

Relationship between anti-Mullerian hormone levels and ovarian structures and oocyte reserve of mares and cows

E. Angyal^{1,4}, B. Somoskői^{2,3}, D. Török^{2,3},
L. Bordás^{2,3}, S. Cseh²,
G. Novotniné Dankó^{1,4}, B. Vincze^{2,3*}

1. Debreceni Egyetem,
Mezőgazdaság-,

Élelmiszertudományi és
Környezetgazdálkodási Kar,
Állattudományi, Biotechnológiai
és Természetvédelmi Intézet,
Állattenyésztési Tanszék
H-4032, Debrecen
Böszörményi út 138.

2. Állatorvostudományi Egyetem,
Andrológiai és Asszisztált
Reprodukciós Kutatócsoport,
Szülészeti Tanszék és Haszonállat-
Gyógyászati Klinika

3. Embrió Átültető Állomás,
Állatorvostudományi Egyetem

4. Debreceni Egyetem,
Állattenyésztési Tudományok
Doktori Iskola

*e-mail: vincze.boglarka@univet.hu

Az anti-Müller-hormon (AMH) mennyiségének összefüggése a petefészekképletekkel és a petesejttartalék kimerülésével kancában és tehénben

Angyal Eszter^{1,4}, Somoskői Bence^{2,3}, Török Dóra^{2,3}, Bordás Lilla^{2,3},
Cseh Sándor², Novotniné Dankó Gabriella^{1,4}, Vincze Boglárka^{2,3*}

ÖSSZEFOGLALÓ

Nőknél a gyermekvállalási idő kitolódásával az anti-Müller-hormonszint mérésének jelentősége egyre inkább felértékelődik a meddőségi kivizsgálásban. Információt nyújt a petefészek-tartalék nagyságáról, azaz a rendelkezésre álló tüsző- és petesejttartalékokról, továbbá segítségével a korai menopauza előfordulási valószínűsége is megbecsülhető. Kancáknál és tehénknél azonban jóval kevesebb kutatást végeztek e téren, noha a hatékony reprodukció szempontjából kulcsfontosságúak lennének ezek a vizsgálatok. Az asszisztált reprodukciós technikák segítségével a szaporodási teljesítmény optimalizálható, ám ezek eredményessége nagymértékben függ az adott egyed jellemzőitől, így az állatok szigorú szelekciója kiemelten fontos ezen technikák alkalmazását megelőzően. Jelen közleményben a szerzők összefoglalják a hormon élettani szerepét, a petefészek-tartalék kapacitásával és az életkorral való összefüggéseket, valamint ismertetik a biomarkerként való alkalmazhatóság lehetőségeit.

SUMMARY

The main role of AMH is to induce the regression of the Mullerian duct during the male sexual differentiation. However, in females, AMH is not expressed during the period of sexual differentiation, this guarantees the proper development of the female genital tract. In women and female animals, AMH expression can be detected in the granulosa cells of early primary, preantral and small antral follicles after birth. AMH regulates the follicle number and selection of the dominant follicle during follicular waves. In the postnatal ovary, AMH plays a key role in the recruitment of primordial follicles by preventing these follicles from joining the pool of growing follicles before the selection process. Thus, AMH prevents premature exhaustion of the ovarian follicle reserve.

Nowadays anti-Mullerian hormone is the subject of several research in human reproductive biology, due to the fact that it is an indicator of fertility and reproductive ageing. In the case of domestic animals, research in this direction is especially important because fertility is often identified as the primary factor that hinders the efficiency of livestock systems. It is important to emphasize that the effectiveness of assisted reproduction techniques depends to a large extent on the physiological parameters of the individual, such as the antral follicle population (AFP) of the ovary. In this way, the efficiency of assisted reproduction techniques can be greatly diminished by the great variability in the number of antral follicles of the donors. AMH seems to be useful endocrine marker to estimate ovarian reserve capacity. The aim of this study was to summarize the physiological functions of AMH and its correlation with ovarian reserve capacity and age.

SZAPORODÁS-
BIOLÓGIA

Az anti-Müller-hormon (AMH) jelenlétét a 20. század közepe után ismerték fel. ALFRED JOST francia endokrinológus fedezte fel a hormont 1953-ban [1]. A hormon a hím szexuális differenciációban betöltött szerepéről kapta a nevét, ugyanis eredetileg hímnemű nyúlmagzatokban olyan testicularis faktorként azonosították, amely különbözik a tesztoszterontól és a Müller-cső regresszióját idézi elő [2]. Az AMH-t első ízben PICON jellemezte részletesebben és először szarvasmarha magzati hereszövetből állítottak elő tisztított AMH-t [1].

*Az anti-Müller-hormont
1953-ban írták le hím
nyúlmagzatokban*

*Az AMH fő szerepe
a Müller-cső
regressziójának
indukálása a
hím irányú nemi
differenciálódás során*

Az anti-Müller-hormon, amely Müller-gátló anyag (Mullerian inhibiting substance, MIS) néven is ismert, biokémiai szerkezetét tekintve glikoprotein hormon [1]. Molekulasúlya 140 kDa, felezési ideje 1,5 nap [1]. Az inhibinekkel, aktivinekkal, csont morfogenetikus fehérjékkel (BMP-k), valamint a növekedési-differenciálódási faktorokkal (growth/differentiation factor, GDF) együtt az AMH a TGF β (transforming growth factor β) szuperfamilia része. A szuperfamilia sorolható molekulák funkciója széles skálán mozog, szerepet játszanak a mesenchymalis-epithelialis kölcsönhatásokban, a sejtnövekedésben, az extracelluláris mátrix termelésében és a szövetek átépülésében. Ellentétben a család többi tagjával, amelyek számos szövetben többféle hatást fejtenek ki, az AMH fő szerepe a Müller-cső regressziójának indukálása a hím irányú nemi differenciálódás során [3]. Az AMH-t emlősökönél kizárólag a hím és a nőstény gonadális szomatikus sejtek expresszálják. Alapvető funkciója hímeknél tehát a Müller-csőből (ductus paramesonephricus) kiinduló képletek fejlődésének gátlása a magzati korban lejátszódó ivari differenciáció során [4]. Nőivarban a szexuális differenciálódás időszakában az AMH nem expresszálódik, ez biztosítja a női nemi traktus megfelelő fejlődését [5]. Nőknél és nőstény állatoknál az AMH expressziója a születést követően a korai primer, preantralis és kicsi antralis tüszők granulosa-sejtjeiben mutatható ki [4].

AZ AMH ÉLETTANI SZEREPE

*Nőstényekben az
AMH-szekréció
kezdeté a petefészek
tüszőnövekedési
hullámainak
kialakulásához köthető*

Az AMH-szekréció kezdete a petefészek tüszőnövekedési hullámainak kialakulásához köthető. Az AMH-expresszió a primordialis, elsődleges és másodlagos tüszőkben éri el maximális szintjét, majd koncentrációja a domináns folliculus szelekciójakor csökkenésnek indul, az atretikus tüszőkben pedig már nincs jelen. Az AMH szabályozza a tüszők számát és a domináns tüsző szelekcióját a tüszőnövekedési hullámok során [1]. A postnatalis petefészekben az AMH kulcsszerepet játszik a primordialis tüszők kiválogatódásában (recruitment) azáltal, hogy a szelekció folyamata előtt megakadályozza azt, hogy ezek a tüszők csatlakozzanak a növekedésnek induló tüszők csoportjához. Így az AMH meggátolja a petefészek tartalék korai kimerülését. Ezen kívül az AMH a tüszőfejlődést is szabályozza olyan módon, hogy csökkenti a preantralis tüszők FSH-érzékenységét [4]. Ennek hátterében az áll, hogy az AMH a gonadotropinfüggő kisméretű antralis tüszőkben elnyomja az FSH-receptorokat, ezáltal a növekvő tüszőkben AMH jelenlétében a granulosa-sejtek FSH-érzékenysége csökken. De CLEMENTE és mtsai az AMH-nak a follicularis fejlődésben és érésben betöltött szabályozó szerepet tulajdonítottak [6, 7]. Az AMH késlelteti az aromatáz enzim expresszióját, valamint a granulosa-sejtek felszínén az LH-receptorok elnyomását. Ezek a folyamatok szerepet játszanak a meiotikus osztódás első profázisában történő megkezdésében, ami a pubertásig tart, ezt követően az oogenezis folytatódik.

*Az AMH szabályozza
a tüszők számát
és a domináns
tüsző szelekcióját
a tüszőnövekedési
hullámok során*

Összefoglalva, az AMH nőivarúaknál két fontos szerepet tölt be:

1. egyrészt gátolja a petefészek tüszőkészletében a primordialis tüszők növekedését, ezáltal elkerülhető a follicularis tartalékkapacitás idő előtti kimerülése,
2. másrészt csökkenti a preantralis és kisméretű tüszők FSH-érzékenységét, így befolyásolva a tüszők fejlődését [1].

Az AMH a közelmúltban, mint potenciális reprodukciós biomarker került az érdeklődés középpontjába [1].

