Роль антимюллерова гормона в патогенезе и диагностике синдрома поликистозных яичников

К.м.н. Е.Э. ГРОДНИЦКАЯ, член-корр. РАМН, д.м.н., проф. М.А. КУРЦЕР

ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции» Департамента здравоохранения Москвы

У женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) отмечается повышение концентрации антимюллерова гормона (АМГ) в фолликулярной жидкости и сыворотке крови, коррелирующее с выраженностью симптомов заболевания. АМГ играет ингибирующую роль в фолликулогенезе, что может способствовать ановуляции при СПКЯ. Избыток андрогенов, гиперинсулинемия, увеличение экспрессии гена АМГ являются основными кандидатами на роль фактора, обеспечивающего его гиперпродукцию при данном заболевании. Уровень АМГ в сыворотке точно отражает число небольших антральных фолликулов в яичнике и может быть использован в качестве диагностического маркера СПКЯ.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, антимюллеров гормон, ановуляция.

Антимюллеров гормон (АМГ), также известный как ингибирующее вещество Мюллера, является членом суперсемейства трансформирующего фактора роста β, включающего более 35 пептидов сходной структуры, в том числе активины, ингибины, костные морфогенетические белки и другие цитокины, многие из которых вовлечены в регуляцию репродуктивной функции человека. Ген АМГ расположен на хромосоме 19 и кодирует димерный гликопротеин с молекулярной массой 140 кД. АМГ синтезируется в виде прогормона, который в дальнейшем подвергается преобразованию, в результате чего от него отделяется биологически активный С-терминальный фрагмент [29].

В клетках гранулезы АМГ впервые был определен в 1980 г. [48]. Позднее было показано, что он вырабатывается этими клетками с 36-й недели гестации и вплоть до менопаузы [34]. Остается точно невыясненным, на какой стадии фолликулогенеза начинается продукция АМГ, так как в исследованиях примордиальных фолликулов были получены противоречивые результаты [29]. Однако очевидно, что она достигает максимума на стадии преантральных и небольших антральных фолликулов. Путем прямого определения АМГ в клетках гранулезы и фолликулярной жидкости было подтверждено, что его концентрация является максимальной в небольших антральных фолликулах и становится очень низкой или вовсе не определяется в фолликулах ⩾10 мм в диаметре [28]. Эти данные говорят о том, что АМГ характеризует фолликулы на стадии, предшествующей гормонально-зависимому росту, а прекращение его продукции является важным условием для селекции доминантного фолликула.

Мыши с нокаутированным геном АМГ фертильны, но демонстрируют увеличение числа растущих фолликулов, что приводит к истощению пула примордиальных фолликулов и раннему прекращению овуляции [11]. Что касается овариальной ткани человека, то картина не столь очевидна. Так, в одном из исследований добавление к культуре биопсийного материала коры яичника АМГ уменьшало рост примордиальных фолликулов [3]. В другом исследовании АМГ в более высоких дозах увеличивал число растущих примордиальных фолликулов в ткани яичника, предварительно подвергшейся криоконсервации [39].

С целью выяснения, на какой стадии развития фолликула АМГ способен оказывать свое действие, S. Rice и соавт. [36] проводили исследование по выявлению рецептора АМГ II типа в преантральных фолликулах человека и установили, что в этих клетках он экспрессируется достаточно редко. В антральных фолликулах АМГ снижает их чувствительность к ФСГ. В нескольких исследованиях *in vitro* было продемонстрировано, что ФСГ-стимулированный рост фолликулов подавлялся при добавлении АМГ [29]. M. Grossman и соавт. [17] показали, что АМГ ингибирует экспрессию мРНК ФСГ-зависимой ароматазы и синтез эстрадиола в культуре клеток гранулезы человека. Все эти данные демонстрируют ингибирующее действие АМГ на рост антральных фолликулов и позволяют предполагать, что его высокие концентрации могут сдерживать ответ на стимуляцию ФСГ и стероидогенез, а также появление рецепторов ЛГ до момента селекции доминантного фолликула. К этому времени возрастает концентрация ФСГ, продукция АМГ прекращается и фолликул становится способным свободно синтезировать эстрадиол. Однако фактор, обеспечивающий торможение продукции АМГ в селекционированных фолликулах, остается неизвестным до насто-

e-mail: elena1778@mail.ru

ящего времени. По мнению L. Pellatt и соавт. [28], кандидатом на эту роль, хотя и не очевидным, может быть сам ФСГ. Определение этого ингибитора представляется крайне важным, так как это может стать ключом к загадке повышенной продукции АМГ при синдроме поликистозных яичников (СПКЯ).

