оставшихся примордиальных фолликулов; фактически, K. Hansen и соавт. [12] сообщили о зависимости между концентрацией АМГ и числом овариальных примордиальных фолликулов (функциональный «овариальный резерв»).

Последние исследования показывают, что АМГ является лучшим маркером овариального резерва по сравнению с возрастом [13] и такими маркерами, как сывороточный ФСГ, эстрадиол, ингибин В и подсчет антральных фолликулов на 3-й день фолликулярной фазы менструального цикла [14]. На практике определение уровня АМГ дает возможность оценить овариальный статус женщины и предположить, можно ли откладывать беременность. При этом референтные интервалы (РИ) позволяют оценить диапазон значений АМГ в рамках 95% перцентиля у условно здоровых добровольцев в группах по возрастам.

Стоит отметить, что у женщин АМГ имеет широкое клиническое применение: он используется в том числе как предиктор ответа на стимуляцию яичников в рамках процедур экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В этой области применения наибольшее значение будет иметь пороговое значение АМГ, позволяющее предсказать «слабый» овариальный ответ. Так, Болонские критерии, разработанные экспертами в 2010 г., предполагают наличие как минимум двух из трех нижеперечисленных параметров: 1) возраст старше 40 лет или любой другой фактор риска; 2) наличие слабого ответа в анамнезе (<3 ооцитов в протоколе стимуляции); 3) неудовлетворительные тесты на определение овариального резерва: число антральных фолликулов (ЧАФ) <5—7 или уровень АМГ <0,5—1,1 нг/мл [15].

Обновленные критерии POSEIDON, разработанные в 2017 г., делят пациенток на 4 категории в зависимости от уровня АМГ (с единым пороговым значением, принятым как 1,2 нг/мл), возраста и количества ооцитов, определенного с помощью ультразвукового исследования — УЗИ **(рис. 1)** [16].

При этом крайне важно, чтобы и РИ, и пороговые значения соответствовали методу, используемому лабораторией для измерения АМГ. В связи с тем, что в настоящее время многие лаборатории в мире выполняют тестирование с помощью автоматического метода, исследователи разрабатывают метод-специфические пороговые значения и референтные интервалы. Так, в 2018 г. была опубликована статья V. Baker с результатами исследования порогового значения АМГ автоматическим методом Access AMH («Beckman Coulter Inc.») для женщин со «слабым» овариальным ответом: 0,93 нг/мл [17].

