

## **Fertilite Prezervasyonu Sonuçlarını Öngörmeye Antimüllerian Hormon Ve Antral Follikül Sayısının Yeri, Retrospektif Tarama**

### **The Value of Antimüllerian Hormone and Antral Follicle Count in Prediction of Fertility Preservation Results, Retrospective Screening**

Ferruh ACET\* 0000-0003-0628-0368

Volkan EMİRDAR\*\*0000-0003-4973-2563

\* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

\*\* İzmir Ekonomi Üniversitesi, Medical Park Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, İzmir, Türkiye

**Yazışma Adresi: Ferruh ACET**

E-mail: [acetferruh@hotmail.com](mailto:acetferruh@hotmail.com)

Adres: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*Bu çalışma, 17-21 Ekim 2015 tarihlerinde Baltimore, ABD' de düzenlenen Amerikan Üreme Tıbbı Cemiyeti Kongresi' nde poster olarak sunulmuştur.*

Geliş Tarihi: 01/11/2021

Kabul Tarihi: 02/02/2022

#### **Öz**

**Amaç:** Fertilite prezervasyonu (FP) siklus sonuçlarını tahmin etmek için henüz uygun bir strateji belirlenmemiştir. Amacımız, letrozol ve gonadotropinler (LG) ile gerçekleştirilen kontrollü ovarian stimülasyona yanıt olarak elde edilecek oosit sayısı tahmininde antimüllerian hormon (AMH) ölçümleri ve antral follikül sayılarının (AFC) değerini belirlemektir.

**Gereç ve yöntem:** Oosit ve/veya embriyo kriyoprezervasyonu için letrozol ve gonadotropinlerin kombine protokolü ile over stimülasyonu uygulanan meme kanserli yüz elli iki kadın hastanın verileri geriye dönük olarak tarandı. Siklusun ilk 3 gününde serum AMH ölçümü ve ultrasonografi ile AFC sayımı yapıldı.  $\leq 4$  oosit veya  $\leq 2$  embriyo elde edilen hastalar düşük yanıtı olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Hastaların yaş ortalaması  $34,9 \pm 4,5$  idi. AMH, elde edilen oosit sayısı ve dondurularak saklanan embriyo sayısını öngörmeye AFC'den daha iyi korelasyon gösterdi (oosit sayısı için  $r=0,625$ ;  $p<0,001$  vs.  $r=0,38$ ;  $p<0,001$  ve embriyo sayısı için  $r=0,422$ ;  $p<0,001$  vs  $r=0,280$   $p<0,001$ ). ROC eğrisi analizi sonuçlarında, AMH ve AFC normal yanıtı hasta grubunda elde edilen oosit sayısını (AMH; AUC=0.896 ve AFC= 0.815;  $p=0.223$ ) ve elde edilen embriyo sayısını (AMH için AUC=0.847 ve AFC= 0.721;  $p=0.143$ ) öngörmeye benzerdi. AMH cut-off 1,1 kabul edildiğinde, düşük ovarian yanıt için pozitif (PPV) ve negatif prediktif değerler (NPV) sırasıyla %100 ve %20,2 idi. AFC<6 için PPV ve NPV sırasıyla %90,9 ve %50 idi.

**Sonuç:** AMH, AFC'ye göre; meme kanseri tanısı alan, letrozol ve gonadotropin ile fertilite prezervasyonu uygulanacak hastalarda düşük ovarian yanıtı öngörmeye daha güçlü bir belirteçtir. Bu sonuç, kemoterapi öncesi oosit veya embriyo kriyoprezervasyonu uygulanan kadınlara rehberlik etmede faydalı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Anti-müllerian hormon (AMH), meme kanseri, doğurganlığın korunması, antralfollikül sayısı

#### **Abstract**

**Aim:** No suitable strategy has yet been established to predict fertility preservation (FP) cycle outcomes. Our aim was to determine the value of anti-müllerian hormone measurements (AMH) and antral follicle counts (AFC) in estimating the number of oocytes to be obtained in response to controlled ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins.

**Materials and methods:** The data of one hundred and fifty-two female patients with breast cancer who underwent ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins protocol for oocyte and/or embryo cryopreservation were retrospectively reviewed. Serum AMH measurement and AFC count by ultrasonography were performed on the 2nd-3rd day of the cycle. Patients with  $\leq 4$  oocytes or  $\leq 2$  embryos were considered low-response.