A PETEFÉSZEK TARTALÉKKAPACITÁSA

AZ AMH a fertilitás és a reprodukció öregedés indikátora, továbbá segítségével megbecsülhető a petefészek tüszőpopulációinak száma

Az AMH manapság számos kutatás tárgya annak köszönhetően, hogy a fertilitás és a reprodukció öregedés indikátora, továbbá segítségével megbecsülhető a petefészek tüszőpopulációinak száma nőknél, ill. emlősállatoknál is, beleértve a kérődzőket és a lovakat is [8].

Az öregedés élettani folyamat, amely káros hatással van a szaporodóképességre. A kancák reprodukció öregedése csökkent fertilitással jár, amely számos tényező eredményeként alakul ki, beleértve a méh késleltetett öntisztulási mechanizmusát, a petesejtminőség romlását, valamint a korai embrionális mortalitást. Sok esetben azonban az idősebb kancák tenyésztésére mutatkozik igény a genetikai értékük és/vagy teljesítményük miatt. Az idős kancák szaporodásának optimalizálása érdekében fontos, hogy az állatorvos átfogó ismeretekkel rendelkezzen arra vonatkozóan, hogy mely reprodukciós paraméterek mikor és hogyan változnak az életkor előrehaladtával [9, 10].

A női reprodukció életszakaszra vonatkozó mai tudás szerint a petefészekben korlátozott számú petesejt áll rendelkezésre, amelyek száma az életkor előrehaladtával csökken. Tehát a nők, ill. a nőivarú állatok meghatározott primordialis tüszőkészlettel, azaz petesejtraktárral jönnek a világra [8]. A primordialis tüszők kisméretű, nem növekvő, úgynevezett nyugvó tüszők, amelyek meghatározzák a petefészek tartalékkapacitását, ill. termékenységi potenciálját [11]. A petefészekben a tüszőtartalékok a magzati periódusban jönnek létre és számuk már a születést megelőzően csökkenésnek indul, hiszen olyan apoptotikus folyamatok zajlanak már ekkor, amelyek a tüszők atresziáját eredményezik. A nem növekvő tüszőkészlet nagysága, amely magában foglalja a primordialis, átmeneti és kis primer tüszőket, egyedenként és fajonként is nagymértékben változó, ill. korfüggő. A nyugvó tüszők születéskori száma átlagosan 520 000 emberben és 150 000 szarvasmarhában. Kancáknál ezidáig nem végeztek becsléseket arra vonatkozóan, hogy mekkora a születéskori petesejtszám. Felőttkorban az oocyták száma nőknél 0 és 800 000 között (átlagosan 130 000), szarvasmarhánál 3000 és 150 000, kancáknál 5600 és 75 000 között mozog. A petefészek-tartalék egy adott időpontban a petefészekben megtalálható tüszők teljes számát jelenti, amelyet csak *post mortem* lehet pontosan elbírálni, hiszen az antralis stádiumot megelőzően a tüszők mérése klinikai módszerekkel nem lehetséges [26]. Az életkor előrehaladtával a petesejtek megfogyatkozása, ill. öregedése a fertilitás csökkenéséhez vezet. Az AMH-t a tüszők szekretálják, így az a petefészken jelenlévő tüszők számának mutatójaként használható [8].

MENOPAUZA, ILL. HÁZIÁLLATOKNÁL A PETEFÉSZEK TARTALÉKKAPACITÁSÁNAK KIMERÜLÉSE

A petesejtek száma fokozatosan csökken az egyed reprodukciós élettartama során

A reproduktív öregedés a női termékenység életkorral párhuzamos csökkenését jelenti. Ennek hátterében a növekvő tüszők számának csökkenése áll, amely a primordialis tüszőkészlet kimerüléséből adódik [12]. A legtöbb eddig vizsgált emlősfajról elmondható, hogy a nőtények változó nagyságú petesejt-populációval születnek és az oocyták száma fokozatosan csökken az egyed reprodukciós élettartama során, egészen a menopauza, ill. a reprodukció öregedés kezdetéig [9, 13, 14]. A menopauza kizárólag embereknél használt kifejezés, amely a menstruáció végérvényes elmaradására [15, 16], tehát a reproduktív élet befejeződését jelzi. A termékenység csökkenése azonban jóval korábban, 20 évvel a menopauza előtt kezdődik és 10 évvel a menopauza előtt a fogamzóképeség már rendkívül gyenge [12]. A menopauza kezdete egyénenként jelentősen eltér, amely arra utal, hogy a primordialis tüszők kiindulási mennyisége, ill. a tüszővesztés üteme között számottevő egyéni különbségek vannak [17].

*Kancáknál a petefészek
kimerülésének
becsült időpontja 25
éves korra tehető*

A menopauza kifejezés azonban nem alkalmazható más fajok, így lovak esetében sem. E folyamat háttérében tulajdonképpen a petefészek hormontermelésének csökkenése, majd fokozatos megszűnése, valamint a petesejtek számának csökkenése áll. Az oocyták számának megfogyatkozása már a magzati korban elkezdődik és a pubertást követően fokozatos csökkenés jellemző. Ez a biológiai folyamat kancáknál is megfigyelhető. Kancáknál a petefészek kimerülésének becsült időpontja 25 éves korra tehető. Továbbá, a 20 évnél idősebb kancák körülbelül 17%-ánál már nem következik be ovuláció [16].

A petesejtek száma tehát egyedenként változó, valamint a tekintetben is megfigyelhetők egyedi különbségek, hogy a petefészek tartalékainak kimerülése milyen életkorban kezdődik meg, ez utóbbi összefüggésben áll a fertilitás csökkenésével. Ezért a nőivarúak reprodukciós és kronológiai életkora eltérő lehet, hiszen néhány egyednél a petefészek tartalékkapacitásának megfogyatkozásával összefüggő fertilitáscsökkenés már fiatalabb életkorban bekövetkezhet. Nincs adat arra vonatkozóan, hogy a kancák születésekor hány petesejt található a petefészekben, azonban a 2–4 éves kancák primordialis tüszőinek teljes száma körülbelül 35 000, azonban az állatok között nagy egyedi különbségek vannak. Bár ez a szám nagynak tűnik, összességében mégis kisebb, mint a szarvasmarhánál végzett hasonló becslések során kapott eredmény (120 000). Tehát elmondható, hogy a kancák petefészkeinek tartalékkapacitása kisebb, és nagyobb változékonyságot mutat, mint más háziállatoknál. Mivel a kanca reprodukciós élettartama a legtöbb háziállatfajénál hosszabb, a petefészek-tartalék idő előtti kimerülése jelentős problémát jelent. Az emberhez hasonlóan a reprodukciós öregedés lovaknál is végbemegy, amelyet egyre hosszabb follicularis fázisok, csökkent ovulációs ráta, a termékenység csökkenése és végül az ivari ciklusok leállása jellemez. Bár az életkorral összefüggő változásról van szó, klinikai tapasztalatok szerint a reprodukciós öregedés kezdete kancánként jelentősen eltérhet és néhány állatnál már 10–12 éves korban kezdetét veszi [9, 14].

AZ AMH ÉS AZ ÉLETKOR KAPCSOLATA

Az életkor jelentős meddősségi problémát jelent embereknél, hiszen a korrallal spontán fogamzás esélye számottevően csökken. Kancáknál az életkor előrehaladtával szintén felmerül az előbb említett nehézség. A kancák nagy részének háta mögött általában többévnnyi sportpályafutás áll mire vemhesítik őket, miközben a fertilitás a kancák életkorának előrehaladtával csökken. Kiszámították, hogy amennyiben a fertilitás 10%-os csökkenése lenne az a küszöbérték, amely felett a kancákat kizárják a tenyésztésből, a kilenc évnél idősebb kancákat nem lehetne továbbtenyésztés céljából megtartani. A lótenyésztésben az ovum pick-up – intracitoplazmatikus spermiuminjekciót és embrióátültetést alapvetően idősebb kancáknál alkalmazzák [18, 19]. Azáltal, hogy a kinyert embriót egy fiatalabb, egészséges recipiens kancába ültetik át, csökkenthetők az életkorral összefüggésbe hozható kedvezőtlen anyai hatások. Kancáknál a szaporító szervrendszer működési zavara, a petefészek tartalékkapacitásának kimerülése és a petesejtek romló minősége mind olyan életkorral összefüggő tényezők, amelyek jelentősen befolyásolják a fertilitást. A szaporító szervrendszer károsodása fokozatosan megy végbe, a kancák életkorának előrehaladtával megnő az endometrialis ciszták és petevezetőben kialakuló szövetszaporulatok előfordulási valószínűsége. Ezek úgy járulnak hozzá a fertilitás csökkenéséhez, hogy akadályozzák a petesejt, ill. az embrió mozgását. A kancák paritásával összefüggésben súlyos endometrialis fibrosis is megfigyelhető, az erek fokozott elastosisával és egyéb kórszöveti elváltozásokkal együtt [15]. A keringő AMH-t, mint a petefészekműködés markerét, sokszor az anyai életkorral összefüggésben vizsgálják. Az eddigi kutatások szerint idős (16–27 éves) kancáknál szignifikánsan kisebb AMH-koncentráció mér-