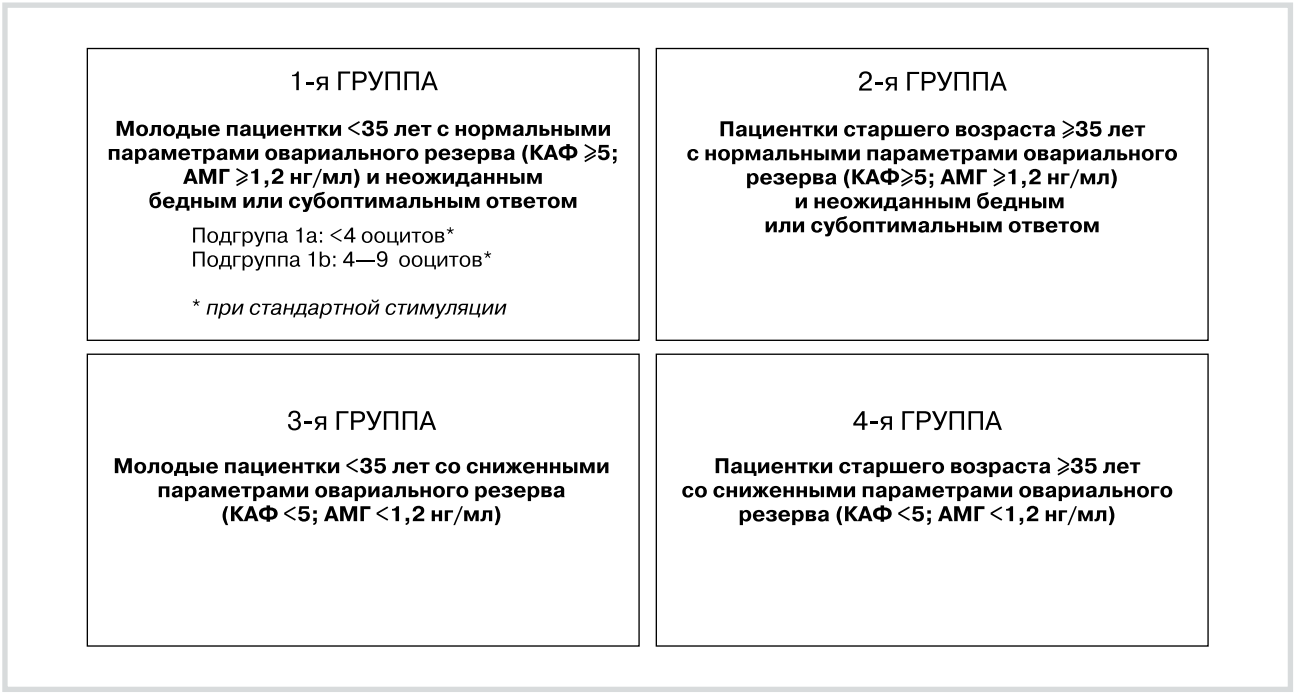

Рис. 1. **Четыре группы пациентов с прогнозом «слабого ответа» при проведении вспомогательных репродуктивных технологий согласно стратификации критериев POSEIDON, основанной на количестве и качестве ооцитов.**

Многими исследованиями показана эффективность применения АМГ при проведении диагностики синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) — АМГ является более чувствительным маркером по сравнению с УЗИ яичников. При СПКЯ увеличивается число растущих фолликулов, поэтому уровни АМГ повышаются по сравнению с нормой. Традиционно в диагностике СПКЯ используется подсчет ЧАФ с использованием УЗИ, в ходе которого определяются только самые крупные из растущих фолликулов. АМГ может рассматриваться как более надежный и чувствительный тест для определения избытка фолликулов, чем ЧАФ, так как отражает больше классов фолликулов, включая более маленькие по размеру [18]. Поэтому в 2018 г. группой исследователей — L. Sun и соавт. — были разработаны метод-специфические РИ для женщин без и с СПКЯ [19].

Наличие метод-специфических РИ для разных групп испытуемых особенно важно в связи с отсутствием единого стандарта определения АМГ. Однако даже при наличии РИ в инструкции компании-производителя для врача-клинициста важны РИ, специфичные для конкретной популяции. Так, например, R. Woloszynek и соавт. установили РИ, специфичные для бразильской популяции [20].

H. Jopling и соавт. разработали РИ для детей с учетом пола для разных возрастных категорий [21]. Сравнение педиатрических РИ, полученных в Великобритании, с указанными в инструкции к методу Access AMH представлено в **приложении 1 (доп. табл. 1)**.

В свою очередь лаборатории зачастую сталкиваются с проблемой установления собственных РИ ввиду трудоемкости и дороговизны процесса.

Цель данного исследования — установление РИ для АМГ для женщин с учетом возраста и мужчин, специфичных для российской популяции. Согласно требованиям международного протокола CLSI EP-28 A3C [22], при возможности проведена верификация РИ производителя теста либо установлены новые РИ.

Практическая значимость работы заключается в помощи лабораториям и врачам-клиницистам в разработке популяционно-специфических РИ для АМГ у женщин разных возрастных групп и мужчин.

Материал и методы

Характеристика групп пациентов

В исследование были включены 460 добровольцев (436 женщин и 24 мужчины) с субъективно хорошим самочувствием в возрасте от 18 до 60 лет.

Регион проживания Москва и Московская область.

Все участники заполнили анкету с информацией о росте, массе тела, анамнезе, статусе курения (да/нет), а также репродуктивном анамнезе, в том числе об использовании гормональной контрацепции у женщин. От всех добровольцев было получено письменное информированное согласие и согласие на обработку персональных данных.

Критериями невключения являлись беременность, СПКЯ, проведенные операции на яичниках.

У женщин взятие крови было произведено вне зависимости от фазы менструального цикла.

Добровольцы-женщины были разделены на 6 возрастных групп:

— 18—25 лет — 20 человек;
— 26—30 лет — 120 человек;
— 31 год—35 лет — 120 человек;
— 36—40 лет — 120 человек;
— 41 год—45 лет — 28 человек;
— 46 лет и старше — 28 человек.

Лабораторные и ультразвуковые исследования

Взятие крови проводили в клиниках сети «Центр иммунологии и репродукции» (Москва) путем венепункции в пробирки с разделительным гелем и активатором сгустка. После центрифугирования и отделения сыворотки образцы хранили при температуре –20 °С в течение не более 3 мес.

АМГ определяли с помощью теста Access AMH на иммунохимическом анализаторе Access 2 производства компании «Beckman Coulter Inc.» в соответствии с требованиями инструкции к набору реагентов.