СПКЯ характеризуется увеличением числа фолликулов, которое происходит на ранних стадиях их развития. Установленная способность АМГ нарушать ранний рост фолликулов делает его кандидатом на роль фактора, обеспечивающего это явление. С целью подтверждения данного предположения S. Stubbs и соавт. [44] изучали экспрессию АМГ в фиксированных срезах поликистозных яичников женщин с овуляторными и ановуляторными циклами при помощи иммуноокрашивания. Процент позитивно окрашенных примордиальных и переходных фолликулов в ановуляторных поликистозных яичниках женщин был достоверно значимо ниже такового в овуляторных, а также в яичниках здоровых женщин. При этом интенсивность окрашивания в преантральных и антральных фолликулах была сходной во всех трех группах. Это позволяет предположить, что отсутствие АМГ в ановуляторных поликистозных яичниках на ранних стадиях фолликулогенеза может инициировать рост большего количества фолликулов. Однако вопрос, какие факторы определяют продукцию АМГ, до настоящего времени остается невыясненным.

Концентрация АМГ в сыворотке крови женщин с СПКЯ в 2—3 раза выше в сравнении с таковой у здоровых женщин. Ранее предполагалось, что это связано с большим количеством небольших антральных фолликулов. Однако в дальнейшем было продемонстрировано, что продукция АМГ в 75 раз выше в клетках гранулезы ановуляторных поликистозных яичников в сравнении с таковой в нормальных яичниках [29]. Также концентрация АМГ была в 5 раз выше в фолликулярной жидкости нестимулированных фолликулов женщин с СПКЯ и ановуляторными циклами в сравнении с таковой у женщин с овуляторными циклами [7]. В дальнейших исследованиях концентрация АМГ в сыворотке коррелировала с выраженностью симптомов: у пациенток с СПКЯ и овуляторными циклами она была достоверно значимо ниже, чем у женщин с ановуляторными циклами и сравнимым уровнем андрогенов [33]. При этом примечательно, что вклад такого фактора, как число фолликулов, не превышал 5,3% от общего вклада всех значимых факторов в концентрацию АМГ. Совокупность данных этих исследований демонстрирует, что повышение концентрации АМГ происходит в основном за счет увеличения его продукции каждым фолликулом, а не только вследствие роста их количества. Тот факт, что увеличенная продукция АМГ является характерным свойством клеток гранулезы, нашел подтверждение в данных о повышении уровня мРНК АМГ в этих клетках, полученных из фолликулов, подвергшихся стимуляции в ходе ЭКО [5].