*Sportlovak
esetében több éves
versenyidőszak előzi
meg a vemhesítést,
amikorra a fertilitásuk
már jelentősen
lecsökkenhet*

A petefészek tartalékkapacitása és a vérben keringő AMH-szint közötti szoros korreláció figyelhető meg idősebb kancákban

hető, amely párhuzamba állítható a petefészek tüszőkészletének csökkenésével. Továbbá megfigyelték, hogy a petefészek tartalékkapacitása és a vérben keringő AMH-szint közötti korreláció szorosabb volt az idősebb kancáknál. Ugyanakkor a fiatal és középkorú kancáknál pozitív korrelációt találtak a kinyert petesejtek száma és a mért AMH-koncentrációk között [4]. Kancacsikók vizsgálata során azt állapították meg, hogy az élet első két évében az AMH-koncentráció meglehetősen állandó. Annak ellenére, hogy emlősöknél a korral fokozatosan csökken a tüszők száma, az AMH-szint csak 20 éves kor után kezd el jelentősen csökkenni, azt követően viszont igen gyors visszaesés észlelhető. Az AMH-koncentrációt 5 éves intervallumokban vizsgálva azt tapasztalták, hogy 5–15 éves kor között jelentősebb növekedés következett be, mint 5 éves kor előtt. Az AMH koncentrációváltozása a kancák élete során nagyon hasonló a nőknél megfigyelhető mintázathoz. Nőknél ugyanis a hormonszint szintén 15 év körül éri el a maximumát és 20 éves kor táján kezd el csökkenni. Tehát akárcsak a nőknél, az AMH időződő kancáknál is a petefészek öregedési markerének tekinthető, ám fontos megjegyezni, hogy 20 éves kor előtt nem feltétlenül tükrözi vissza pontosan a petefészek tartalékkapacitását. Továbbá, amennyiben az AMH-szint csökkenése 20 éves kor után valóban a petefészek kimerülését jelzi, ennek nyilvánvalóvá válásakor az öregedés mértéke nem fokozatos, hanem nagymértékben felgyorsult. Hasonló tendencia figyelhető meg nőknél is a változókor bekövetkeztével. Az 5–15 év között tapasztalható AMH-szintemelkedés hátterében álló egyik lehetséges ok, hogy a kancák reprodukciós életének közepén a változatlan számú tüszők AMH-szekréciója intenzívebb. A másik lehetséges magyarázat, hogy ez idő alatt több tüsző van a petefészekben, így a hormontermelés is megnő [8].

A KANCA MINT A REPRODUKCIÓS KUTATÁSOK MODELLÁLLATA

A reprodukciós öregedés vizsgálata és az asszisztált reprodukció egyre fontosabb szerepet töltenek be a humán gyógyászatban [20]. Az asszisztált reprodukciós technikákat (ART) széles körben alkalmazzák a meddőség kezelése céljából, a nyugati világban ez a probléma minden hetedik párt érinti. A fogamzás esélye 20 és 30 év közötti nőknél a becslések szerint 21–28% ciklusonként és ez a valószínűség az anyai életkor előrehaladtával csökken. Azonban a gyermekvállalási kor jelentősen kitolódott. A humán ART fejlesztése érdekében új technológiákra és kutatási programokra van szükség. Ugyanakkor etikai megfontolásokból a humán embriókísérleteket számos korlátozás akadályozza, ezért az új technológiák értékelése sokszor nem lehetséges. Emiatt az állatmodellek kulcsszerepet töltenek be a humán ART fejlődésében [15]. Ezek a modellek betekintést engednek a tüszők működésébe, a petesejtek érési folyamatába és a reprodukciós öregedés során lejátszódó jelenségekbe. A modelleket azonban gyakran az élettani vagy funkcionális hasonlóságoktól eltérő szempontok alapján választják ki [20].

A kancáknak számos olyan tulajdonságuk van, amelyek alkalmassá teszik emberi modellállatnak

Bár a laboratóriumi állatok szerepe ebből a szempontból jelentős, ezek az állatok rövid élettartamúak és rendszerint termékenyek. Az ivarsejtképződés tanulmányozására az egérmodell tűnik a legmegfelelőbbnek, ugyanakkor egereknél a gametogenezis hatékonysága nagyban eltér a humán viszonyoktól [15, 16].

Bár a kanca ezidáig korlátozott figyelmet kapott ilyen tekintetben, a fajok közötti összehasonlítások szerint a kancáknak számos olyan tulajdonságuk van, amelyek alkalmassá teszik modellállatnak. A faj szaporodási szervrendszerének anatómiája, ivari ciklusának hosszú follicularis fázisa, valamint az, hogy egyetlen domináns tüsző jut el az ovulációig, megfelelő alapot biztosít a petesejtek és a tüszőfejlődés tanulmányozásához. Ahogy a kanca idősödik, a hormonális és az ivari ciklussal kapcsolatos folyamatok átalakulása nagyon hasonló a korosodó nőknél tapasztalható változásokhoz.

**A reprodukciós
öregedés első jele
mindkét fajnál az ivari
ciklus lerövidülése, ill.
a keringő FSH-szint
megemelkedése**

**A lovak megfelelő
modellnek bizonyultak
a tüszőfejlődés
és a petesejtek
öregedésének
tanulmányozására**

**Szarvasmarhánál az
AMH-koncentráció, ill.
az antrális tüszőszám
számos termékenységi
paramétert képes
előre jelezni**

A reprodukciós öregedés első jele mindkét fajnál az ivari ciklus lerövidülése, ill. a keringő FSH-szint megemelkedése. Ezt követően a ciklusok egyre hosszabbá válnak, ovulációk csak időszakosan jelentkeznek és az FSH, valamint az LH koncentrációja megemelkedik. Végül a reprodukciós időszak a tüszőnövekedési hullámok megszakadásával és a gonadotropinok szintjének megemelkedésével ér véget, amely jelenségek hátterében a petefészek kimerülése áll [20].

Lényeges továbbá, hogy a lovak hosszú élettartamú háziállatok, amiket jellemzően idős korukig tenyésztnek. A legtöbb lovat versenysportra vagy hobbicélból tenyésztik és szaporításra csak akkor kerül sor, amikor az állatok befejezték pályafutásukat, legyen szó akár sportlovakról (lóversenyzés, díjugratás, díjlovaglás, military stb.), akár kedvtelésből tartott lovakról (lovasiskolák, lovasklubok, lovas turizmus stb.). A kancák reprodukciós funkciói, nőkhöz hasonlóan, 20 éves koruk után kezdenek megváltozni. További hasonlóság, hogy kancáknál is egyre gyakrabban problémát jelent a túlsúly és elhízás. Amennyiben az adott fajta tenyésztői szervezete engedélyezi, az asszisztált reprodukciós eljárásokat az értékes meddő és/vagy idős kancák tenyésztése céljából alkalmazzák, annak ellenére, hogy idősebb állatok tenyésztése esetén a genetikai előrehaladás jelentősen lassul [15]. Tehát azt lehet mondani, hogy ezen technikák alkalmazásakor a fő célkitűzés kancáknál is a meddőség kezelése, csakúgy, mint nőknél.

Az eddigi kutatások alapján a lovak megfelelő modellnek bizonyultak a tüszőfejlődés és a petesejtek öregedésének tanulmányozására és minden bizonnyal szélesebb kutatási körben is megfelelő modellállatként szolgálnának [15].

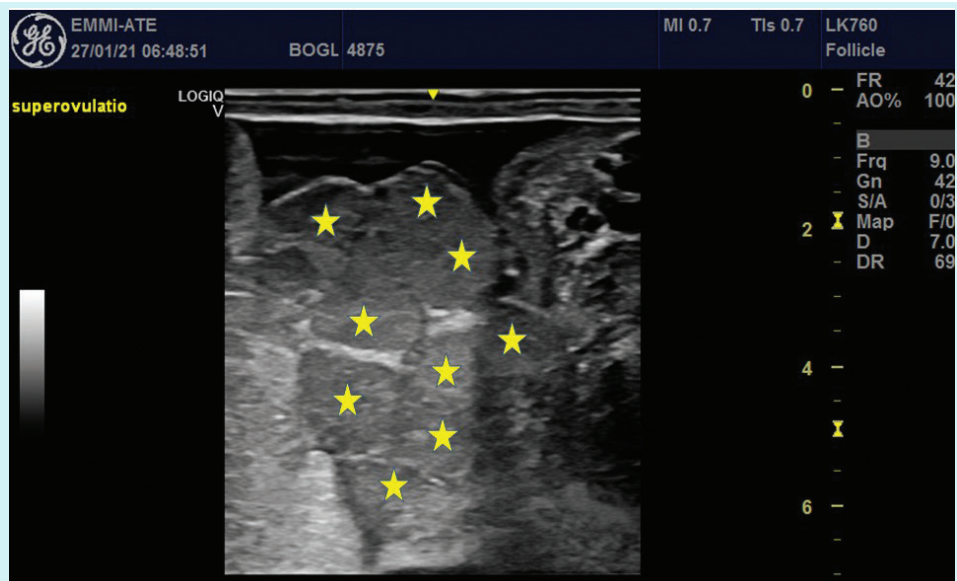
AZ AMH MINT A SZUPEROVULÁCIÓS KEZELÉSRE ADOTT VÁLAŠZKÉSZSÉG, AZ EMBRIÓ-ELŐÁLLÍTÁS, A HASZNOS ÉLETTARTAM ÉS A TERMELÉKENYSÉG ENDOKRIN MARKERE KÉRŐDZŐKNÉL

Szarvasmarhánál az eddigi kutatások eredményei azt mutatják, hogy az AMH-koncentráció, ill. az antrális tüszőszám (antral follicle count, AFC) alkalmas számos termékenységi paraméter előrejelzésére, ideértve a szuperovulációs válaszkésztséget, a perifériás progeszteron-koncentrációt, az *in vitro* embriótermelést, a vemhesülési arányt és a tejelő tehének hasznos élettartamát [14].