Верификацию и валидирование РИ для АМГ проводили в соответствии с рекомендациями международного руководства CLSI EP28-A3C [22] и ГОСТ РФ 53022.3-2008 [23], включающими в том числе следующие требования к числу добровольцев:

— для установления РИ минимальная численность одной обследуемой группы должна составлять не менее 120 человек;

— для верификации существующего РИ минимальная численность одной обследуемой группы должна составлять не менее 20 человек, РИ считается верифицированным при условии, что не более двух значений окажутся за пределами РИ.

В рамках исследования всем женщинам проводили определение ЧАФ (AFC) на УЗИ (аппараты Medison Ultrasound Systems; SonoAceX8, Accuvix V10). УЗИ выполняли в 1—4-й дни менструального цикла (или в любой день при отсутствии менструаций).

Добровольцы-женщины были разделены на три группы:

0 — фолликулы не определяются;
1 — единичные фолликулы (до 10 фолликулов);
2 — достаточное количество фолликулов (11—20 фолликулов);

Данное исследование было одобрено Этическим комитетом клиники ЦИР.

Статистика

РИ рассчитывали с помощью статистической программы Stata 11 непараметрическим методом (команда centile в программе Stata 11) как для доверительного интервала (ДИ) медианного значения, так и для 90% ДИ пределов РИ. Непараметрические методы использовали, так как мы не могли утверждать, что существует нормальное распределение величин наблюдаемых нами показателей АМГ как в целом, так и для каждой возрастной группы. Подробнее описание формулы представлено в работе A. Mood и соавт. [24].

Исследование зависимости уровня АМГ от возраста и количества определяемых на УЗИ фолликулов проводили методом корреляции Пирсона, при этом значимым считали значение на 5% уровне значимости ($p<0,05$).

Достоверность различий между группами с разным количеством фолликулов определяли с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни (*U*-критерий).

Результаты

Верификация референтных интервалов АМГ у мужчин

Проведено обследование группы из 24 мужчин в возрасте от 21 года до 60 лет. Все значения оказались внутри предложенного производителем РИ, равного 0,73—16,05 пг/мл, который был верифицирован для российской популяции. РИ, рассчитанные в рамках данного исследования на группе из 24 человек, приведены в **табл. 1** для информации; при необходимости получения собственных РИ для мужчин исследование будет продолжено на более широкой выборке.

Определение РИ АМГ у женщин

В финальное определение РИ были включены 436 женщин в возрасте от 18 до 60 лет, разделенные по группам в зависимости от числа фолликулов: 0 (не определяются), 1 (единичные) и 2 (достаточное количество).

Таблица 1. **РИ АМГ для мужчин**

Возраст	Ед. изм.	Российское исследование, 95% перцентиль					Инструкция к набору Access AMH, 95% перцентиль			
		n	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ	90% ДИ РИ	*n*	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ
>18	нг/мл	24	0,77	6,02	11,88	0,00—13,56	83	0,73	4,87	16,05

Таблица 2. **РИ АМГ для женщин по группам возрастов, рассчитанные для 90% и 95% перцентиля**

Номер группы	Ед. изм.	Возраст	Российское исследование								Инструкция к набору Access AMH				
			90% перцентиль			95% перцентиль					95% перцентиль				
			n	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ	90% ДИ РИ	Возраст	*n*	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ
1	нг/мл	18—30	140	0,76	3,35	9,93	0,47	3,35	11,17	0,45—17,94	18—25	80	0,96	3,71	13,34
2	нг/мл	26—30	120	0,73	3,38	9,18	0,52	3,38	11,03	<0,45—14,66	26—30	82	0,17	2,27	7,37
3	нг/мл	31—35	120	0,2	2,85	9,69	0,05	2,85	11,61	<0,01—20,4	31—35	80	0,07	1,88	7,35
4	нг/мл	36—40	120	0,16	1,59	6,3	0,03	1,59	6,60	0—14,26	36—40	80	0,03	1,62	7,15
5	нг/мл	41—45	28	0,06	0,2	3,15	0,01	0,21	3,17	<0,01—3,2	41—45	79	0	0,29	3,27
6	нг/мл	46+	28	0,00	0,02	0,52	0	0,02	0,60	0—0,6	46+	82	0	0,01	1,15
7	нг/мл	Все	436	0,02	2,22	7,56	0,01	2,22	9,66	0,01—12,98	Все	N/A	N/A	N/A	N/A

Номер группы	Ед. изм.	Возраст	Российское исследование: 90% перцентиль: 90% ДИ РИ
1	нг/мл	18—30	0,46—14,77
2	нг/мл	26—30	<0,45—13,26
3	нг/мл	31—35	0,33—15,3
4	нг/мл	36—40	0,02—8,31
5	нг/мл	41—45	<0,01—3,1
6	нг/мл	46+	0,00—0,60
7	нг/мл	Все	0,01—9,29

В группах 18—25 лет, 41 год—45 лет и старше 46 лет проведено обследование не менее 20 пациентов. Все значения для групп 41 год—45 лет и старше 46 лет оказались внутри РИ, приведенных в инструкции производителя реагентов метода Access AMH, что позволило верифицировать их для российской популяции и лаборатории. РИ, рассчитанные в рамках российского исследования для двух последних групп, приведены для информации; при необходимости получения собственных РИ исследование будет продолжено на более широкой выборке **(табл. 2)**.