Причина увеличения продукции АМГ у женщин с СПКЯ неизвестна, однако оно может быть следствием действия других факторов, измененных при этом заболевании, наиболее очевидным из которых представляется избыток андрогенов. Так, в ряде исследований было продемонстрировано, что в сыворотке крови уровень АМГ положительно коррелирует с уровнем андрогенов [12, 22, 23, 30, 42, 50]. T. Eldar-Geva и соавт. [12] показали, что у женщин с поликистозными яичниками концентрация АМГ в сыворотке крови выше при наличии гиперандрогенемии. Продукция андрогенов текаклетками одинаково повышена у женщин с СПКЯ как с овуляторными циклами, так и с неовуляторными, однако за счет большего количества фолликулов, характерного для последних, гиперандрогенемия у них более выражена [16]. В то же время данные S. Carlsen и соавт. [2] противоречат вышеизложенной гипотезе. В их исследовании, несмотря на прямую корреляцию концентрации АМГ и уровня андрогенов исходно, супрессия последних посредством назначения дексаметазона в течение 6 мес не сопровождалась снижением уровня АМГ. В исследовании A. Somunkiran и соавт. [43] снижение концентрации андрогенов, а также объема яичника и числа антральных фолликулов в результате приема комбинированного орального контрацептива (КОК), содержащего 35 мкг этинилэстрадиола и 2 мг ципростерона ацетата, также не сопровождалось снижением концентрации АМГ. В исследовании D. Panidis и соавт. [27] были получены противоположные результаты: супрессия андрогенов посредством приема аналогичного КОК привела к достоверно значимому снижению концентрации АМГ. Противоречивые результаты могут быть обусловлены различиями в критериях включения: в исследовании A. Somunkiran лишь у 56,6% женщин отмечались клинические или биохимические признаки гиперандрогении, в то время как в исследовании D. Panidis [27] они были обязательным критерием. Тем не менее возможно, что определяющим уровень АМГ фактором является концентрация андрогенов непосредственно в яичнике. Следует отметить, что в яичках андрогены ингибируют продукцию АМГ. Из чего следует, что в яичнике должен быть другой механизм, регулирующий продукцию андрогенов, который приводит к увеличению его уровня при СПКЯ [35].

Другим кандидатом на роль фактора, определяющего повышение уровня АМГ при СПКЯ, является инсулин. Гиперинсулинемия более характерна для женщин с СПКЯ и ановуляторными циклами, чем овуляторными, а снижение уровня инсулина связано с восстановлением овуляторных циклов [6, 10]. A. La Marca и соавт. [24] не обнаружили корреляции между уровнем андрогенов и концентрацией АМГ в сы-

воротке крови, но наблюдали прямую корреляцию между последними и нарушением чувствительности к инсулину. Кроме того, было показано, что инсулин увеличивает гонадотропинстимулированную продукцию стероидов в клетках гранулезы и теки. Следовательно, увеличение концентрации АМГ может быть вторичным по отношению к влиянию инсулина на уровень андрогенов [49]. Однако другие исследования не выявили прямой корреляции между концентрацией инсулина и уровнем АМГ [12, 31].

Ряд данных предполагает роль наследственных факторов в патогенезе СПКЯ. Так, увеличение концентрации АМГ было обнаружено у девочек 4—7 лет, матери которых страдают СПКЯ [41]. Кроме того, более высокий уровень АМГ наблюдался у подростков 12—18 лет с СПКЯ в сравнении со здоровыми сверстницами [40]. Некоторые полиморфизмы гена ACVR1, кодирующего ALK2, один из рецепторов АМГ I типа, ассоциированы с концентрацией АМГ в сыворотке крови у женщин с СПКЯ. Как показал дальнейший статистический анализ, эта связь не зависит от числа фолликулов. Данный факт говорит о том, что варианты ACVR1 влияют на продукцию АМГ каждым фолликулом [21]. Хотя полиморфизм $Ile^{49}Ser$ гена АМГ встречался с одинаковой частотой у женщин без нарушения овуляторной функции и у пациенток с СПКЯ, у последних его носительство было ассоциировано с меньшим объемом яичника, числом фолликулов и уровнем андрогенов [20]. Возможно, что существуют внутренние яичниковые факторы, обеспечивающие увеличение экспрессии гена АМГ при СПКЯ, или же неизвестные на данный момент факторы, регулирующие продукцию андрогенов и также увеличивающие уровень АМГ. Ответ на этот вопрос может сыграть огромную роль в разработке новых методов терапии СПКЯ.

