

P R A C E P O G L Ą D O W E
położnictwo

Hormon anty-Müllerowski a zaburzenia płodności u otyłych kobiet i kobiet z zespołem policystycznych jajników

Anti-Müllerian hormone and fertility disturbances in obese women and women with polycystic ovary syndrome

Wikarek Tomasz¹, Olszanecka-Glinianowicz Magdalena¹,
Chudek Jerzy², Sikora Jerzy³, Skalba Piotr⁴

¹ Zakład Promocji Zdrowia i Leczenia Otyłości, Katedry Patofizjologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Polska

² Zakład Patofizjologii, Katedry Patofizjologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Polska

³ Klinika Perinatologii i Ginekologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Polska

⁴ Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Katedry Ginekologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Polska

Streszczenie

Hormon anty-Müllerowski (AMH) należy do rodziny czynników wzrostu i różnicowania beta (TGFβ). W okresie życia płodowego jego główną znaną rolą jest indukowanie zaniku przewodów Müllera u płodów płci męskiej. Natomiast u kobiet AMH zaczyna odgrywać istotną rolę dopiero w okresie dojrzewania i później w okresie rozrodczym. AMH uczestniczy w regulacji folikulogenezy, hamując proces rekrutacji pęcherzyków zarodkowych poprzez zmniejszenie wpływu FSH na wzrost pęcherzyków preantralnych i antralnych.

Celem niniejszego opracowania jest podsumowanie dotychczasowej wiedzy dotyczącej roli AMH w zaburzeniach miesiączkowania i płodności u kobiet otyłych i z zespołem policystycznych jajników.

Słowa kluczowe: **otyłość / zespół policystycznych jajników (PCOS) /
zaburzenia miesiączkowania / menopauza /**

Adres korespondencyjny:

Magdalena Olszanecka-Glinianowicz

Zakład Promocji Zdrowia i Leczenia Otyłości, Katedry Patofizjologii SUM w Katowicach

ul. Medyków 18, 40-752 Katowice, Polska

e-mail: magols@esculap.pl

Otrzymano: 20.10.2010

Zaakceptowano do druku: 20.02.2011

Summary

Anti-Müllerian hormone (AMH) belongs to a family of growth and differentiation factors beta (TGF-beta). In male fetuses AMH induces regression of Müller's ducts whereas in female ones this hormone plays an important role during adolescence and reproductive period. AMH participates in regulation of folliculogenesis by inhibiting the recruitment of prenatal and antral follicles.

The aim of the present study was to summarize the current knowledge of the role of AMH in menstrual and fertility disturbances in obese women and those with polycystic ovary syndrome.

Key words: **obesity / polycystic ovary syndrome (PCOS) /
menstruation disturbances / menopause /**

Wstęp

W 1947 roku zaobserwowano, że w czasie rozwoju płodu męskiego dochodzi do uwalniania innego niż testosteron czynnika powodującego zanik przewodów Müllera, który nazwano hormonem anty-Müllerowskim (AMH). Dalsze badania wykazały, że AMH jest drugim obok testosteronu hormonem niezbędnym w procesie prawidłowego rozwoju męskich wewnętrznych narządów płciowych [1].

Hormon ten jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej 140 kD należąca do rodziny czynników wzrostu i różnicowania beta (TGFβ) [2]. Gen AMH jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 19. W obszarze promotorowym znajduje się kilka miejsc wiążących czynniki transkrypcyjne. Pierwszy z nich zbudowany z 20 par zasad, wiąże steroidogenny czynnik 1 (SF-1), drugi znajdujący się około 50 par zasad od niego połączy się z grupą białek SOX-9, a trzeci zlokalizowany w pobliżu końca 3' z czynnikiem GATA-4. Wiele badań sugeruje, że czynnikami inicjującymi transkrypcję AMH są białka SOX-9, a czynnikami regulującymi ten proces są: SF-1, czynnik supresyjny nowotworu Wilmsa 1 (WT-1) i czynnik transkrypcyjny GATA-4 [8-11]. W regulacji ekspresji uczestniczy także spliceosom Sab62 złożony z 180pb [3-7]. Ekspresja i wydzielanie AMH są hamowane przez androgeny i estrogeny, a w przypadku ich niedoboru lub defektu receptorowego również gonadotropiny [13-15].