Для группы в возрасте 18—25 лет был получен узкий РИ и не было выявлено статистических отличий групповой медианы от средней по всей выборке. По нашему мнению, это связано с малым количеством выборки и требует дальнейшего исследования с привлечением большего числа добровольцев данной возрастной категории; в данном исследовании было принято решение об объединении группы в категорию 18 — 30 лет. При этом группа 26—30 лет была исследована независимо.

При предварительном анализе 1—6-й групп видно, что пиковое медианное значение показатель концентрации АМГ для российской популяции достигает в возрастном диапазоне 26—30 лет, начиная прогрессивно снижаться после 35 лет. При этом верхний порог РИ достигает максимума в возрастном диапазоне 31 год—35 лет.

Зависимость концентрации АМГ от возраста представлена на **рис. 2**. Данные результаты подтверждают предыдущие исследования, в которых было показано существенное снижение АМГ с возрастом [6, 7].

Как видно, снижение АМГ с возрастом сильно выражено и является статистически достоверным (r_p = –0,42). Следует отметить, что возрастная зависимость не является выраженной до 35 лет (r_p = –0,09), в то время как после 35 лет она является значительной и достоверной (r_p = –0,46). До достижения воз-

Рис. 2. **Корреляция уровня АМГ (нг/мл) и возраста.**

Таблица 3. **Статистический анализ отличий общегруппового показателя медиан в возрастных группах**

Номер группы	Возраст, годы	*p*
1	18—30	0
2	31—35	0,002
3	36—40	0,037
4	41—45	0
5	46 и старше	0
	1 и 2	0,237
	2 и 3	0,025
	3 и 4	0,007

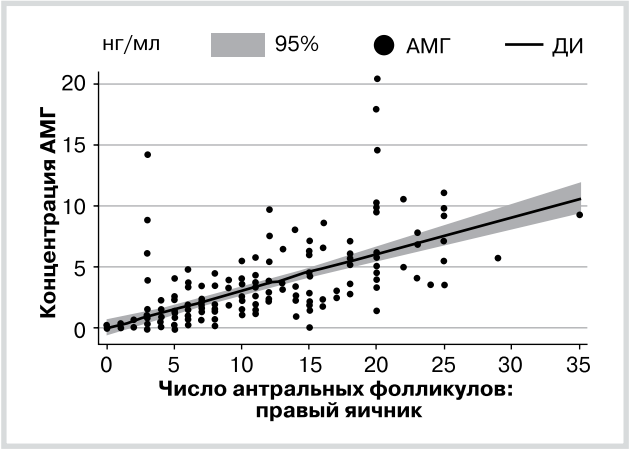

Рис. 3. **Корреляция уровня АМГ и числа антральных фолликулов (правый яичник).**

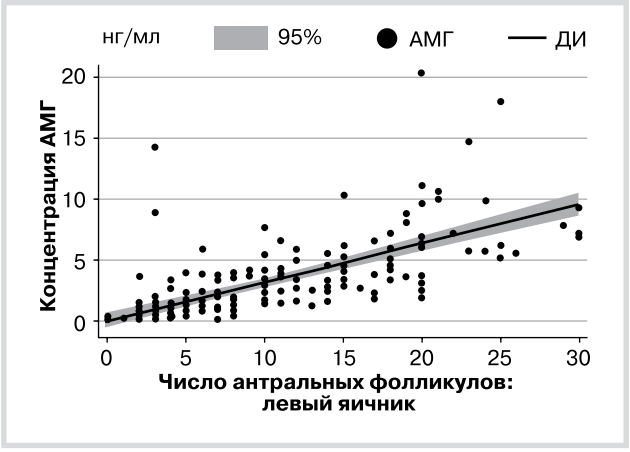

Рис. 4. **Корреляция уровня АМГ и числа антральных фолликулов (левый яичник).**

раста 30 лет наблюдается статистически незначимая положительная корреляция уровня АМГ с возрастом (r_p=0,066), а после 30 лет — отрицательная значимая корреляция (r_p= –0,43).