Уровень АМГ при СПКЯ отражает степень овуляторной дисфункции. В исследовании L. Pellatt и соавт. [28] было показано, что уровень продукции клетками гранулезы АМГ позволяет четко дифференцировать женщин с СПКЯ с овуляторными и ановуляторными циклами. У женщин с СПКЯ и регулярными менструальными циклами продукция АМГ была выше в сравнении с таковой у здоровых женщин. В то же время клетки гранулезы у пациенток с СПКЯ и ановуляторными циклами продуцировали в 18 раз больше АМГ в сравнении с женщинами, у которых наблюдалась овуляция. Следовательно, возможно, для того чтобы у женщины с ановуляторными циклами восстановилась овуляторная функция, необходимо снизить продукцию АМГ в их фолликулах. Ввиду того, что инсулинорезистентность характерна для большинства пациенток с СПКЯ, для его терапии были предложены инсулинсенситайзеры — препараты, увеличивающие чувствительность тканей к инсулину, к которым относятся бигуаниды (метформин) и тиазолидиндионы. В исследованиях S. Carlsen и D. Panidis [2, 27] снижение концентрации инсулина в результате лечения метформином в течение 6 мес не сопровождалось параллельным снижением концентрации АМГ. В то же время R. Fleming и соавт. [15] показали, что концентрация АМГ незначительно, однако достоверно значимо снижается через 8 мес терапии метформином. В исследовании T. Piltonen и соавт. [32] прием метформина также приводил к небольшому, но достоверно значимому снижению уровня АМГ через 6 мес терапии. D. Romualdi и соавт. [37] обнаружили снижение уровня АМГ у женщин с ожирением и гиперинсулинемией после 6 мес терапии метформином, в то время как у женщин с нормальным уровнем инсулина подобного не отмечалось. Таким образом, метформин дифференцированно влияет на взаимодействие инсулина и овариальной функции у женщин с ожирением, а наличие гиперинсулинемии является предиктором эффективности терапии, что позволяет сделать вывод о влиянии данного препарата на овуляторную дисфункцию через инсулинопосредованные механизмы.

Гипотеза о том, что уменьшение уровня АМГ является следствием снижения избыточной массы тела (ИМТ), которое было достоверно значимым в подгруппе женщин с гиперинсулинемей, не кажется убедительной ввиду того, что у пациенток с нормоинсулинемией также отмечалась тенденция к снижению ИМТ, которая, однако, не сопровождалась уменьшением его концентрации. Кроме того, ранее было показано, что снижение ИМТ не приводит к уменьшению уровня АМГ [46]. В исследовании A. Tomova и соавт. [47] в подгруппе женщин, ответивших на терапию метформином в виде восстановления регулярных менструальных циклов, отмечалось достоверно значимое снижение концентрации АМГ в результате лечения, в то время как у женщин, у которых менструальный цикл остался нерегулярным, наблюдалось ее увеличение. Необходимы дальнейшие исследования, которые позволят прояснить, является ли снижение концентрации АМГ в процессе терапии метформином маркером эффективности препарата в отношении овариальной дисфункции. Терапия метформином у женщин с СПКЯ и ановуляторными циклами оказывала дифференцированное действие на концентрацию АМГ в фолликулярной жидкости антральных фолликулов: при восстановлении овуляторных циклов она коррелировала с изменениями концентрации андрогенов и АМГ в сыворотке крови, а также индексов инсулинорезистентности, в то время как у пациенток с сохраняющейся ановуляцией подобных корреляций выявлено не было. Эти данные указывают на то, что изменения концентрации АМГ в фолликулярной жидкости могут быть вовлечены в локальные механизмы, обеспечивающие восстановление овуляторной функции [14].

Уровень АМГ при СПКЯ также может быть предиктором эффективности терапии. В исследовании R. Thomson и соавт. [46] снижение массы тела сопровождалось нормализацией менструальных циклов, которые становились овуляторными у женщин с более низким уровнем АМГ, в то время как подобных изменений ни в одной из групп не наблюдалось. В исследовании L. Moran и соавт. [25] также было показано, что уровень АМГ является хорошим предиктором нормализации менструального цикла в ответ на снижение массы тела. Несмотря на сходную степень снижения массы тела, у женщин с более низким уровнем АМГ наблюдалось большее количество овуляторных циклов. Ответ на кломифена цитрат и лапароскопическую диатермокоагуляцию яичников у пациенток с СПКЯ также зависел от исходного уровня АМГ: овуляторные циклы после лечения восстанавливались при более низких его значениях [1, 13]. При этом после оперативного лечения уровень АМГ достоверно значимо снижался и оставался низким через 3 и 6 мес [1]. Концентрация АМГ в фолликулярной жидкости у женщин с СПКЯ, полученной в процессе пункции фолликулов при экстракорпоральном оплодотворении, оказалась ниже в случаях при наступлении беременности [8].