Szarvasmarhánál az FSH-val indukált szuperovuláció során mutatkozó nagy egyedi eltérések jelentik az *in vivo* embrióelőállítás fő limitáló tényezőjét (1. ábra).

1. ÁBRA. Szuperovuláltatott tehén petefészkének ultrahangképe Legkevesebb 9 sárgatesttel (GE Logiq V2 ultrahangkészülék, endorectalis fej, 7,5 MHz)

FIGURE 1. Ultrasonographic scan image of a cow after superovulation
At least 9 corpora lutea are visible (GE Logiq V2 ultrasound, endorectal probe, 7.5 MHz)



Embernél és egégnél az AMH a petefészektartalék legjobb hormonális markerének tekinthető, míg szarvasmarhánál az AFC indirekt markereként használják, hiszen összefüggést mutat a morfológiailag egészséges tüszők és petesejtek számával [21]. IRELAND és mtsai azoknál a fiatal felnőtt szarvasmarhánál, amelyeknél folyamatosan alacsony AFC-szintet mértek, azt figyelték meg, hogy az ivarmirigyek kisebbek voltak, a petefészekük tartalékkapacitása is jelentősen kisebb volt és egyéb olyan fenotípusos jellemzőket is észleltek, amelyek a petefészek öregeedésével és a meddőséggel hozhatók összefüggésbe [2, 22, 23]. A kevés AFC-vel rendelkező szarvasmarhákra krónikusan magas FSH-szekréción is jellemző volt, ami deszenzitizációhoz vezet, ill. a granulosa-sejtekben bekövetkezhet az FSH leválása az FSH-receptorokról. Ez megmagyarázhatja, hogy az alacsony AFC-szinttel rendelkező szarvasmarhák granulosa-sejtjei miért refrakterek az FSH-ra. Ezeknél az egyedeknél az AMH-szekréción kisebb mértékű, mint azoknál az állatoknál, amelyekre nagyobb AFC jellemző. Ezen túlmenően a granulosa-sejtek refrakter állapota legalább részben megmagyarázhatja, hogy a kis petefészek-tartalékkal és emellett krónikusan magas FSH-szekréciónal rendelkező szarvasmarhák és nők miért reagálnak gyengén az FSH-stimulációra az ART alkalmazása során [2].

A kevés AFC-vel rendelkező teheneknél krónikusan megemelkedett FSH-szint mérhető

Tehát szarvasmarhánál a kevés AFC-vel rendelkező teheneknél krónikusan megemelkedett FSH-szint mérhető, ez pedig a tüszőfunkció zavarával hozható összefüggésbe. Ezen állatoknál a tüszőfunkcióban bekövetkezett változások közé tartozik a granulosa-sejtek megnövekedett aromatazexpressziója, az intrafollicularis ösztadiol-koncentráció emelkedése, a theca-sejtek csökkent androgénszintézise és a petesejtek minőségének romlása is. Az oocyták minőségromlása részben az aneuploidia gyakoriságának növekedésével függ össze. Az alacsony AFC-vel rendelkező tehenek petesejtjeinél háromszoros volt az aneuploidia előfordulási gyakorisága az *in vitro* meiosis követően, az azonos életkorú, magas AFC-vel rendelkező kontrollállatokból származó petesejtekhez képest. A follicularis környezet átalakulásán és a petesejt minőségének csökkenésén kívül a kevés AFC-vel rendelkező szarvasmarhánál a sárgatestműködés megváltozását is leírták, amely a keringő progeszteron koncentrációjának csökkenését eredményezte [2, 14, 22].

Tehát az AMH-t a petefészekben található tüszőpopulációk endokrin markereként is vizsgálták, továbbá szarvasmarhánál a szuperovulációs kezelésre adott válaszreakció előrejelzésére is alkalmas lehet. Mindemellett az AMH a kisméretű antralis, gonadotropin-reszponzív tüszők megbízható endokrin markerének bizonyult. Pozitív korrelációt figyeltek meg a plazma AMH-szintje és a következő paraméterek között: 1) a donor által termelt embriók száma, 2) a nagyszámú embriót előállító donork szelekciója és 3) a stimulációra jobban reagáló donork kiválasztása. Tehát szarvasmarhánál a plazma AMH-koncentrációja a petefészek aktivitásának és a nagyszámú embriót előállítására vonatkozó kapacitásának markere. Az AMH akár már 2–4 hónapos borjaknál is jól alkalmazható marker a jó minőségű petesejteket előállító donork szelekciójában. A legjobb embriódonor tehenek szelekciójához az AMH-szint mérését az ösztrozs ideje alatt vagy az ösztrozs ciklust követő 12. nap után javasolt elvégezni. Az ELISA-vizsgálat lehetővé teszi az AMH-szint mérését és segítségével megállapítható olyan határérték, amely alapján szelektálhatók a hormonális stimulációra gyengén reagáló tehenek. Kérdődőknek az AMH-szint meghatározására a szarvasmarhára, juhra és kecskére kidolgozott BOC (bovine-ovine-caprine) ELISA hatékonyabbnak bizonyult, mint az anti-Müller-hormon/AMH ELISA. Soquila és mtsai vizsgálataik alapján azt a következtetést vonták le, hogy kizárhatók azok a gonadotropinnal stimulált tehenek, amelyeknél kevesebb, mint 15 nagy tüsző fejlődött az ivarzás során és az AMH-szintjük 87 pg/ml alatti volt, valamint azok az egyedek is, melyek esetében az AMH-koncentráción 74 pg/ml-nél kisebb volt, ill. melyek a MOET-program keretében 10-nél kevesebb embriót produkáltak [21]. Rico és mtsai is megállapították a keringő AMH-szintre vonatkozó határértékeket (alsó határérték 75, felső 80 pg/ml), amely

Tehenekben a plazma AMH-koncentrációja a petefészek aktivitásának és az embrió-előállítás kapacitásának markere

Az AMH-szint a csökkent ovarialis tartalékkal összefüggő gyengébb fertilitás felismerésére is használható

alapján kizárhatók a petefészekstimulációt követően kisszámú embriót termelő tehenek [24, 25]. Habár a jó és a rossz embriódonorok felismerése lehetséges, VERNUNFT és mtsai elvetik a küszöbértékek használatát a tehenek OPU-ra való alkalmasságának elbírálására, mivel azt tapasztalták, hogy az AMH-szintek és az egyes OPU-IVF-programok sikeressége között túl kicsi volt a korreláció [26]. Fontos kihangsúlyozni, hogy nőknél és háziállatoknál az AMH-szint inkább a petefészek gonadotropin-stimulációra adott válaszkészségét vetíti elő, mint a donor spontán embriótermelő képességét [4].

Az AMH-szint a csökkent ovarialis tartalékkal összefüggő gyengébb fertilitás felismerésére is használható, hiszen ilyen esetekben az AMH koncentrációja kicsi [21]. Emellett az AMH-koncentráció használható a tejelő üszők hasznos élettartamának és termelékenységének mutatójaként is, így az AMH-szint fontos elő-rejelzője lehet az állomány élettartamának [21].

Figyelemre méltó megállapítás, miszerint az AMH-szintet és/vagy az AFC-t a szaporodáshoz nem szorosan köthető tényezők is jelentősen befolyásolhatják. Szarvasmarhánál és juhnál az anyaállat alultápláltsága a vemhesség első harmadában negatív hatást gyakorol az utódok antralis tüszőszámára. Továbbá azt is megállapították, hogy azoknak az üszőknek alacsonyabb az AMH-szintje, melyek krónikus (klinikai és szubklinikai) tüdőgyulladásban szenvedő anyaállattól származnak, mint az egészséges tehenektől származó társaiké. BROMFIELD és SHELDON *in vivo* (egéretefészek) és *ex vivo* (szarvasmarha-petefészek) vizsgálatok során bebizonyították, hogy az *E. coli* lipopoliszacharidok (LPS) lecsökkentik a primordialis tüszőkészlet nagyságát [27]. Ezenfelül genetikai tényezők is befolyásolhatják az AFC-t és az AMH-szintet [28]. Érdekes megfigyelés, hogy a Jersey fajta egyedénél nagyobb AMH-koncentráció mérhető, mint a Holstein-Jersey keresztezett állományoknál, ill. a keresztezéssel létrehozott fajták AMH-szintje magasabb, mint a tisztavérű Holstein egyedeké. Továbbá húshasznú üszőknél szignifikánsan nagyobb AMH-koncentráció mérhető, mint a tejhasznú üszőknél [21].