**Results:**The mean age of the patients was 34,9±4,5. AMH correlated better than AFC in predicting the number of oocytes retrieved and cryopreserved embryos (for number of oocytes  $r=0,625$ ;  $p<0,001$  vs.  $r=0,38$ ;  $p<0,001$  and for embryo count  $r=0,422$ ;  $p<0,001$  vs  $r=0,280$ ;  $p<0,001$ ). In the ROC curve analysis results, AMH and AFC were similar in prediction to determine the number of oocytes obtained (AMH; AUC=0,896 and AFC= 0,815;  $p=0,223$ ) and the number of embryos obtained (AUC=0,847 and AFC= 0,721 for AMH;  $p= 0,143$ ). When the AMH cut-off was accepted as 1,1; positive (PPV) and negative predictive values (NPV) for low ovarian response were 100% and 20,2%, respectively. For AFC<6, PPV and NPV were 90,9% and 50%, respectively.

**Conclusions:** When compared to AFC; AMH is a stronger marker in predicting low ovarian response in patients with breast cancer who undergo fertility preservation with letrozole and gonadotropin. This result may be useful in guiding women undergoing oocyte or embryo cryopreservation before chemotherapy.

**Keywords:** Anti-müllerian hormone (AMH), breast cancer, fertility preservation, antral follicle count

## Giriş

Meme kanseri görülme insidansı ilerleyen yaşla artmakla birlikte halen doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık teşhis edilen malignitedir (1). Tedavide kullanılan kemoterapötik ilaçlar ve sonrasında hormon reseptör pozitifliği olan hastalarda kullanılan hormonoterapi uygulamaları fertilitiyi olumsuz yönde etkilemektedir. Gelişen radyolojik görüntüleme teknikleri ve tedavi seçenekleri ile sağkalım süreleri uzayan bu hasta grubunda fertilitate prezervasyonu önemli bir konu haline gelmiştir.

Embriyo/ooosit kriyoprezervasyonu, over dokusunun kriyoprezervasyonu ve kemoterapi sırasında gonadotropin salgılayıcı hormon analogları ile geçici ovaryen baskılamanın kullanılması meme kanseri hastalarında doğurganlığı korumak için mevcut seçeneklerdir (2).

Kanser teşhisi sırasında genç meme kanseri hastalarının yaklaşık %50'si tedaviyi tamamladıktan sonra hamile kalmaya isteklidir. Bununla birlikte, meme kanseri hastaları, genel popülasyondan yaklaşık %67 daha düşük oranda, kanserden kurtulan kadınlar arasında da hamilelik şansı en düşük olan gruptur (3). Hormon reseptörü pozitif meme kanserli kadınlarda sıklıkla gonadotoksik kemoterapi ihtiyacı ve adjuvan hormonoterapi ile tanıdan sonra 10 yıla kadar uzayan tedavi süreleri bu bulguların olası açıklamalarıdır. Ayrıca, doktorlar arasında hormonal nedenlerle ilişkilendirilen bir hastalık olan meme kanserli hastalarda gebeliğin olası olumsuz prognostik etkisi ve önceki antikanser tedavilerinin gebelik sonuçları üzerindeki olası olumsuz etkileri hakkında hala genel bir bilgi eksikliği ve yanlış yorumlar bulunmaktadır. Konuyla ilgili mevcut veriler bu endişeyi desteklememektedir ve meme kanseri sonrası gebelik prensip olarak caydırılmamalı ve yakından izlenmelidir.

Bugüne kadar, yaş, folikül stimulan hormon (FSH) ve inhibin B gibi bir dizi over yanıt belirteçleri kullanılmış ve değerlendirilmiştir; bununla birlikte, antral folikül sayısı (AFC) ve anti-müllerian hormon (AMH), gonadotropinlere ovaryen yanıtı tahmin etme açısından en iyi performansı sağlayan iki biyobelirteçtir (4).

Gonadotropin salgılayıcı hormon(GnRH) agonist protokolleri ile tedavi edilen in vitro fertilizasyon(IVF)/intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) hastalarında yapılan bir çalışmada elde edilen oosit sayısını tahmin etmede antral folikül sayısının AMH ile benzer değeri olduğu gösterilmiştir (5). Bir başka metaanaliz; AMH ve AFC'nin hem zayıf hem de aşırı yanıtı tahmin etmede benzer doğruluk seviyelerine ve klinik değere sahip olduğunu göstermiştir (6). Bu raporların aksine, çok merkezli başka bir çalışma, AMH'nin over yanıtını öngörmeye GnRH agonisti ve antagonist sikluslarda AFC' den daha iyi bir belirteç olduğu sonucuna varmıştır (7).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada amacımız, meme kanserli olgularda fertilitate prezervasyonu için letrozol ve gonadotropinler (LG) ile gerçekleştirilen kontrollü ovaryen stimülasyona yanıt olarak elde edilecek oosit sayısı tahmininde anti-müllerian hormon ölçümleri (AMH) ve antral folikül sayılarının (AFC) değerini belirlemektir.