У женщин с СПКЯ чаще встречаются компоненты метаболического синдрома, такие как ожирение, нарушения углеводного обмена, дислипидемия, артериальная гипертензия, которые в свою очередь являются факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. В исследовании P. Skałba и соавт. [42] концентрация АМГ в сыворотке крови достоверно значимо положительно коррелировала с HOMA-IR, уровнем липопротеидов низкой плотности и отрицательно с уровнем липопротеидов высокой плотности. В то же время другие исследователи не выявили взаимосвязи уровня АМГ и инсулинорезистентности [23, 33, 50], а также других показателей, ассоциированных с метаболическим синдромом [23, 33].

Уровень АМГ в сыворотке крови точно отражает число антральных фолликулов в яичнике и является потенциальным диагностическим маркером СПКЯ [31]. В исследовании D. Dewailly и соавт. [9] оптимальное пороговое значение АМГ, равное 5 нг/мл, характеризовалось высокой чувствительностью (92%) и специфичностью (97%) и, по мнению авторов, должно быть включено в число диагностических критериев для СПКЯ, особенно при отсутствии возможности проведения адекватного ультразвукового исследования. H. Woo и соавт. [50] установили оптимальное пороговое значение АМГ, равное 7,82 нг/мл, однако следует отметить, что в данном исследовании женщины с ультразвуковыми признаками СПКЯ исключались из группы контроля.

АМГ является лучшим маркером снижения репродуктивного потенциала женщины, его концентрация в сыворотке крови уменьшается с возрастом у женщин с нормальными овуляторными циклами [38]. Подобное явление наблюдается и у женщин с СПКЯ, однако снижение уровня АМГ менее выражено, происходит более медленно и его показатели в 2—3 раза выше в сравнении с таковыми у здоровых женщин даже в позднем репродуктивном периоде [26, 32]. M. Hudecova и соавт. [18] показали, что у женщин старше 35 лет с СПКЯ средний объем яичника, число антральных фолликулов, уровень АМГ достоверно значимо выше в сравнении с их здоровыми сверстницами. В исследовании F. Tehrani и соавт. [45] расчетный возраст менопаузы (вычислялся при уровне АМГ <0,2 нг/мл на основании модели, созданной по результатам его нескольких измерений с определенными интервалами времени) соответствовал 51 году у женщин с СПКЯ и 49 годам у здоровых. АМГ также может быть предиктором восстановления овуляторной функции с возрастом. E. Carmina и соавт. [4] показали, что исходный уровень АМГ отрицательно коррелирует с вероятностью восстановления овуляторных циклов, а его уровень ⩽4 нг/мл ассоциирован с нормальной овуляторной функцией по истечении пятилетнего периода.

Итак, АМГ играет ингибирующую роль в яичнике, нарушая рост антральных фолликулов за счет снижения их чувствительности к ФСГ. Вряд ли АМГ является единственной причиной ановуляции, однако его влияние на экспрессию мРНК ФСГ-зависимой ароматазы и синтез эстрадиола в клетках гранулезы предполагают участие в механизмах роста и селекции фолликулов. Увеличенная продукция АМГ при СПКЯ препятствует нормальному снижению в процессе роста фолликулов, которое является важным условием для селекции доминантного фолликула. Необходимы дальнейшие более крупные исследования для изучения роли АМГ в патогенезе СПКЯ, что в дальнейшем позволит разработать новые методы терапии этого заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Amer S.A., Li T.C., Ledger W.L.* The value of measuring anti-Mullerian hormone in women with anovulatory polycystic ovary syndrome undergoing laparoscopic ovarian diathermy. Hum Reprod 2009; 24: 11: 2760—2766.
2. *Carlsen S.M., Vanky E., Fleming R.* Anti-Mullerian hormone concentrations in androgen-suppressed women with polycystic ovary syndrome. Human Reprod 2009; 24: 1732—1738.