Biologiczne działanie AMH jest zależne od aktywacji dwóch receptorów błonowych AMH-RI i AMH-RII, których ekspresję wykazano w komórkach mezenchymalnych otaczających przewody Müllera, jądrach, komórkach warstwy ziarnistej i tekalnej jajnika. AMH wiążąc się z AMH-RII aktywuje fosforylację tyrozyny w AMH-RI. Powstały kompleks złożony z AMH i jego receptorów błonowych, indukuje fosforylację białek R-Smad, a następnie transkrypcję TGF-beta i aktywiny [16-19].

Rola AMH w życiu płodowym

U płodów płci męskiej wzrost ekspresji i wydzielania AMH w komórkach Sertoliego występuje już około 8 tygodnia życia płodowego. Maksymalną produkcję tego hormonu obserwuje się między 12 a 16 tygodniem życia płodowego, która utrzymuje się na wysokim poziomie do momentu osiągnięcia dojrzałości płciowej, po czym u dorosłych mężczyzn istotnie się zmniejsza [20].

Natomiast u płodów żeńskich produkcja AMH rozpoczyna się około 36 tygodnia życia płodowego. W badaniach doświadczalnych stwierdzono, że brak wydzielania tego hormonu zapewnia prawidłowy rozwój jajowodów i macicy [13-15].

AMH a proces reprodukcji

Do zwiększenia ekspresji genu AMH dochodzi w komórkach warstwy ziarnistej pęcherzyków pierwotnych we wczesnym stadium tworzenia jamki i na podobnym poziomie utrzymuje się ona do osiągnięcia przez pęcherzyk przedowulacyjny rozmiaru około 4 mm. Wydzielanie tego hormonu obserwuje się od momentu rekrutacji pęcherzyka aż do fazy przedowulacyjnej jego rozwoju [13-15].

Wyniki badań doświadczalnych wskazują, że AMH w mechanizmie parakrynnym hamuje dojrzewanie pęcherzyków zarodkowych [21, 22] i produkcję estradiolu poprzez hamowanie aktywności aromatazy w komórkach ziarnistych [23, 24].

Podwyższone stężenie krążącego AMH w okresie przedpokwitaniowym, gdy oś podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalna jest jeszcze mało aktywna i w okresie dojrzewania, kiedy dochodzi do jej aktywacji sugeruje, że AMH może być markerem wzrostu pęcherzyków jajnikowych niezależnie od aktywności tej osi [25].

W okresie dojrzałości płciowej, w czasie cyklu miesięczkowego stężenie w osoczu AMH ulega niewielkim zmianom. Wydaje się, że zwiększone stężenia wolnego testosteronu i androstendionu powodują wzrost wydzielania AMH, chociaż nie można wykluczyć, że to zwiększone wydzielanie AMH stymuluje produkcję androgenów w wyniku hamowania aktywności aromatazy [26, 27].

Stężenie w osoczu AMH zmniejsza się z wiekiem, a znacznie obniżone wartości występują u kobiet z niepłodnością uwarunkowaną niewydolnością jajnika [28-30]. Wyniki własnych niepublikowanych badań sugerują, że w przypadkach przedwczesnego wygasania czynności jajników stężenie AMH w osoczu znacznie się obniża nawet do wartości nieoznaczalnych. U młodych kobiet z prawidłowym cyklem miesięczkowym w czasie trzyletniej prospektywnej obserwacji wykazano obniżanie się stężenia AMH w osoczu [25]. Późniejsze analizy wykazały, że obniżenie stężenia tego hormonu w krążeniu jest związane ze zmniejszającą się z wiekiem liczbą pęcherzyków antralnych [31]. Dlatego coraz częściej uważa się, że obniżanie się stężenia w osoczu AMH może być wczesnym markerem zarówno fizjologicznego jak i patologicznego (POF) starzenia się jajnika. (Tabela I).