## Gereç ve Yöntem

Bu retrospektif kohort çalışmada, İzmir Medikal Park Tüp Bebek Merkezi'ne fertilitate prezervasyonu için başvuran 152 kadın hastanın verileri tarandı.

Dahil edilme kriterleri; 18 – 45 yaş arası, onkolojik tedavilerden önce oosit/embriyo kriyoprezervasyonu yapılmış, yeni tanı almış Evre 0 – 3 meme kanseri hastaları idi. İleri evre ve/veya metastatik hastalık dışlama kriterleriydi. Ovaryen stimülasyon öncesi tüm hastalardan onkoloji konsültasyonu istendi. Fertilitate prezervasyonu için ilk konsültasyondan sonra, ilgilenen hastalara oosit veya embriyo kriyoprezervasyonu için kontrollü ovaryen hiperstimülasyon uygulandı. Tüm hastalar onkolojik tedavilerinden önce fertilitate prezervasyonu prosedürleri için ve ayrıca bu retrospektif çalışma için bilgilendirilmiş onam verdi. Bu çalışma Ege Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (15.10.2021 21-10T/6). Kontrollü ovaryen stimülasyon, over rezervine göre 150 - 375 IU dozlarında rekombinant FSH (rFSH) ile yapıldı. Letrozol, meme kanseri östrojen reseptör durumundan bağımsız olarak stimülasyon boyunca kullanıldı. Siklus boyunca serum estradiol seviyeleri ve foliküler boyutlar ölçüldü. GnRH antagonisti, folikül çapı 12 mm'ye ulaşır ulaşmaz başlandı ve ovulasyon tetiklenene kadar devam edildi. İki folikülün çapı >18 mm'ye ulaştığında rekombinant hCG enjeksiyonu ile ovulasyon tetiklendi.

Siklusun 2.-3 gününde serum AMH ölçümü ve ultrasonografi ile AFC sayımı yapıldı.  $\leq 4$  oosit veya  $\leq 2$  embriyo elde edilen hastalar düşük yanıtı olarak kabul edildi.

Tüm istatistiksel analizler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v.22.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Hasta gruplarının temel özelliklerini tanımlamak ve karşılaştırmak için tanımlayıcı istatistikler kullanıldı.

Sürekli değişkenlerin normallik varsayımını kontrol etmek için Shapiro-Wilk Normallik testi kullanıldı. Veri dağılımının normalliğine göre bağımsız örnek t testi veya Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. ,05'ten küçük bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

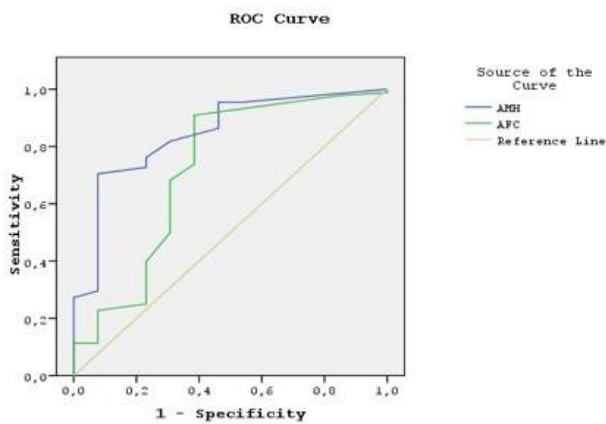
Hastaların ortalama yaşı 34,9±4,5 idi. Tablo 1 de elde edilen oosit sayısı ve dondurulan embriyo sayısı ile AMH VE AFC' nin korelasyonları görülmektedir. AMH, elde edilen oosit sayısı ve dondurularak saklanan embriyo sayısında AFC' den daha iyi korelasyon gösterdi (Tablo 1).

n=152	AMH*	AFC*	pvalue
Elde edilen oosit sayısı	0,625	0,348	0,001
Dondurulan embriyo sayısı	0,422	0,280	0,001

\* AMH: Anti-müllerian hormon  
\*\*AFC: Antralfolikül sayısı

ROC eğrisi analizlerinde, AMH ve AFC, elde edilen oosit sayısı için normal yanıtı ve elde edilen embriyo sayısını tahmin etmede benzerdi (Tablo 2).