3. *Carlsson I.B., Scott J.E., Visser J.A., Ritvos O., Themmen A.P., Hovatta O.* Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. Hum Reprod 2006; 21: 9: 2223—2227.
4. *Carmina E., Campagna A.M., Mansuet P., Vitale G., Kort D., Lobo R.* Does the level of serum antimüllerian hormone predict ovulatory function in women with polycystic ovary syndrome with aging? Fertil Steril 2012; 98: 4: 1043—1046.
5. *Catteau-Jonard S., Jamin S.P., Leclerc A., Gonzalès J., Dewailly D., di Clemente N.* Anti-Mullerian hormone, its receptor, FSH receptor, and androgen receptor genes are overexpressed by granulosa cells from stimulated follicles in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 2008; 93: 11: 4456—4461.
6. *Conway G.S., Jacobs H.S.* Clinical implications of hyperinsulinaemia in women. Clin Endocrinol (Oxford) 1993; 39: 6: 623—632.
7. *Das M., Gillott D.J., Saridogan E., Djahanbakhch O.* Anti-Müllerian hormone is increased in follicular fluid from unstimulated ovaries in women with polycystic ovary sundrome. Human Reprod 2008; 23: 2122—2126.
8. *Desforges-Bullet V., Gallo C., Lefebvre C., Pigny P., Dewailly D., Catteau-Jonard S.* Increased anti-Müllerian hormone and decreased FSH levels in follicular fluid obtained in women with polycystic ovaries at the time of follicle puncture for in vitro fertilization. Fertil Steril 2010; 94: 1: 198—204.
9. *Dewailly D., Gronier H., Poncelet E., Robin G., Leroy M., Pigny P., Duhamel A., Catteau-Jonard S.* Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. Hum Reprod 2011; 26: 11: 3123—3129.
10. *Dunaif A., Mandeli J., Fluhr H., Dobrjansky A.* The impact of obesity and chronic hyperinsulinemia on gonadotropin release and gonadal steroid secretion in the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 1988; 66: 1: 131—139.
11. *Durlinger A.L., Gruijters M.J., Kramer P., Karels B., Kumar T.R., Matzuk M.M., Rose U.M., de Jong F.H., Uilenbroek J.T., Grootegoed J.A., Themmen A.P.* Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. Endocrinology 2001; 142: 11: 4891—4899.
12. *Eldar-Geva T., Margalioth E.J., Gai M., Ben-Chetrit A., Algur N., Zylber-Haran E., Brooks B., Huerta M., Spitz I.M.* Serum anti-Mullerianhormone levels during controlled ovarian hyperstimulation in women inpolycystic ovaries with and without hyperandrogenism. Human Reprod 2005; 20: 1814—1819.
13. *El-Halawaty S., Rizk A., Kamal M., Aboulhassan M., Al-Sawah H., Noah O., Al-Inany H.* Clinical significance of serum concentration of anti-Müllerian hormone in obese women with polycystic ovary syndrome. Reprod Biomed Online 2007; 15: 495—499.
14. *Falbo A., Rocca M., Russo T., D'Ettore A., Tolino A., Zullo F., Orio F., Palomba S.* Serum and follicular anti-Mullerian hormone levels in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) under metformin. J Ovarian Res 2010; 3: 16.
15. *Fleming R., Harborne L., MacLaughlin D.T., Ling D., Norman J., Sattar N., Seifer D.B.* Metformin reduces serum mullerian-inhibiting substance levels in women with polycystic ovary syndrome after protracted treatment. Fertil Steril 2005; 83: 130—136.
16. *Gilling-Smith C., Willis D.S., Beard R.W., Franks S.* Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. J Clin Endocrinol Metabol 1994; 79: 4: 1158—1165.
17. *Grossman M.P., Nakajima S.T., Fallat M.E., Siow Y.* Müllerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. Fertil Steril 2008; 89: 5: Suppl: 1364—1370.