Sugeruje się także, że oznaczanie stężeń AMH może być pomocne w przewidywaniu powrotu regularnych owulacyjnych cykli miesięczkowych u otyłych kobiet z zespołem PCO po redukcji masy ciała. Niższe wyjściowe stężenia tego hormonu wydają się być korzystnym czynnikiem prognostycznym.

Hormon anti-Müllerowski a zaburzenia płodności u otyłych kobiet i kobiet z zespołem policystycznych jajników.

Tabela I. Rola AMH w procesie reprodukcji u kobiet.

Okres życia płodowego	Okres reprodukcji	Okres okołomenopauzalny
<ul style="list-style-type: none"> Niskie stężenie AMH u płodów żeńskich umożliwia prawidłowy rozwój jajników i macicy 	<ul style="list-style-type: none"> Hamowanie dojrzewania pęcherzyków zarodkowych Hamowanie syntezy estradiolu poprzez obniżenie aktywności aromatazy Marker rezerwy jajnikowej Czynnik prognostyczny skuteczności zapłodnienia pozaustrojowego IVF (<i>in vitro fertilisation</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Zmniejszenie stężenia AMH w następstwie zmniejszenia liczby pęcherzyków zarodkowych

Ponadto AMH może być markerem rezerwy jajnikowej u kobiet poddawanych zapłodnieniu pozaustrojowemu (jego wyższe stężenia występują u kobiet z prawidłową odpowiedzią na stymulację hormonalną owulacji), a także u kobiet po leczeniu radio- i chemioterapią. Niektórzy autorzy uważają nawet, że stężenie w osoczu AMH może być bardziej przydatne w kwalifikacji kobiet do zapłodnienia pozaustrojowego niż wiek metrykalny [32, 33].

AMH a zaburzenia owulacji u otyłych kobiet

Zaburzenia miesiączkowania i owulacji często wiążą się z otyłością. Dotychczasowe badania wykazały, że istotną rolę w patomechanizmie tych zaburzeń odgrywiają: hiperinsulinemia, insulinooporność i zwiększona aktywacja osi podwzgórze-przysadka-nadnercza i gonady [34].

Wyniki ostatnich badań sugerują, że w zaburzeniach płodności u otyłych kobiet mogą uczestniczyć również zmiany wydzielania AMH. Jednak nie do końca wyjaśniono czy zmniejszone wydzielanie tego hormonu jest ich przyczyną, czy też skutkiem nadmiernej aktywacji gonady przez hormony tropowe przysadki. U otyłych kobiet w późnym wieku reprodukcyjnym wykazano niższe o około 65% stężenie krążącego AMH u porównaniu z kobietami o prawidłowej masie ciała i odwrotną zależność między wskaźnikiem masy ciała (BMI) i jego stężeniem w osoczu [35, 36]. Jak już wspomniano niższe stężenie AMH u otyłych kobiet może być efektem zmniejszenia rezerwy jajnikowej [35].

Z drugiej strony sugeruje się, że przyczynami obniżenia wydzielania AMH może być hiperinsulinemia i insulinooporność, chociaż nie jest jasne w jakim mechanizmie zaburzenia te powodują upośledzenie steroidogenezy jajnikowej. Ostatnie badania sugerują, że zmiany wydzielania hormonów tkanki tłuszczowej, do których dochodzi u otyłych kobiet mogą również wpływać na wydzielanie AMH. Obserwowano, że stężenie krążącego AMH jest odwrotnie proporcjonalne do stężenia w osoczu białka wiążącego retinol-4 (RBP-4) oraz proporcjonalne do stężenia adiponektyny. Nie wyjaśniono dotychczas czy adipokiny te wpływają na wydzielanie AMH bezpośrednio czy też pośrednio poprzez insulinooporność [37]. (Rycina 1).