AZ AMH SZAPORODÁSBIOLÓGIAI ALKALMAZHATÓSÁGA KANCÁKNÁL

A tüszőpopulációk értékelése AMH-koncentrációval szokatlanul nehéz kancáknál a tüszők mérete, alakja és elrendeződése miatt

Szarvasmarhával és nőekkel ellentétben kancáknál viszonylag kevés információ áll rendelkezésre az AMH-ról [10, 13]. A tüszőpopulációk értékelése AMH-koncentrációval szokatlanul nehéz kancáknál a tüszők mérete, alakja, valamint petefészekben való elrendeződése miatt. Sajnos a kancapetefészek mérete és különös aszimmetriája miatt a kis tüszőpopulációk pontos szövettani értékelése meglehetősen problémás, miközben valószínűleg ezek a kisméretű tüszők járulnak hozzá a legnagyobb mértékben az AMH-termeléshez. Jelenlegi ismeretek szerint az AMH-t a preantralis és a korai antralis tüszők szekretálják, amelyek sokkal kisebbek, mint azok a legkisebb tüszők, amelyeket non-invazív technikákkal meg lehet számolni (2. ábra) [8]. Az eddigi vizsgálatok alapján kancáknál az AMH immunoexpressziója a petefészekben belül a granulosa-sejtekre korlátozódik és az expresszió a tüszők fejlődésével párhuzamosan változik. A preantralis és kisméretű antralis tüszők granulosa-sejtjeinél az AMH immunhisztokémiai jelöléssel mutatható ki, intenzívebb jelölődés tapasztalható a granulosa-sejtrétegek növekedésével [10, 13]. Az eddigi megfigyelések szerint a keringő AMH koncentrációja a 6–20 mm átmérőjű tüszők populációjával van összefüggésben [4]. A 30 mm-nél nagyobb tüszők granulosa-sejtjeinél az AMH-expresszió csökken. Az AMH kancák perifériás véréből is mérhető ELISA-vizsgálattal. Ugyan a szérumban AMH-koncentrációja nem változik szignifikánsan a nemi ciklus során, az egyes kancák között jelentős eltérések tapasztalhatók [13]. PAPAS és mtsai az egyes kancák AMH-szintjében igen nagy változékonyságot figyeltek meg (0,6–4,1 µg/l) [4]. Korábbi kutatások is hasonló eredménnyel zárultak, szabályosan ivarzó kancáknál a szérumban AMH-koncentráció

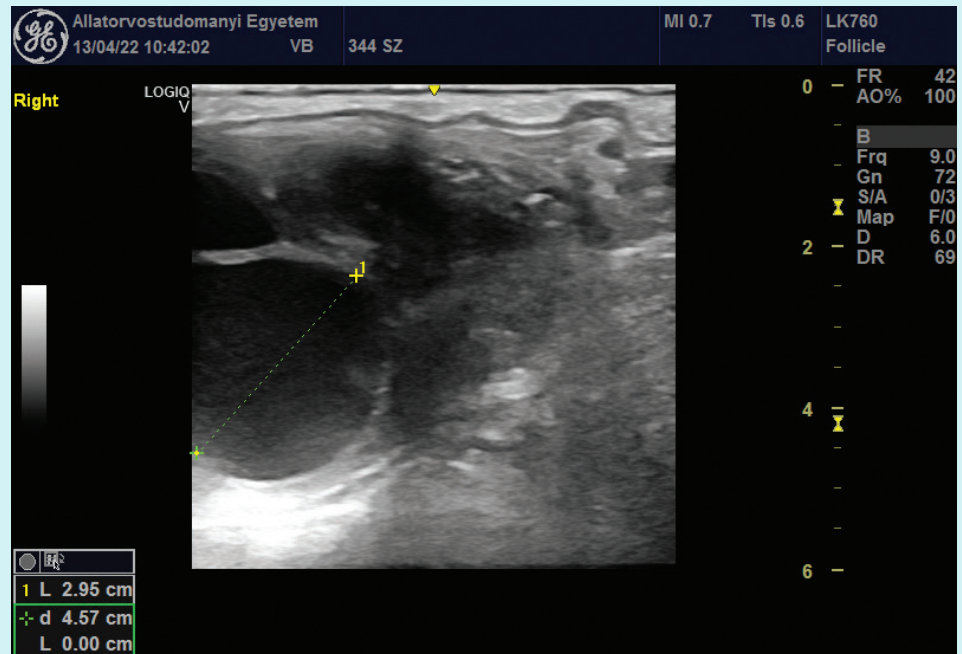
0,22 mg/ml és 2,94 ng/ml között változott, míg az ovulációt megelőzően ez az érték 0,07 és 3,56 ng/ml között mozgott. Amikor az AMH-szintet a reprodukciós ciklus szakaszától függetlenül vizsgálták, 0,26 ng/ml és 15,47 ng/ml közötti eredményeket kaptak. A különböző vizsgálatok eredményei, amelyek során az AMH-koncentrációk stabilitását követték nyomon a nemi ciklus során, egyes esetekben egymásnak ellentmondóak voltak. ALMEIDA és mtsai 6 kancánál két ovuláció közötti periódusban hetente három alkalommal mérték az AMH-koncentrációt és nem tapasztaltak szignifikáns különbségeket [5, 29]. DAL és mtsai azonban 25 kanca vizsgálatkor azt figyelték meg, hogy az AMH-szintek jelentősen magasabbak voltak az ösztrusz során a diösztrusszal szemben [4].

2. ÁBRA. Tüszőmérés kanca petefészkén

A szerv mérete miatt nehéz pontosan megszámlálni és lemérni a tüszőket (GE Logiq V2 ultrahangkészülék, endorectalis fej, 7,5 MHz)

FIGURE 2. Folliculometry on the equine ovary

Antral follicular count and size can be very difficult to measure because of the large size of the organ (GE Logiq V2 ultrasound, endorectal probe, 7.5 MHz)



AZ AMH ALKALMAZÁSA BIOMARKERKÉNT KANCÁKNÁL AZ ASSZISZTÁLT REPRODUKCIÓ EREDMÉNYESSÉGÉNEK ELŐREJELZÉSÉRE

Az anti-Müller-hormon (AMH) egyéb állatfajoknál, pl. szarvasmarhánál és juhnál a fertilitás potenciális biomarkerének tekinthető, különös tekintettel a korszerű reprodukciós technológiák alkalmazásánál. SINCLAIR és mtsai kísérletének az volt a célja, hogy megvizsgálják azt, hogy milyen összefüggések figyelhetők meg az AMH-koncentráció és az embriómosási, valamint petesejt aspirációs eljárások sikeressége között. Valamennyi beavatkozást ugyanabban a létesítményben, ugyanazok az állatorvosok hajtották végre standard technikákat alkalmazva [30]. A vérminták levétele közvetlenül az embriónyerés (embyo-flushing, EF; $n = 172$) vagy a petesejtleszívás (oocyte aspiration, OA; $n = 28$) előtt történt, ezt követően a szeparált szérum mintákat -18 °C hőmérsékleten tárolták. Az AMH-koncentrációt a későbbiekben ELISA-teszttel határozták meg. A vérmintákat minden esetben a szedálás vagy bármilyen más gyógyszer beadása előtt levették. Az AMH-szint és az embrió-, valamint petesejtkinyerés eredményessége, továbbá az életkor közötti összefüggéseket csoportonként, ill. a csoportok egyesítését (pooled, PD; $n = 200$) követően is vizsgálták. Az OA csoportba tartozó kancáknál negatív korrelációt ($p = 0,03$) találtak az életkor és az AMH-szint között, ez a tendencia ($p = 0,07$) a PD csoportnál is megfigyelhető volt, míg az EF csoportnál a két tényező között nem volt korreláció ($p > 0,10$). Az EF csoportba tartozó kancáknál negatív korrelációt ($p = 0,03$) állapítottak meg a kinyerési arány és az életkor között, ám ez az OA csoportban, ill. az állatok összesítését követően nem volt elmondható.

**Az AMH a kancák
fertilitásának
megfelelő biomarkere
lehet a korszerű,
asszisztált repro-
dukciós technológiák
alkalmazásánál**

Az állatok összesítését követő elemzések során szignifikánsan nagyobb ($p = 0,04$) AMH-koncentrációt mértek azoknál a kancáknál, amelyektől 2 vagy annál több petesejtet vagy embriót lehetett kinyerni, mint azoknál a kancáknál, amelyektől csak egyetlen petesejtet vagy embriót gyűjtésére volt lehetőség. Nem találtak azonban különbséget ($p = 0,15$) az AMH-koncentrációk tekintetében azok között a kancák között, amelyektől egy vagy több petesejtet, ill. embriót lehetett nyerni, valamint azoknál, amelyeknél az eljárások sikertelenek voltak és egyetlen petesejtet vagy embriót sem sikerült kinyerni. Azok alapján, hogy a kettő vagy több petesejtet, ill. embriót produkáló kancáknál nagyobb AMH-koncentrációk mérhetőek, mint azoknál az állatoknál, amelyektől csak egy petesejtet vagy embriót lehetett kinyerni, az a következtetés vonható le, hogy az AMH a kancák fertilitásának megfelelő biomarkere lehet a korszerű reprodukciós technológiák alkalmazásánál. Ugyanakkor e területen további kutatások szükségesek [30].