18. *Hudecova M., Holte J., Olovsson M., Sundström Poromaa I.* Long-term follow-up of patients with polycystic ovary syndrome:reproductive outcome and ovarian reserve. Hum Reprod 2009; 24: 5: 1176—1183.
19. *Jonard S., DeWailly D.* The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. Hum Reprod Update 2004; 10: 107—117.
20. *Kevenaar M.E., Laven J.S., Fong S.L., Uitterlinden A.G., de Jong F.H., Themmen A.P., Visser J.A.* A functional anti-mullerian hormone gene polymorphism is associated with follicle number and androgen levels in polycystic ovary syndrome patients. J Clin Endocrinol Metabol 2008; 93: 4: 1310—1316.
21. *Kevenaar M.E., Themmen A.P., van Kerkwijk A.J., Valkenburg O., Uitterlinden A.G., de Jong F.H., Laven J.S., Visser J.A.* Variants in the ACVR1 gene are associated with AMH levels in women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod 2009; 24: 1: 241—249.
22. *Laven J.S.E., Mulders A.M., Visser J., Themmen A.P., de Jong F.H., Fauser B.C.J.M.* Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. J Clin Endocrinol Metabol 2004; 89: 318—323.
23. *Lin Y.H., Chiu W.C., Wu C.H., Tzeng C.R., Hsu C.S., Hsu M.I.* Antimüllerian hormone and polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2011; 96: 1: 230—235.
24. *La Marca A., Orvieto R., Giulini S., Jasonni V.M., Volpe A., De Leo V.* Mullerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. Fertil Steril 2004; 82: 970—972.
25. *Moran L.J., Noakes M., Clifton P.M., Norman R.J.* The use of anti-Müllerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 2007; 92: 3796—3802.
26. *Mulders A.G., Laven J.S., Eijkemans M.J., de Jong F.H., Themmen A.P.N., Fauser B.C.* Changes in anti-Mullerian hormone serum concentrations over time suggest delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility. Human Reprod 2004; 19: 2036—2042.
27. *Panidis D., Georgopoulos N.A., Piouka A., Katsikis I., Saltamavros A.D., Decavalas G., Diamanti-Kandarakis E.* The impact of oral contraceptives and metformin on anti-Müllerian hormone serum levels in women withpolycystic ovary syndrome and biochemical hyperandrogenemia. Gynecol Endocrinol 2011; 27: 8: 587—592.
28. *Pellatt L., Hanna L., Brincat M., Galea R., Brain H., Whitehead S., Mason H.D.* Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone (AMH) is increased in the polycystic ovary. J Clin Endocrinol Metabol 2007; 90: 240—245.
29. *Pellatt L., Rice S., Mason H.D.* Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high? Reproduction 2010; 139: 5: 825—833.
30. *Pigny P., Merlen E., Robert Y., Cortet-Rudelli C., Decanter C., Jonard S., Dewailley D.* Elevated serum level of anti-Mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicle arrest. J Clin Endocrinol Metabol 2003; 88: 5957—5962.
31. *Pigny P., Jonard S., Robert Y., Dewailly D.* Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 2006; 91: 3: 941—945.
32. *Piltonen T., Morin-Papunen L., Koivunen R., Perheentupa A., Ruokonen A., Tapanainen J.S.* Serum AMH levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin treatment in women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod 2005; 20: 1820—1826.
33. *Piouka A., Farmakiotis D., Katsikis I., Macut D., Gerou S., Panidis D.* Anti-Mullerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels. Am J Physiol Endocrinol Metabol 2009; 296: E238—E243.
34. *Rajpert-De Meyts E., Jørgensen N., Graem N., Müller J., Cate R.L., Skakkebaek N.E.* Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: as-