AMH w zespole policystycznych jajników

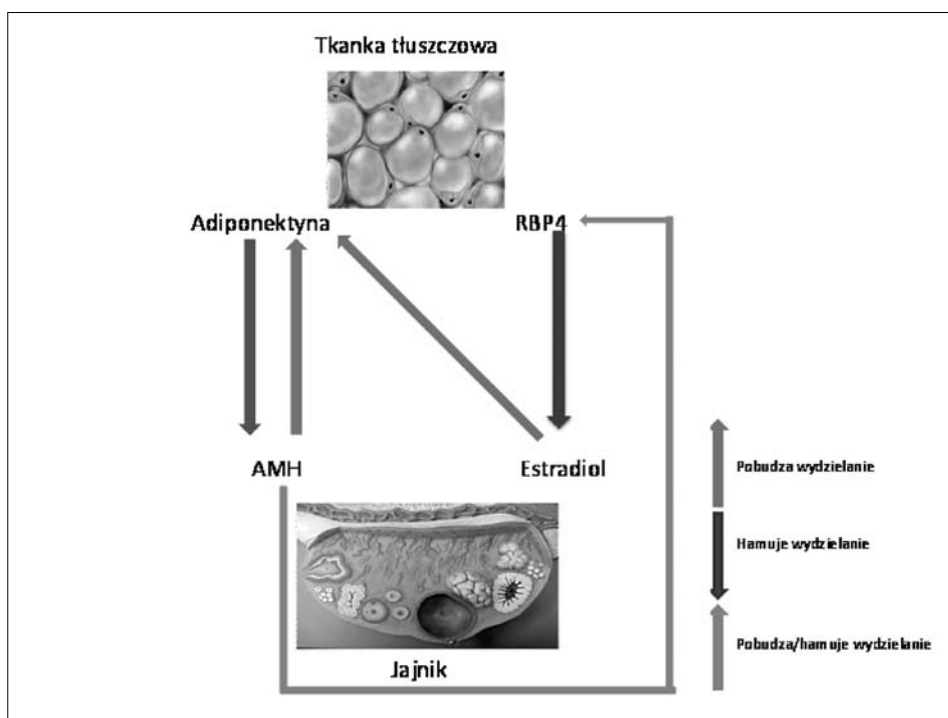
Zespół PCO jest przyczyną około 6% bezpłodności. Mimo, że obraz kliniczny PCO został opisany w 1935 roku, wiedza dotycząca jego patogenyzy jest nadal fragmentaryczna i wciąż

poszukuje się kolejnych jej ogniw. Zespół ten jest heterogenny zarówno pod względem objawów klinicznych jak i cech fenotypowych, dlatego wydaje się że może być wywoływany przez kilka mechanizmów. U części kobiet z zespołem PCO, zarówno otyłych jak i z prawidłową masą ciała ważną rolę w jego patogenyzy może odgrywać insulinooporność i hiperinsulinemia. Sugeruje się nawet, że występowanie tych zaburzeń metabolicznych u kobiet w wieku rozrodczym należy traktować jako stan poprzedzający rozwój zespołu PCO [38]. Podwyższone stężenie insuliny w krążeniu obserwowano u córek kobiet z rozpoznany z zespołem PCO [39].

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się udziałowi hormonów tkanki tłuszczowej w patogenyzy tego zespołu. Wydaje się, że mogą one wpływać na funkcję jajnika zarówno pośrednio poprzez swój udział w rozwoju insulinooporności, jak i bezpośrednio wpływając na rozwój pęcherzyków i steroidogenezy jajnikowej [40-45].