CLAES és mtsai szintén az AMH-szint és az ART sikeressége közötti összefüggést vizsgálták. A keringő hormonszint meghatározását ELISA-tesztel (AMH Gen II Beckman Coulter) végezték el 200 különböző életkorú, melegvérű kancánál. Egész éven át végezték az ovum pick-up (OPU) beavatkozásokat, ill. azt követően az intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI), tehát összefoglalóan az IVEP (*in vitro* embryo production) programokat [10]. A kancákat aszerint csoportosították, hogy az AMH-szintjük kicsi ($<0,41 \mu\text{g/l}$), közepes $0,41\text{--}0,94 \mu\text{g/l}$ vagy nagy ($>0,94 \mu\text{g/l}$) volt. OPU-programonként átlagosan 26,6 tüszőt aspiráltak és a kinyert petesejtek átlaga 14,4 volt. Összességében az *in vitro* érési, osztódási és blastocysta-képződési arány 57%, 69%, ill. 12% volt. Az IVEP a kancák 56%-ánál volt eredményes, átlagosan 1,0 embriót sikerült előállítani OPU beavatkozásoként. Az aspirált tüszők és a kinyert petesejtek száma szignifikánsan kisebbnek bizonyult az alacsony AMH-szintű kancákban, mint a közepes vagy nagy AMH-koncentrációjú csoportban. A blastocysta-arány szignifikánsan kisebb volt az alacsony AMH-val jellemezhető kancáknál, mint a közepes hormonszintű csoportban. A keringő AMH-szint és az IVEP sikere közötti összefüggést is elemezték. Egy *in vitro* blastocysta létrejöttének valószínűsége kisebb volt az alacsonyabb hormonszintű csoportban (32%), mint a közepes (65%), ill. a magas (61%) AMH-szintű kancáknál. Továbbá annak a valószínűsége, hogy több (≥ 2) *in vitro* embrió jöjjön létre, kisebb volt az alacsony AMH-szinttel rendelkező állatoknál (12%), mint a közepes (34%) vagy a magas (37%) hormonszintű csoportokban. Következésképpen a közepes vagy magas AMH-szintű kancák megfelelőbb jelöltnek tűnnek az *in vitro* embriótermeléshez, mivel ezeknél nagyobb a valószínűsége, hogy tőlük egy, sőt több embriót lehessen nyerni, hiszen ezeknél a kancáknál a kinyerhető petesejtek száma is nagyobb [10].

**A közepes vagy magas
AMH-szintű kancák
megfelelőbb jelöltnek
tűnnek az *in vitro*
embriótermeléshez**

PAPAS és mtsai kísérletük során szintén azt tanulmányozták, hogy az AMH biomarkerként alkalmas-e az OPU-eljárás és az azt követő az *in vitro* embrióelőállítás eredményességének előrejelzésére [4]. Tapasztalatuk szerint $\geq 2,5 \mu\text{g/l}$ AMH-koncentrációnál több tüszőt aspiráltak, több petesejtet nyertek ki és több embriót is tudtak előállítani *in vitro* ($2,1 \pm 0,4$ blastocysta). Összességében az előbbi kategóriába tartozó kancák 77%-ától programonként legalább egy embriót lehetett nyerni. A kísérlet során azt is megfigyelték, hogy az OPU-eljárásoként nyert blastocysták száma szignifikánsan kisebb volt azoknál a kancáknál, amelyek AMH-szintje $1,5 \mu\text{g/l}$ -nél alacsonyabb volt [4].

AZ AMH-SZINT ÉS AZ ANTRALIS TÜSZŐSZÁM KÖZÖTTI ÖSSZEFÜGGÉS

Az antralis tüszők folyadékkal telt, ≥ 2 mm átmérőjű képletek, amelyek a transzvaginális, ill. transzrectális ultrahangvizsgálat során láthatók (3. ábra). Számuk közvetlenül összefügg a primordialis tüszők számával és az antralis tüszőszám (antral follicle count, AFC) nagymértékben reprodukálható egyedenként, így széles körben használják a petefészek tartalékkapacitásának kvantitatív markereként [28]. Kancáknál az AMH-szint és az AFC egy cikluson belül és az egyes ciklusok

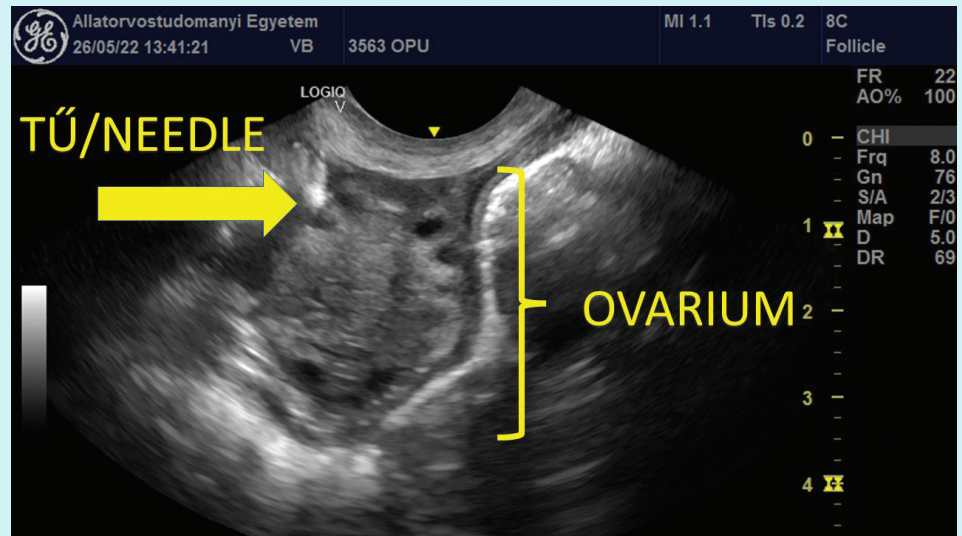
között mért értékei nagymértékben megismételhetők egy adott egyednél és az AMH koncentrációk korfüggő összefüggésben állnak az AFC-vel ($p = 0,40-0,86$) [13]. A fertilitás, az AMH-koncentráció és az AFC is csökken az életkor előrehaladtával nőknél, teheneknél és kancáknál, ugyanakkor jelentős egyedi variabilitás figyelhető meg mind az AMH-koncentráció, mind az AFC tekintetében, még abban az esetben is, amikor azonos korú egyedeket vizsgáltak. Az is elmondható, hogy az ovarialis tartalékkapacitás megfogyatkozásával összefüggő reprodukciós öregedés igen változó időpontokban kezdődik.

3. ÁBRA. Transzvaginális ultrahangvezérelt aspiráció (TVA) szarvasmarhában

A beavatkozást végző személy kisméretű antrális tüszők tartalmát szívja le egy speciális TVA-tű segítségével (GE Logiq V2 ultrahangkészülék, mikrokonvex fej, 10 MHz)

FIGURE 3. Transvaginal ultrasound-guided aspiration (TVA) in a cow

The operator aspirates the content of small antral follicles with a special TVA needle (GE Logiq V2 ultrasound, microconvex probe, 10 MHz)



A kisebb tüszők növekedését az antrális tüszők által termelt AMH egészen a tüszők deviációjáig gátolja

TRAVERSARI és mtsai megállapították, hogy kancákban az AFC pontosabban meghatározható, amennyiben a petefészekben nincsenek nagyméretű tüszők [28]. Másik megfigyelésük szerint az AFC csökkent a tüszők méretének növekedésével, ugyanakkor nagyobb volt olyan esetekben, amikor a tüszők átmérője nem haladta meg a 25 mm-t. Ez az eredmény nem meglepő, hiszen a kisebb tüszők növekedését az antrális tüszők által termelt AMH gátolja egészen a tüszők deviációjáig, amikor a domináns tüsző eléri a 22 mm-es átmérőt. Ez a koncepció azt a pozitív korrelációt is megmagyarázza, amely az AMH-koncentráció és az AFC között fennáll, ≤ 30 mm átmérőjű tüszők esetében, bár CLAES és mtsai ezt a jelenséget csak ≤ 20 mm átmérőjű tüszőknél figyelték meg [10, 14]. Mindemellett TRAVERSARI és mtsai azt tapasztalták, hogy az AMH-szint és az AFC közötti korrelációt az életkor befolyásolta. E két biomarker és az életkor összefüggését kancákon kívül már teheneknél és nőknél is kimutatták és ez minden bizonnyal az AMH follicularis eredetét és a petefészek kimerülő tartalékkapacitását tükrözi. A középkorú kancáknál (9–18 évesek) szignifikánsan nagyobbak voltak az AFC-értékek, mint a fiatal kancáknál (3–8 év), ugyanakkor az idősebb egyedek és a többi korcsoport között nem volt jelentős különbség.