sociation with differentiation of Sertoli and granulosa cells. J Clin Endocrinol Metabol 1999; 84: 10: 3836—3844.

35. *Rey R., Lordereau-Richard I., Carel J.C., Barbet P., Cate R.L., Roger M., Chaussain J.L., Josso N.* Anti-Müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development. J Clin Endocrinol Metabol 1993; 77: 5: 1220—1226.
36. *Rice S., Ojha K., Whitehead S., Mason H.* Stage-specific expression of androgen receptor, follicle-stimulating hormone receptor, and anti-Müllerian hormone type II receptor in single, isolated, human preantral follicles: relevance to polycystic ovaries. J Clin Endocrinol Metabol 2007; 92: 3: 1034—1040.
37. *Romualdi D., De Cicco S., Tagliaferri V., Proto C., Lanzone A., Guido M.* The metabolic status modulates the effect of metformin on the antimullerian hormone-androgens-insulin interplay in obese women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 2011; 96: 5: E821—E824.
38. *van Rooij I.A., Broekmans F.J., Scheffer G.J., Looman C.W., Habbema J.D., deJong F.H., Fauser B.J., Themmen A.P., te Velde E.R.* Serum anti-Mullerianhormone levels best reflect the reproductive decline with age innormal women with proven fertility: a longitudinal study. Fertil Steril 2005; 83: 979—987.
39. *Schmidt K.L., Kryger-Baggesen N., Byskov A.G., Andersen C.Y.* Anti-Müllerian hormone initiates growth of human primordial follicles in vitro. Mol Cell Endocrinol 2005; 234: 1—2: 87—93.
40. *Siow Y., Kives S., Hertweek P., Perlman S., Fallat M.E.* Serum Müllerian inhibiting substance levels in adolescent girls with normal menstrual cycles or with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2005; 84: 938—944.
41. *Sir Petermann T., Conder T., Mliqueo M., Echiburu B., Hitschfeld C., Cristoto N.* Increased anti-Müllerian hormone serum concentrations in prepubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 2006; 91: 3105—3109.
42. *Skałba P., Cygal A., Madej P., Dąbkowska-Huć A., Sikora J., Martirosian G., Romanik M., Olszanecka-Glinianowicz M.* Is the plasma anti-Müllerian hormone (AMH) level associated with body weight and metabolic, and hormonal disturbances in women with and without polycystic ovary syndrome? Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2011; 158: 2: 254—259.
43. *Somunkiran A., Yavuz T., Yucel O., Ozdemir I.* Anti-Müllerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2007; 134: 2: 196—201.
44. *Stubbs S.A., Hardy K., Da Silva-Buttkus P., Stark J., Webber L.J., Flanagan A.M., Themmen A.P., Visser J.A., Groome N.P., Franks S.* Anti-Müllerian hormone protein expression is reduced during the initial stages of follicle development in human polycystic ovaries. J Clin Endocrinol Metabol 2005; 90: 10: 5536—5543.
45. *Tehrani F.R., Solaymani-Dodaran M., Hedayati M., Azizi F.* Is polycystic ovary syndrome an exception for reproductive aging? Hum Reprod 2010; 25: 7: 1775—1781.
46. *Thomson R.L., Buckley J.D., Moran L.J., Noakes M., Clifton P.M., Norman R.J., Brinkworth G.D.* The effect of weight loss on anti-Mullerian hormone levels in overweight and obese women with polycystic ovarysyndrome and reproductive impairment. Human Reprod 2009; 24: 1976—1981.
47. *Tomova A., Deepinder F., Robeva R., Kirilov G., Mechandjiev Z., Kumanov P.* Anti-Müllerian hormone in women with polycystic ovary syndrome before and after therapy with metformin. Horm Metabol Res 2011; 43: 10: 723—727.
48. *Vigier B., Picard J.Y., Tran D., Legeai L., Josso N.* Production of anti-Mullerian hormone: another homology between Sertoli and granulose cells. Endocrinology 1984; 144: 1315—1320.
49. *Willis D., Mason H., Gilling-Smith C., Franks S.* Modulation by insulin of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone actions in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. J Clin Endocrinol Metabol 1996; 81: 1: 302—309.
50. *Woo H.Y., Kim K.H., Rhee E.J., Park H., Lee M.K.* Differences of the association of anti-Müllerian hormone with clinical or biochemical characteristics between women with and without polycystic ovary syndrome. Endocrinol J 2012; 59: 9: 781—790.