С помощью непараметрического критерия Манна—Уитни было определено, насколько уникальным и отличным от общегруппового является показатель медианного значения в каждой из возрастных подгрупп. Было показано, что медианы всех возрастных групп имеют значимые отличия от среднего показателя **(табл. 3)**.

Следует отметить, что у некоторых женщин были выявлены высокие показатели АМГ; наибольшее стандартное отклонение наблюдали в группе 26—30 и 31 год—35 лет. Вероятно, это может быть связано с влиянием на показатели разных индивидуальных характеристик женщин в данном возрастном диапазоне.

Значительная межиндивидуальная вариация может быть обусловлена не только возрастом, но и числом фолликулов, продуцирующих АМГ [10], наличием СПКЯ, менопаузы и генетической предрасположенности. Для определения РИ были исключены женщины, перенесшие операции на яичниках, которые могли бы иметь более низкое значение АМГ, и женщины с множественными фолликулами, уровень АМГ у которых более высокий.

АМГ и количество фолликулов

В данном исследовании была отмечена высокая степень корреляции между уровнем АМГ и ЧАФ: для правого яичника r_p=0,64, а для левого — r_p=0,695. Результаты исследования представлены на **рис. 3 и 4.**

Предыдущие исследования также показали высокую степень корреляции между уровнем АМГ, выполненным автоматическим методом, и ЧАФ (area under curve, AUC=0,85) [25].

В данной работе было продемонстрировано, что в одном и том же возрастном диапазоне в группах, разделенных на основании УЗИ на пациенток с достаточным числом фолликулов и единичными фолликулами, уровень АМГ значительно отличается: среднее значение составляет 2,6 и 1,15 нг/мл соответственно **(табл. 4)**.

Отметим, что при рассмотрении медианных значений основных групп ЧАФ показатель уровня АМГ получается ожидаемым: АМГ возрастает в группах с высоким ЧАФ **(табл. 5)**.

Необходимо отметить, что корреляцию АМГ с возрастом в каждой группе ЧАФ можно рассматривать, но данное сравнение не несет существенной информационной нагрузки в связи с тем, что возраст также имеет высокую степень корреляции с ЧАФ: rp= –0,54 для обоих яичников.

Тем не менее результаты корреляции АМГ с возрастом в каждой группе, определенной согласно ЧАФ, приведены в **табл. 6**.

Дискуссия

Насколько нам известно, данное исследование по установлению РИ для российской популяции является первым. Нами были установлены РИ для 6 групп женщин, разделенных по возрастам, и мужчин в возрастном диапазоне от 18 до 60 лет.

Таблица 4. **Корреляция уровня АМГ и числа фолликулов**

Показатель	Достаточное число фолликулов	Единичные фолликулы
Число пациенток	20	20
Средний возраст, годы	35,4	35,4
Среднее значение АМГ, нг/мл	2,6	1,15
95%	1,6—3,4	0,6—1,7

Таблица 5. **Медианные значения уровня АМГ при разном числе фолликулов**

Число фолликулов	Медиана	90% ДИ	
		верхний предел	нижний предел
Нет	0,010	0,010	0,030
Единичные	0,805	0,591	1,027
Достаточное	3,085	2,840	3,349
Множественные	7,160	5,910	9,735

Таблица 6. **Корреляция уровня АМГ и возраста в каждой группе ЧАФ**

Число фолликулов	Коэффициент корреляции (r_p)	Средний возраст, годы
Нет	–0,6590*	51,3
Единичные	–0,4044*	37,8
Достаточное	–0,2054*	32,2
Множественные	0,0685	28,9

Примечание. * — значимость на 5% уровне.

Согласно данным литературы, аналогичное исследование по установлению возрастных РИ было проведено R. Woloszynek и соавт. для бразильской популяции [20]. Результаты сравнения финальных РИ для женщин и мужчин, разработанных для российской популяции, бразильской популяции и инструкции к методу Access AMH, разработанной производителем метода [26], представлены в **табл. 7**.

Следует отметить, что бразильские исследователи разделили женщин на 3 возрастные категории (18—30, 31 год—40 и 41 год—50 лет). В группе до 30 лет результаты российского исследования оказались несколько ниже, чем бразильского (медиана 3,35 против 3,7; ВП 11,7 против 12,5 соответственно); при этом верхний порог РИ для женщин в возрасте от 18 до 25 лет, приведенный в инструкции к реагенту Access AMH, оказался наиболее высоким.