CLAES és mtsai szoros, ill. mérsékelt korrelációt figyeltek meg AFC és AMH-koncentrációk között az idősebb és a középkorú kancák között, ugyanakkor nem találtak összefüggést a többi korcsoport és a fiatal kancák között [14]. Ugyanebben a tanulmányban az AFC szignifikánsan kisebb volt az idősebb kancákban, amely a primordialis tüszők számával, ill. azoknak az életkor előrehaladtával történő kimerülésével magyarázható. Más kutatások során az AMH-koncentráció csökkenését csak 20 évesnél idősebb kancáknál figyelték meg [28].

Az AMH-szint mérése felhasználható a mének rejtett heréjűségének és a kancák granulosa-sejtes tumorának diagnosztizálására

AZ AMH MINT SZAPORODÁSI RENDELLENESSÉGEK BIOMARKERE

Az AMH lovaknál két ismert szaporodásbiológiai rendellenesség biomarkere: sok éve használják a mének rejtettheréjűségének és a kancák granulosa-sejtes tumorának (granulosa cell tumor, GCT) diagnosztizálására [31]. Lovaknál a GCT a leggyakoribb petefészek-daganat, a nemi traktusban előforduló daganatok 85%-át, a lovaknál összességében előforduló tumoroknak pedig 2,5%-át teszik ki. A MACLACHLAN és mások vizsgálatai alapján ennek a daganat-típusnak a felépítésére jellemző, hogy a follicularis struktúrákon belül a granulosa-szerű sejtek rétegekben helyezkednek el és az ezeket övező stromában pedig theca-szerű sejtek találhatóak [32, 33]. Noha már malignus granulosa-sejtes tumorokról is beszámoltak, kancáknál az ilyen típusú daganatok túlnyomórészt jóindulatúak. Ezidáig többféle endokrin vizsgálatot is alkalmaztak a feltételezett GCT diagnózisának alátámasztására, ideértve az inhibin-, a tesztoszteron-, ill. a progeszteronkoncentráció mérését [5]. A humán kutatások során azt figyelték meg, hogy olyan nőknél, akiknek a petefészkén granulosa-sejtes tumor alakult ki, emelkedett AMH-koncentráció mérhető. Ez alapján kezdték el kancáknál is vizsgálni az AMH-szint és a GCT közötti összefüggéseket. ALMEIDA és mtsai szerint az igazoltan granulosa-sejtes tumorral rendelkező kancáknál a szérum AMH-koncentráció jelentősen megemelkedett, ám ez a daganat eltávolítását követően lecsökkent [5].

AZ AMH ÉS A MÉH ÖNTISZTULÁSI MECHANIZMUSA KÖZÖTTI ÖSSZEFÜGGÉS

A fedeztetés által kiváltott endometritis kancáknál a meddőség gyakori oka [34]. Alapvetően ez rezisztens kancáknál a méhbe kerülő baktériumok, szövettörmelék és spermiumok által indukált gyulladásos válaszreakció, amely csupán átmeneti állapot és a párázást követően rövidesen elmúlik. Ezzel szemben fogékony kancáknál idült endometritis alakul ki, amelynek következtében az állatok szubfertilissé válnak, hiszen a megtermékenyítés után 5–6 nappal a méhbe bejutó embrió gyulladásos környezetbe kerül, amely nem alkalmas annak befogadására. Rezisztens és fogékony kancáknál is tanulmányozták a méh „clearance mechanizmusát” és azt állapították meg, hogy a fogékony kancáknál ez nem kielégítő, a méhtartalom hatékony eltávolítása nem történik meg. GHARAGOZLOU és mtsai szerint fogékony kancáknál a méh fiziológiás öntisztítási mechanizmusának kudarca részben lutealis elégtelenség miatt következik be [35]. Kísérletük során azt vizsgálták, hogy a szérum AMH-koncentrációja hogyan változik csökkent uterinalis clearance mechanizmusú és fiziológiás öntisztulási folyamattal jellemezhető kancáknál. A szérum AMH-koncentráció a hiányos öntisztulási mechanizmusú kancáknál kisebb volt ($0,4 \pm 0,1$ ng/ml; a mért értékek teljes tartománya: $0,1\text{--}0,8$ ng/ml), mint azoknál a kancáknál, amelyeknél az öntisztulás fiziológiásan zajlott ($1,1 \pm 0,1$ ng/ml; a mért értékek teljes tartománya: $0,5\text{--}2,0$ ng/ml; $p = 0,0002$). Az életkoruk, ill. az, hogy a kancáknak volt-e csikójuk vagy sem, nem gyakorolt szignifikáns hatást a szérum AMH-koncentrációjára [35].

AZ AMH EGYÉB ALKALMAZÁSI TERÜLETE: A FERTILIS ÁLLATOK KORAI SZELEKCIÓJA

Prepubertalis kancacsikóknál a petefészek tüszőtartalékainak becslésére, valamint méneknél a patológiás hereelváltozások ivarérés előtti felismerésére irányuló lehetőségeket ezidáig nem vizsgálták kiterjedten. Mind a mének, mind a kancák tenyészkiválasztását a tenyészérettség után végzik, azaz méneknél két-éves, kancáknál hároméves kor betöltését követően. A prepubertalis kancacsikók tüszőtartalékainak, ill. a méncsikók herefejlődésének meghatározására szolgáló prediktív módszer lehetővé tenné a fertilis lovak korai tenyészkiválasztását, ami csökkentené az állatok tartási költségeit. SCARLET és mtsai kísérletének az volt a célja, hogy már születésüktől kezdve felmérjék kancáknál az AMH, LH, FSH és a

Méhükben hiányos öntisztulási mechanizmusú kancáknál kisebb a szérum AMH-koncentráció

Az AMH-szint mérése kétéves kortól eredményesen használható a herefejlődési rendellenességgel rendelkező mének felismerésére

progeszteron, valamint csődör csikóknál a tesztoszteron prepubertalis szerepét és koncentrációváltozásuk dinamikáját [36]. További célkitűzésük volt annak megállapítása, hogy a prepubertális korú lovaknál az AMH-koncentráció összefüggésbe hozható-e az ivarmirigyek ivarérés utáni fejlődésével. Két egymást követő évben, február és május között született melegvérű csikókat vizsgáltak ($n = 30$, 14 kanca, 10 egészséges csődör és 6 csődör, amelyeknél herefejlődési rendellenesség volt). Az első évben 28 csikót, a második évben 2 csikót válogattak be a kísérletbe. Az AMH születéstől kezdve minden állat plazmájában kimutatható volt és koncentrációja szignifikánsan nagyobb volt ($p < 0,001$) a hímeknél, mint a nőstényeknél, függetlenül a herek fejlettségétől. Az AMH és a tesztoszteron koncentrációjában nem volt jelentős különbség a csődör csikók között életük első évében, ez úgyszintén független volt a herek fejlettségétől. Két éves kor után azonban az AMH-koncentráció nagyobb volt ($p < 0,05$) a herefejlődési rendellenességgel rendelkező csikóknál, mint az egészséges társaiknál. Kancacsikóknál az ivarérés utáni AMH-koncentráció korrelációt mutatott a születéskor mért AMH-szinttel ($p < 0,05$) és az AFC-vel ($p < 0,001$). Erős negatív korrelációt figyeltek meg csődör csikóknál, az első 8 hétben az AMH-koncentráció és a vemhesség időtartama között ($p < 0,01$, $r = 0,64-0,71$). Több kancacsikónál 20 hetes kortól kezdve 1 ng/ml feletti emelkedett progeszteronkoncentrációt figyeltek meg. Ezzel párhuzamosan az AMH-koncentráció is emelkedett, amelyet az FSH- és LH-szint növekedése előzött meg.

Összefoglalva elmondható, hogy az AMH-szint mérése kétéves kortól eredményesen használható a herefejlődési rendellenességgel rendelkező mének felismerésére, azonban pubertás előtt ez a módszer nem megbízható. E kísérlet alapján az a következtetés is levonható, hogy prepubertális kancáknál az AMH-koncentráció meghatározása lehetővé teszi a pubertás utáni AMH-szint és az AFC előrejelzését [36]. SCARLET és mtsai feltételezik, hogy kancáknál a korai luteinizáció ivarérés előtt következik be, valamint úgy vélik, hogy az LH-szekréció a perinatalis időszakban szerepet játszik a herek fejlődésében és leszállásában [36].

Mind a mének, mind a kancák tenyész kiválasztását a tenyészérettség után, azaz méneknél kétéves, kancáknál hároméves kor betöltését követően végzik. A prepubertális kancacsikók tüszőtartalékainak, ill. a méncsikók herefejlődésének meghatározására szolgáló prediktív módszer lehetővé tenné a fertilis lovak korai tenyész kiválasztását [36].

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A dolgozat az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21- 5-ÁTE-3 kód-számú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával, valamint a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (VINCZE BOGLÁRKA, bo_185-21/4) segítségével készült.