**Grafik 1.** Normal yanıtı hastalarda AMH ve AFC için ROC eğrisi analizi



n=152	AMH	AFC	p değeri
AUC oosit	0,896	0,815	0,223
AUC embriyo	0,847	0,721	0,143

AUC: Eğri altında kalan alan  
AMH: Anti mullerian hormon  
AFC: Antralfolikül sayısı

Tablo 3 de her iki belirtecin düşük over yanıtı hastada prediktivite değerleri görülmektedir. AMH cut-off 1,1 için, düşük ovaryen yanıtta pozitif (PPV) ve negatif prediktif değerleri (NPV) sırasıyla %100 ve %20,2 idi. AFC<6 için, PPV ve NPV aynı için sırasıyla %90,9 ve %50 idi (Tablo 3).

n=152	PPV*	NPV**
AMH: 1,1 ng/mL	100%	20,2%
AFC<6	90,9%	50%

PPV: Pozitif prediktivite değeri, NPV: Negatif prediktivite değeri  
AMH: Anti mullerian hormon  
AFC: Antralfolikül sayısı

### Tartışma ve Sonuç

Kontrollü ovaryen stimülasyondan önce stimülasyon sonuçlarının tahmini, meme kanseri hastalarına danışmanlık yaparken klinik olarak anlamlı ve yararlıdır. Biyolojik ve/veya biyofiziksel belirteçler kullanılarak fertilitate prezervasyon sonuçlarının öngörülmesi mümkünse, doktorlar ve hastalar, doğurganlığın korunmasının seçimi, türü ve kemoterapinin ertelenip ertelenmeyeceği konusunda daha bilinçli kararlar vereceklerdir.

IVF tedavisi gören kadınlarda AMH ve AFC'nin ovaryen yanıtı öngörmede benzer düzeyde doğruluk ve klinik değere sahip olduğunu ileri süren çalışmalar vardır (8,9). Bununla birlikte, ovaryen rezervin değerlendirilmesinde bu iki belirtecin benzer performansa sahip olduğu varsayımı, yakın zamanda yapılan üç büyük, çok merkezli çalışma tarafından sorgulanmıştır (10,12). Bu çalışmalar AFC'nin tek başına ovaryen stimülasyona yanıtı öngörmede AMH'den daha zayıf bir prediktivite değeri olduğunu göstermiştir.

Meme kanseri nedeniyle fertilitate prezervasyonu yapılan ve ovulasyon indüksiyonu için letrozol ve gonadotropin kullandığımız bu çalışmamızda AMH'nin ovaryen yanıtı öngörmede AFC'den daha güçlü bir biyobelirteç olduğu bulgusu doğrulandı. AMH, elde edilen oosit sayısı ve dondurularak saklanan embriyo sayısını öngörmede AFC' den daha iyi korelasyon gösterdi. Ayrıca düşük ovaryen yanıtı hastalarda prediktivite değeri AMH için daha yüksek saptandı.

Ultrasonografi ile AFC sayımı, toplam sayıma atretik foliküllerin dahil edilmesi olasılığı nedeniyle gonadotropin stimülasyonuna duyarlı olacak folikül sayısını olduğundan fazla tahmin edebilir (13). Klinik uygulamada, AFC ölçümünün, operatörler arası önemli değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca, ultrasonografi ekipmanının teknik yönleri (örneğin çözünürlük) ve farklı cihazlar AFC ölçümlerinin performansını etkileyebilir (14).

AMH ölçümünün tek merkezi laboratuvarında yapılmış olması çalışmanın gücünü arttıran bir unsurdu. Halen AMH, infertilite hastalarında en iyi over rezerv belirteci olarak kabul edilmektedir. AMH serum seviyeleri nispeten stabil ve tutarlıdır, bu da hiperstimulasyona ovaryen yanıtın adet döngüsünden bağımsız bir belirteci olarak kullanılabileceğini düşündürür.