Jednak pomimo poznawania kolejnych czynników mogących uczestniczyć w zaburzeniach dojrzewania pęcherzyka dominującego, mechanizm tych zaburzeń nadal pozostaje nie do końca wyjaśniony. Wydaje się, że głównym czynnikiem zaburzającym folikulogenezę jest nadprodukcja androgenów jajnikowych, które nasilają proliferację komórek ziarnistych głównie w obrębie małych pęcherzyków i hamują ich apoptozę [46]. W jajniku kobiet z zespołem PCO liczba małych pęcherzyków antralnych (o średnicy 2-5mm) zwiększa się 2-3 krotnie w stosunku do występującej u zdrowych kobiet. Obserwowano, że ich liczba jest proporcjonalna do stężeń osoczowych androgenów i AMH [47]. AMH hamując aromatazę w jajniku może nasilać produkcję androgenów, jednak hipoteza ta nie została niepodważalnie potwierdzona [31]. Dotychczas nie wyjaśniono czy wzrost produkcji AMH jest przyczyną, czy też skutkiem zwiększonej liczby małych pęcherzyków antralnych w policystycznym jajniku. Wyniki niektórych badań sugerują, że wzrost stężenia AMH może być wynikiem zwiększenia się liczby małych pęcherzyków antralnych, co z kolei hamuje ich dalszy wzrost do pęcherzyków o średnicy 6-9mm i rozwój pęcherzyka dominującego.

U kobiet z zespołem PCO stężenie w osoczu AMH jest 2-3-krotnie wyższe niż u kobiet zdrowych. Jednak w zespole PCO w przeciwieństwie do zdrowych kobiet wyraźne obniżenie stężenia AMH obserwuje się dopiero po 40 roku życia. Ponadto wyższe stężenie tego hormonu występuje u kobiet z zespołem PCO z wtórnym brakiem miesiączki, niż u tych z nieregularnie występującymi krwawieniami.



Rycina 1. Wpływ AMH na hormony tkanki tłuszczowej jajnika.

Wykazano również, że stężenie AMH w osoczu u kobiet z zespołem PCO koreluje dodatnio z takimi cechami klinicznymi tego zespołu jak czas między krwawieniami, średnia objętość jajnika, stężenie w surowicy testosteronu i androstendionu oraz wartością indeksu wolnych androgenów [48]. Wyniki niepublikowanych badań własnych wykazały również ujemne korelacje między stężeniem w osoczu AMH i FSH oraz estradiolu u kobiet z zespołem PCO. Za udziałem AMH w patogenezie zespołu PCO przemawia zwiększanie się regularności cykli miesięczkowej wraz ze starzeniem się, kiedy zmniejsza się produkcja i stężenie tego hormonu [49]. Z drugiej strony obserwowano również, że relatywnie wysokie stężenie AMH u kobiet z zespołem PCO po 35 roku życia powoduje opóźnienie wystąpienia menopauzy [48]. Drugim argumentem przemawiającym za udziałem AMH w patogenezie zespołu PCO są badania, które wykazały podwyższone stężenie krążącego AMH u córek kobiet z tym zespołem, już w okresie przedpokwitaniowym [50].

Wydaje się, że AMH może być jednym z ogniw wiążących insulinoporność z nadmiarem androgenów jajnikowych, ponieważ długotrwałe podawanie metforminy powoduje zmniejszenie liczby małych pęcherzyków i obniżenie stężenia krążącego AMH u kobiet z zespołem PCO. Autorzy ci sugerują, że pomiar stężenia AMH w osoczu może być przydatnym markerem oceny skuteczności zastosowanego leczenia [51, 52].

Z drugiej strony oznaczenie stężenia w osoczu AMH jako markera zespołu PCO ma niewielki potencjał diagnostyczny (61,7% czułość i 70% swoistość przy stężeniu 8ng/ml) [53]. Natomiast, jak pokazały ostatnie badania, stężenie w osoczu AMH może być markerem hiperandrogenizmu w zespole PCO [54].

Jednak jak opisano powyżej, u otyłych kobiet bez zespołu PCO insulinoporność i hiperinsulinemia są związane z niższym stężeniem AMH, co sugeruje, że związek między tymi zaburzeniami i steroidogenezą jajnikową jest bardziej złożony i wymaga dalszych badań uwzględniających wpływ adipokin na wydzielanie tego hormonu zarówno u kobiet z PCOS, jak i kobiet otyłych i otyłych metabolicznie.