Показатели медиан и ВП значений АМГ в российской популяции для возрастных групп 26—30 и 31 год—35 лет оказались выше по сравнению с результатами, приведенными в инструкции производителя (медиана 3,38 против 2,27; 2,85 против 1,88; ВП 11,03 против 7,37; 11,61 против 7,35 соответственно).

Таблица 7. **Финальные РИ для женщин по возрастам и мужчин: сравнение с другими исследованиями**

№	Ед. изм.	Российское исследование, 95% перцентиль				Инструкция к набору Access AMH, 95% перцентиль				Бразильское исследование, 95% перцентиль			
		возраст	*n*	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ	возраст	*n*	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ	возраст	*n*	нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ
							Женщины									
1	нг/мл	18—30	140	0,47	3,35	11,17	18—25	80	0,96	3,71	13,34	18—30	50	0,06	3,7	12,5
2	нг/мл	26—30	120	0,52	3,38	11,03	26—30	82	0,17	2,27	7,37					
3	нг/мл	31—35	120	0,05	2,85	11,61	31—35	80	0,07	1,88	7,35	31—30	37	0,50	2,40	9,60
4	нг/мл	36—40	120	0,03	1,59	6,60	36—30	80	0,03	1,62	7,15					
5	нг/мл	41—45	28	РИ верифицированы*			3,27	79	0,00	0,29	3,27	41—50	13	<0,2	0,80	1,40
6	нг/мл	46+	28	РИ верифицированы*			1,15	82	0,00	0,01	1,15					
							Мужчины									
1	нг/мл	>18	24	РИ верифицированы*			>18	83	0,73	4,87	16,05					
2	нг/мл	18—30										18—30	63	1,90	6,30	20,50
3	нг/мл	31—40										31—40	29	2,70	6,00	14,80
4	нг/мл	41—50										41—50	12	2,00	4,70	16,20

Примечание. * — РИ верифицированы из инструкции к методу Access AMH («Beckman Coulter Inc.»).

В целом в российской популяции определяются более высокие уровни АМГ во всех возрастных категориях, кроме группы 36—40 лет, где медиана практически совпадает с указанной в инструкции к методу Access AMH. Провести подробное сравнение с бразильским исследованием довольно затруднительно в связи с разными возрастными категориями для РИ; однако можно отметить, что общий тренд является сопоставимым.

У мужчин медиана АМГ для всех возрастов для российской популяции была выше по сравнению с представленной в инструкции к методу. В бразильском исследовании группы были разделены по возрастам, и медианы групп 18—30 и 31 год—40 лет были сопоставимы с российским исследованием; в группе старше 41 года медиана была ниже, что позволяет оценить тренд, однако размер выборки, на наш взгляд, является небольшим для более подробного заключения **(см. табл. 7)**.

Показана ожидаемая высокая степень корреляции возраста и концентрации АМГ, отмечено стремительное убывание АМГ после перехода некоторого порогового значения в районе 35 лет (между 31 и 35 годами). При этом корреляция показателя с возрастом внутри группы 31 год—35 лет значима и составляет –0,23 (внутри других групп таких значимых значений нет, кроме самой последней, включающей в себя довольно обширный возрастной ряд).

Была продемонстрирована выраженная зависимость между уровнем АМГ и ЧАФ. Отмечено значимое различие медиан: 2,6 против 1,15 для пациенток в группах с достаточным и единичным числом фолликулов. Следует отметить, что в нашей выборке уровень менее 1,1 нг/мл определялся у всех женщин старше 46 лет и 7 женщин из 28 в возрасте от 41 года до 45 лет. У 4 из 7 женщин определялось достаточное число фолликулов по УЗИ. В бразильском исследовании [20] у всех женщин старше 40 лет, у 19% в возрасте 18—40 лет уровень АМГ <1,4 нг/мл. В нашем исследовании в выборке женщин до 40 лет уровень АМГ <1,1 наблюдали у 19% женщин, в возрасте до 30 лет — у 4%. Результаты исследования C. Hagen и соавт. показали, что низкий уровень АМГ (0—1,8 нг/мл) у здоровых женщин в возрасте в среднем 25 лет не предсказывал снижения способности к зачатию [6]. Одновременно женщины с высоким уровнем АМГ показывают снижение фертильности, которое может быть связано с присутствием СПКЯ.