IRODALOM

1. Umer S, Zhao SJ, Sammad A, Weldegebriall Sahlu B, Pang Y, Zhu H (2019) AMH: Could it be used as a biomarker for fertility and superovulation in domestic animals? *Genes (Base)* 10:1009 <https://doi.org/10.3390/genes10121009>
2. Mossa F, Jimenez-Krassel F, Scheetz D, Weber-Nielsen M, Evans ACO, Ireland JJ (2017) Anti-Müllerian Hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction* 154:R1–R11 <https://doi.org/10.1530/REP-17-0104>
3. Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN (2002) Regulation of ovarian function: The role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 124:601–609 <https://doi.org/10.1530/rep.0.1240601>
4. Papas M, Govaere J, Peere S, Gerits I, Van de Velde M, Angel-Velez D, De Coster T, Van Soom A, Smits K (2021) Anti-müllerian hormone and opu-icsi outcome in the mare. *Animals* 11:2004 <https://doi.org/10.3390/ani11072004>
5. Almeida J, Ball BA, Conley AJ, Place NJ, Liu IKM, Scholtz EL, Mathewson L, Stanley SD, Moeller BC (2011) Biological and clinical significance of anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology* 76:1393–1403 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.008>
6. Monniaux D, di Clemente N, Touzé JL, Belville C, Rico C, Bontoux M, Picard JY, Fabre S (2008) Intrafollicular steroids and anti-Müllerian hormone during normal and cystic ovarian follicular development in the cow. *Biol Reprod* 79:387–396 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.065847>
7. Pierre A, Peigné M, Grynberg M, Arouche N, Taieb J, Hesters L, Gonzalès J, Picard JY, Dewailly D, Fanchin R, Catteau-Jonard S, di Clemente N (2013) Loss of LH-induced down-regulation of anti-Müllerian hormone receptor expression may contribute to anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 28:762–769 <https://doi.org/10.1093/humrep/des460>
8. Uliani RC, Conley AJ, Jo Corbin C, Friso AM, Maciel LFS, Alvarenga MA (2019) Anti-Müllerian hormone and ovarian aging in mares. *J Endocrinol* 240:147–156 <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0391>
9. Claes A, Ball BA, Troedsson MHT, Curry Jr TE, Squires EL, Scoggin KE (2016) Molecular changes in the equine follicle in relation to variations in antral follicle count and anti-Müllerian hormone concentrations. *Equine Vet J* 48:741–748 <https://doi.org/10.1111/evj.12514>
10. Claes A, Cuervo-Arango J, Derks S, Stout TAE (2020) The usefulness of anti-Müllerian hormone in predicting oocyte recovery and in vitro production of equine embryos. *J Equine Vet Sci* 89:103049 <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103049>
11. Byskov AG, Westergaard LG (2011) Differentiation of the Ovary. *Fetal and Neonatal Physiology* 2022–2030 <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3479-7.10184-3>
12. Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, van de Lang-Born BMN, de Jong FH, Groome NP, Themmen APN, Visser JA (2006) Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology* 147:3228–3234 <https://doi.org/10.1210/en.2005-1588>
13. Claes ANJ, Ball BA (2016) Biological Functions and Clinical Applications of Anti-Müllerian Hormone in Stallions and Mares. *Vet Clin North Am Equine Pract* 32:451–464 <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.07.004>
14. Claes A, Ball BA, Scoggin KE, Esteller-Vico A, Kalmar JJ, Conley AJ, Squires EL, Troedsson MHT (2015) The interrelationship between anti-Müllerian hormone, ovarian follicular populations and age in mares. *Equine Vet J* 47:537–541 <https://doi.org/10.1111/evj.12328>
15. Benammar A, Derisoud E, Vialard F, Palmer E, Marc Ayoubi J, Poulain M, Chavatte-Palmer P (2021) The mare: A pertinent model for human assisted reproductive technologies? *Animals* 11:2304 <https://doi.org/10.3390/ani11082304>
16. Poulain M, Younes R, Pirtea P, Trichereau J, de Ziegler D, Benammar A, Ayoubi JM (2021) Impact of Ovarian Yield–Number of Total and Mature Oocytes Per Antral Follicular Count–On Live Birth Occurrence After IVF Treatment. *Front Med* 8:702010 <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.702010>
17. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB (2011) Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril* 95:170–175 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.006>
18. Angyal Eszter, Novotniné Dankó Gabriella, Vincze Boglárka (2021) A többszörös ovuláció kiváltásának lehetőségei és akadályai kancákban. *Magy Allatorvosok Lapja* 143:323–337.
19. Vincze Boglárka, Rooney D, Angyal Eszter, et al (2022) A ló asszisztált reprodukciója: az in vitro fertilizáció kudarca – a petesejt kinyerés és kapcsolódó technikák sikere. *Magy Allatorvosok Lapja* 144:451–462.
20. Carnevale EM (2008) The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman. *Theriogenology* 69:23–30 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.011>
21. Soquila SS, Mingala CN (2017) Anti-Müllerian hormone as a marker of embryo production in ruminants. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 13:9–16 <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.5198>
22. Evans AC, Mossa F, Fair T, Lonergan P, Butler ST, Zielak-Steciwo AE, Smith GW, Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JLH, Ireland JJ (2010) Causes and consequences of the variation in the number of ovarian follicles in cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl* 67:421–429 <https://doi.org/10.7313/upo9781907284991.032>
23. Ireland JJ, Zielak-Steciwo AE, Jimenez-Krassel F, Folger J, Bettegowda A, Scheetz D, Walsh S, Mossa F, Knight PG, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO (2009) Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biol Reprod* 80:954–964 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.073791>
24. Rico C, Drouilhet L, Salvetti P, Dalbiès-Tran R, Jarrier P, Touzé JL, Pillet E, Ponsart C, Fabre S, Monniaux D (2012) Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: From the laboratory to the farm. *Reprod Fertil Dev* 24:932–944 <https://doi.org/10.1071/RD11290>
25. Rico C, Fabre S, Médigue C, di Clemente N, Clément F, Bontoux M, Touzé JL, Dupont M, Briant E, Rémy B, Beckers JF, Monniaux D (2009) Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod* 80:50–59 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.072157>
26. Vernunft A, Schwerhoff M, Viergutz T, Diederich M, Kuwer A (2015) Anti-muellerian hormone levels in plasma of holstein-friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes. *J Reprod Dev* 61:74–79 <https://doi.org/10.1262/jrd.2014-091>
27. Bromfield JJ, Sheldon IM (2013) Lipopolysaccharide reduces the primordial follicle pool in the bovine ovarian cortex ex vivo and in the murine ovary in vivo. *Biol Reprod* 88:98 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.106914>

28. Traversari J, Aepli H, Knutti B, Lüttgenau J, Bruckmaier RM, Bollwein H (2019) Relationships between antral follicle count, blood serum concentration of anti-Müllerian hormone and fertility in mares. *Schweiz Arch Tierheilkd* 161:627–638 <https://doi.org/10.17236/sat00225>
29. Paes de Almeida Ferreira Braga D, Setti AS, Guilherme P, Vingris L, Iaconelli A, Borges E (2021) Serum anti-Müllerian hormone concentrations impacts not only the quantity, but also the quality of the ovarian reserve: the importance of time-lapse imaging system. *Fertil Steril* 116:E243 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.07.655>
30. Sinclair C, Schnobrich M, Stevenson J, Kouba J (2021) 108 A preliminary investigation of anti-Müllerian hormone as a biomarker for fertility in mares. *J Equine Vet Sci* 100:103571 <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103571>
31. Fouché N, Gerber V, Bruckmaier RM, Erni-Wespi B, Zander Y, Vidondo B, Sieme H, Claes A, Kaeser R, Burger D (2022) Assessment of anti-Müllerian hormone in mares' transitional period and in relation to fertility in elderly mares. *Theriogenology* 179:97–102 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.11.025>
32. McLachla RI, Robertson DM, Healy DL, Burger HG, de Kretser DM (1987) Circulating immunoreactive inhibin levels during the normal human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 65:954–961 <https://doi.org/10.1210/JCEM-65-5-954>
33. Bailey MT, Troedsson MHT, Wheaton JE (2002) Inhibin concentrations in mares with granulosa cell tumors. *Theriogenology* 57:1885–1895 [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00658-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00658-1)
34. Woodward EM, Christoffersen M, Campos J, Squires EL, Troedsson MHT (2012) Susceptibility to persistent breeding-induced endometritis in the mare: Relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. *Theriogenology* 78:495–501 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.028>
35. Gharagozlou F, Akbarinejad V, Youssefi R, Rezagholizadeh A (2014) Low Concentration of Anti-Müllerian Hormone in Mares with Delayed Uterine Clearance. *J Equine Vet Sci* 34:575–577 <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.10.176>
36. Scarlet D, Wulf M, Kuhl J, Köhne M, Ille N, Conley AJ, Aurich C (2018) Anti-Müllerian hormone profiling in prepubertal horses and its relationship with gonadal function. *Theriogenology* 117:72–77 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.012>

Közlésre érk.: 2022. nov. 8.