Podsumowując, wydaje się, że AMH może stanowić jedno z ważnych ogniw złożonej patogenezy zaburzeń miesiączkowania i płodności u otyłych kobiet z i bez zespołu policystycznych jajników, jednak jego rola i powiązania z innymi czynnikami wymagają dalszej szczegółowej oceny w badaniach doświadczalnych i klinicznych.

Piśmiennictwo

- Allard S, Adin P, Gouédard L, [et al.]. Molecular mechanisms of hormone-mediated Müllerian duct regression: involvement of beta-catenin. *Development*. 2000, 127, 3349-3360.
- Cate R, Mattaliano R, Hession C, [et al.]. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell*. 1986, 45, 685-698.
- Cohen-Haguenuer O, Picard J, Mattèi M, [et al.]. Mapping of the gene for anti-müllerian hormone to the short arm of human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet*. 1987, 44, 2-6.
- Paschon J, Behringer R, Cate R, [et al.]. Directed expression of an oncogene to Sertoli cells in transgenic mice using müllerian inhibiting substance regulatory sequences. *Mol Endocrinol*. 1992, 6, 1403-1411.
- Dutertre M, Rey R, Porteu A, [et al.]. A mouse Sertoli cell line expressing anti-Müllerian hormone and its type II receptor. *Mol Cell Endocrinol*. 1997, 136, 57-65.

Hormon anti-Müllerowski a zaburzenia płodności u otyłych kobiet i kobiet z zespołem policystycznych jajników.