Заключение

В заключение следует отметить, что наличие российских РИ, представленных в данной работе, может помочь лабораториям и врачам клинической практики при оценке характеристик российской популяции относительно уровня АМГ и быть полезным для дальнейших клинических исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Jost A. The age factor in the castration of male rabbit fetuses. Proc Soc *Exp Biol Med*. 1947;66(2):302-303. https://doi.org/10.3181/00379727-66-16071
2. Xu H-Y, Zhang H-X, Xia Z, Qiao J, Li R. Regulation of anti-Müllerian hormone (AMH) in males and the associations of serum AMH with the disorders of male fertility. *Asian J Androl*. 2018; 21(2):109-114. https://doi.org/10.4103/aja.aja_83_18
3. Johansen ML, Hagen CP, Johannsen TH, Main KM, Picard J-Y, Jørgensen A, Rajpert-De Meyts E, Juul A. Anti-Müllerian Hormone and Its Clinical Use in Pediatrics with Special Emphasis on Disorders of Sex Development. *International Journal of Endocrinology*. 2013;1-10. https://doi.org/10.1155/2013/198698
4. Jamil Z, Fatima SS, Ahmed K, Malik R. Anti-Mullerian Hormone: Above and Beyond Conventional Ovarian Reserve Markers. *Hindawi Publishing Corporation, Disease Markers*. 2016;1-9. https://doi.org/10.1155/2016/5246217
5. Kruszyńska A, Słowińska-Srzednicka J. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Prz Menopauzalny*. 2017;16(2):47-50. https://doi.org/10.5114/pm.2017.68591
6. Hagen CP, Aksglaede L, Sørensen K, Main KM, Boas M, Cleemann L, Holm K, Gravholt CH, Andersson AM, Pedersen AT, Petersen JH, Linneberg A, Kjaergaard S, Juul A. Serum levels of anti-Mullerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner Syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:5003-5010. https://doi.org/10.1210/jc.2010-0930
7. La Marca A, Spada E, Grisendi V, Argento C, Papaleo E, Milani S, Volpe A. Normal serum anti-Mullerian hormone levels in the general female population and the relationship with reproductive history. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012;163:180-184. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2012.04.013
8. Meczekalski B, Czyzyk A, Kunicki M, Podfigurna-Stopa A, Plociennik L, Jakiel G, Maciejewska-Jeske M, Lukaszuk K. Fertility in women of late reproductive age: the role of serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels in its assessment. *J Endocrinol Invest*. 2016;39:1259-1265. https://doi.org/10.1007/s40618-016-0513-x
9. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, Jacques de Mouzon J, Sokol R, Rienzi L, Sunde A, Schmidt L, Cooke ID, Simpson JL, Poell S. The international glossary on infertility and fertility care. *Fertility and Sterility*. 2017;108(3):393-406. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005
10. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K, Raine-Fenning N, Campbell BK, Yding Andersen C. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH produc-

tion at the time of follicle selection. *Molecular Human Reproduction*. 2013;19(8):519-527. https://doi.org/10.1093/molehr/gat024

11. Broekmans F, Visser JA, Laven JS, Broer SL, Themmen AP, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metab*. 2008;19:340-347. https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.08.002
12. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril*. 2011;95:170-175. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.006
13. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, Fauser BJ, Themmen AP, te Velde ER. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: A longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005;83:979-987. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.11.029
14. Verma AK, Rajbhar S, Mishra J, Gupta M, Sharma M, Deshmukh G, Ali W. Anti-Mullerian Hormone: A Marker of Ovarian Reserve and its Association with Polycystic Ovarian Syndrome. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016;10(12):10-12. https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/20370.8988
15. Younis JS, Ben-Ami M, Ben-Shlomo I. *The Bologna criteria for poor ovarian response: a contemporary critical appraisal*. 2015;8(76):1-10. https://doi.org/10.1186/s13048-015-0204-9
16. Humaidan P, Alviggi C, Fischer R, Estevesa SC. The novel POSEIDON stratification of «Low prognosis patients in Assisted Reproductive Technology» and its proposed marker of successful outcome. *F1000 Research*. 2016;5:2911. Last updated: 08 Feb 2017. https://doi.org/10.12688/f1000research.10382.1
17. Baker VL, Gracia C, Glassner MJ, Schnell VL, Doody K, Coddington CC, Shin SS, Marshall LA, Alper MM, Morales AJ, Pavone ME, Behera MA, Zbella EA, Shapiro BS, Straseski JA, Broyles DL. Multicenter evaluation of the Access AMH antimullerian hormone assay for the prediction of antral follicle count and poor ovarian response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2018;110(3):506-513. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.031
18. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, Griesinger G, Kelsey TW, La Marca A, Lambalk C, Mason H, Nelson SM, Visser JA, Wallace WH, Anderson RA. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Human Reproduction Update*. 2014;20(3):370-385. https://doi.org/10.1093/humupd/dmt062
19. Sun L, Retka S, Lejeune C, Broyles D, Manzanera K. Age stratified Anti-Mullerian hormone (AMH) reference range evaluation in polycystic ovary syndrome women at reproductive age using an automated AMH assay. *Poster*. 2018.
20. Woloszynek RR, Brito LP, Batista MC, Lima Valassi HP, Mendonca BB, Brito VN. Validation of an immunoassay for anti-Müllerian hormone measurements and reference intervals in healthy Brazilian subjects. *Ann Clin Biochem*. 2015;52(1):67-75. https://doi.org/10.1177/0004563214554462
21. Jopling H, Yates A, Burgoyne N, Hayden K, Chaloner K, Tetlow L. Pediatric Anti-Müllerian Hormone measurement: Male and female reference intervals established using the automated Beckman Coulter Access AMH assay. *Endocrinology. Diabetes and Metabolism*. 2018;1(4):1-8. https://doi.org/10.1002/edm2.21
22. CLSI EP28-A3c document: Defining Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guideline-Third Edition; 2010; ISBN Number: 1-56238-682-4.
23. ГОСТ Р 53022.3-2008 Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов; ОКС 11.020; дата введения 2010-01-01. GOST R 53022.3-2008 Technologii laboratornye klinicheskie. Trebovaniya k kachestvu klinicheskih laboratornych issledovaniy. Chast' 3. Pravila ozenki klinicheskoi informativnosti laboratornych testov; OKS 11.020; data vvedeniya 2010-01-01. (In Russ.).
24. Mood AM, Graybill F. *Introduction to the Theory of Statistics*. 2nd ed. New York: McGraw—Hill; 1963. ISBN 10: 0070428611/ISBN 13: 9780070428614.
25. Broer SL, Dólleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJ. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2011;17(1):46-54. https://doi.org/10.1093/humupd/dmq034
26. Access AMH Anti-Müllerian hormone (AMH) B13127, Instructions for use, Beckman Coulter, Inc., B15631 K, February 2019.