Çalışmaların büyük çoğunluğu, AMH ve AFC'nin her ikisinin de over stimülasyonuna düşük yanıtı öngörmeye benzer değere sahip olduğunu bulmuştur (15,17). AMH'nin oosit kalitesini öngörmedeki değeri tartışmalı olmasına rağmen, birçok yazar tarafından AMH seviyeleri ile oositlerin kalitesi ve miktarı arasında anlamlı bir pozitif korelasyon bulunmuştur (18,21). Guerif ve arkadaşları serum AMH'nin nicelik açısından değil, nitelik açısından over rezervinin nispeten iyi bir öngörücü göstergesi olduğunu bildirmiştir (22). Bizim çalışmamızda ise bu çalışmaların aksine AMH'nin prediktivite değeri AFC'ye göre daha yüksek saptandı.

Bir meta-analizde AMH'nin infertilite hastalarında AFC ile kötü yanıtı öngörmeye en az aynı doğruluk ve klinik değere sahip olduğunu bildirdi. Ek olarak, veriler AMH seviyeleri ile IVF gebelik oranları arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir (24).

Çalışmamızın retrospektif dizaynı sınırlıdır.

Yapmış olduğumuz çalışmamız fertilite prezervasyonu sikluslarında AMH'nin over stimülasyonuna iyi yanıtı öngörmeye yararlı bir belirteç olduğunu gösterirken, gelecekte AMH'nin fertilite koruma başarısının bir göstergesi olarak duyarlılığını değerlendirmek için daha geniş prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulacaktır.

## References

- National Cancer Institute – Surveillance, Epidemiology and End Results Program. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>. Accessed 7 May 2017
- Lambertini M, Goldrat O, Barragan-Carrillo R, Viglietti G, Demeestere I, Villarreal-Garza C. Viable options for fertility preservation in breast cancer patients: a focus on Latin America. *Rev Invest Clin*. 2017;69:103–13
- Stensheim H, Cvancarova M, Møller B, Fosså SD. Pregnancy after adolescent and adult cancer: a population-based matched cohort study. *Int J Cancer*. 2011;129:1225–36
- La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artesio AC, et al. Antimüllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010;16:113–30.
- Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadam I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count, antimüllerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG* 2005;112:1384–90.
- Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705–14.
- Anckaert E, Smits J, Schiettecatte J, Klein B, Arce JC. The value of antimüllerian hormone measurement in the long GnRH agonist protocol: association with ovarian response, dose adjustments, embryo quality and pregnancy. *Hum Reprod* 2012;27:1829–39.
- Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705–14.
- Broer SL, Dolleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJ. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011;17:46–54.
- Anckaert E, Smits J, Schiettecatte J, Klein B, Arce JC. The value of antimüllerian hormone measurement in the long GnRH agonist protocol: association with ovarian response, dose adjustments, embryo quality and pregnancy. *Hum Reprod* 2012;27:1829–39.
- Arce JC, La Marca A, Klein BM, Andersen AN, Fleming R. Antimüllerian hormone in GnRH antagonist cycles: prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good prognosis patients. *Fertil Steril* 2013;99:1644–53.
- Nyboe Andersen A, Witjes H, Gordon K, Mannaerts B, Xpect investigators. Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment. *Hum Reprod* 2011;26:3413–23.
- Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1986;1:81–7
- Deb S, Campbell BK, Clewes JS, Raine-Fenning NJ. Quantitative analysis of antral follicle number and size: a comparison of two-dimensional and automated three-dimensional ultrasound techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;35:354–60.
- Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. Prospective, comparative analysis of anti-müllerian hormone, inhibin B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010;93(3):855–64.
- Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP. Anti-müllerian hormone as a predictor of IVF outcome. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(5):602–10.
- Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2008;90:737–43.
- Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimüllerian hormone/müllerian-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;82:1323–9.
- Silberstein T, MacLaughlin DT, Shai I, Trimarchi JR, Lambert-Messerlian G, Seifer DB, et al. Müllerian-inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryomorphology. *Hum Reprod*. 2006;21:159–63.
- Cupisti S, Dittrich R, Mueller A, Strick R, Stiegler E, Binder H, et al. Correlations between anti-Müllerian hormone, inhibin B, and activin A in follicular fluid in IVF/ICSI patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes. *Eur J Med Res*. 2007;12:604–8.
- Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod*. 2009;24:867–75.
- Guerif F, Lemseffer M, Couet ML, Gervereau O, Ract V, Royere Serum antimüllerian hormone is not predictive of oocytes quality in vitro fertilization. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2009;70(4):230–4
- Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod*. 2009;24:867–75
- Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril*. 2009;91:705–14.