Поступила 27.12.18
Received 27.12.18
Принята к печати 27.02.19
Accepted 27.02.19

Приложение 1.

Доп. таблица 1. Педиатрические РИ АМГ

Группа	Ед. изм.	Английское исследование*					Инструкция к набору Access AMH				
		возраст	*n*	95% перцентиль			возраст	*n*	95% перцентиль		
				нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ			нижний предел РИ	медиана	верхний предел РИ
						Девочки					
1	нг/мл	0—28 дней	24	0,0003	0,007	0,57	<60 дней	44	0,01	0,16	3,39
2	нг/мл	29—364 дня 1—4,9 года	17	0,01	1,03	5,40			N/A	N/A	N/A
3	нг/мл	5—7,9 лет	42	0,18	2,04	7,11			N/A	N/A	N/A
4	нг/мл	8 лет—11,9 года	42	0,11	1,60	7,19			N/A	N/A	N/A
5	нг/мл	12 лет—14,9 года	47	0,32	2,85	9,54			N/A	N/A	N/A
6	нг/мл	15 лет—18,9 года	33	0,44	2,50	7,75			N/A	N/A	N/A
7	нг/мл		30	0,34	2,96	10,39			N/A	N/A	N/A
						Мальчики					
1	нг/мл	0—2 дня	51	10,18	36,14	88,03	<60 дней	55	15,11	46,94	266,59
2	нг/мл	3—7 дней	45	16,70	68,08	155,75					
3	нг/мл	8—10 дней	14	27,05	78,90	150,45					
4	нг/мл	11—20 дней	37	29,57	73,15	138,30					
5	нг/мл	21—28 дней	26	28,16	70,68	147,81					
6	нг/мл	29—364 дня	66	40,33	92,84	174,00					
7	нг/мл	1—4,9 года	58	39,50	96,76	213,71					
8	нг/мл	5 лет—8,9 года	39	30,97	72,44	148,83					
9	нг/мл	9 лет—11,9 года	49	11,79	53,34	155,39	8—13 лет	39	4,95	56,58	144,48
10	нг/мл	12 лет—14,9 года	36	0,50	9,05	62,25	8—17 лет	40	5,02	26,55	140,06
11	нг/мл	15 лет—18,9 года	48	2,26	7,78	16,85	10—19 лет	40	2,61	8,64	75,90
12	нг/мл						12—18 лет	40	0,43	7,15	20,14
13	нг/мл						11—19 лет	40	1,95	7,00	21,20

Примечание. Адаптировано из H. Jopling, et al [21]: единицы измерения переведены из пмоль/л в нг/мл согласно коэффициенту пересчета, приведенному в инструкции к методу Access AMH [26]: пмоль/л = нг/мл/7,14.