6. Giulli G, Shen W, Ingraham H, [et al.]. The nuclear receptor SF-1 mediates sexually dimorphic expression of Müllerian Inhibiting Substance, in vivo. *Development*. 1997, 124, 1799-1807.
7. Dresser D, Hacker A, Lovell-Badge R, Guerrier D. The genes for a spliceosome protein (SAP62) and the anti-Müllerian hormone (AMH) are contiguous. *Hum Mol Genet*. 1995, 4, 1613-1618.
8. Arango N, Lovell-Badge R, Behringer R. Targeted mutagenesis of the endogenous mouse *Mis* gene promoter: in vivo definition of genetic pathways of vertebrate sexual development. *Cell*. 1999, 99, 409-419.
9. Tremblay J, Viger R. Transcription Factor GATA-4 enhances Müllerian Inhibiting Substance gene transcription through a direct interaction with the nuclear receptor SF-1. *Mol Endocrinol*. 1999, 13, 1388-1401.
10. Nachtigal M, Hirokawa Y, Enyart-VanHouten D, [et al.]. Wilms' tumor 1 and Dax-1 modulate the orphan nuclear receptor SF-1 in sex-specific gene expression. *Cell*. 1998, 93, 445-454.
11. De Santa Barbara P, Bonneaud N, Boizet B, [et al.]. Direct interaction of SRY-related protein SOX9 and steroidogenic factor 1 regulates transcription of the human anti-Müllerian hormone gene. *Mol Cell Biol*. 1998, 18, 6653-6665.
12. Rey R, Mebarki F, Forest M, [et al.]. Anti-müllerian hormone in children with androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994, 79, 960-964.
13. Lee M, Donahoe P, Hasegawa T. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996, 81, 571-576.
14. Baarends W, Uilenbroek J, Kramer P, [et al.]. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology*. 1995, 136, 4951-4962.
15. Weenen C, Laven J, von Bergh A, [et al.]. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*. 2004, 10, 77-83.
16. Macias-Silva M, Abdollah S, Hoodless P, [et al.]. MADR2 is a substrate of the TGF β receptor and its phosphorylation is required for nuclear accumulation and signaling. *Cell*. 1996, 87, 1215-1224.
17. Kretzschmar M, Liu F, Hata A, [et al.]. The TGF-beta family mediator Smad1 is phosphorylated directly and activated functionally by the BMP receptor kinase. *Genes Dev*. 1997, 11, 984-995.
18. Gouédard L, Chen Y, Thevenet L, [et al.]. Engagement of bone morphogenetic protein type IB receptor and Smad1 signaling by anti-Müllerian hormone and its type II receptor. *J Biol Chem*. 2000, 275, 27973-27978.
19. Heldin C, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-beta signaling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*. 1997, 390, 465-471.
20. Josso N, Lammare I, Picard Y, [et al.]. Anti-Müllerian hormone in early human development. *Early Hum Develop*. 1993, 33, 91-99.
21. Durlinger A, Gruijters M, Kramer P, [et al.]. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology*. 2002, 143, 1076-1084.
22. Josso N, di Clemente N, Gouédard L. Anti-Müllerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol*. 2001, 179, 25-32.
23. Durlinger A, Gruijters M, Kramer P, [et al.]. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology*. 2001, 142, 4891-4899.
24. Durlinger A, Kramer P, Karels B, [et al.]. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*. 1999, 140, 5789-5796.
25. De Vet A, Laven J, de Jong F, [et al.]. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril*. 2002, 77, 357-362.
26. Wunder D, Bersinger N, Yared M, [et al.]. Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril*. 2008, 89, 927-933.
27. Li L, Mo YQ, Chen XI, [et al.]. Effect of anti-Müllerian hormone on P450 aromatase mRNA expression in cultured human luteinized granulosa cells. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2009, 44, 191-195.
28. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, [et al.]. Anti-müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod*. 2007, 22, 766-771.
29. McIlveen M, Skull J, Ledger W. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. *Hum Reprod*. 2007, 22, 778-785.
30. Van Rooij I, Tonkelaar I, Broekmans F, [et al.]. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause*. 2004, 11, 601-606.
31. Visser J, de Jong F, Laven J, Themmen A. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*. 2006, 131, 1-9.
32. Skalba P, Cygal A, Dąbkowska-Huć A. Wpływ hormonu anti-Mullerowskiego (AMH) na folikulogenezę. *Ginekol Pol*. 2008, 79, 137-140.
33. Visser J, Themmen A. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2005, 234, 81-86.
34. Olszanecka-Glinianowicz M, Banaś M, Zahorska-Markiewicz B, [i wsp.]. Ocena profilu hormonalnego otyłych kobiet bez chorób towarzyszących i otyłych kobiet z zespołem policystycznych jajników. *Endokrynol Pol*. 2004, 55, 48-55.
35. Freeman E, Gracia C, Sammel M, [et al.]. Association of anti-müllerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women. *Fertil Steril*. 2007, 87, 101-106.
36. Gracia C, Freeman E, Sammel M, [et al.]. The relationship between obesity and race on inhibin B during the menopause transition. *Menopause*. 2005, 12, 559-566.
37. Park H, Cho G, Ahn K, [et al.]. Association of insulin resistance with anti-Müllerian hormone levels in women without polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clin Endocrinol*. 2010, 72, 26-31.
38. Ibanéz L, Potau N, Zampolli M, [et al.]. Hyperinsulinemia and decreased insulin-like growth factor-binding protein-1 are common features in prepubertal and pubertal girls with a history of premature pubarche. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997, 82, 2283-2288.
39. Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin*. 1999, 28, 361-378.
40. Campos D, Palin M, Bordignon V, Murphy B. The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility. *Int J Obes*. 2008, 32, 223-231.
41. Kershaw E, Flier J. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004, 89, 2548-2556.
42. Cervero A, Dominguez F, Horcajadas J, [et al.]. The role of the leptin in reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2006, 18, 297-303.
43. Yang Q, Graham T, Mody N, [et al.]. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 2005, 436, 356-362.
44. Chabrolle C, Tosca L, Dupont J. Regulation of adiponectin and its receptors in rat ovary by human chorionic gonadotropin treatment and potential involvement of adiponectin in granulosa cell steroidogenesis. *Reproduction*. 2007, 133, 719-731.
45. Ledoux S, Campos D, Lopes F, [et al.]. Adiponectin induces periovulatory changes in ovarian follicular cells. *Endocrinology*. 2006, 147, 5178-5186.
46. Vendola K, Zhou J, Adesanya O, [et al.]. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest*. 1998, 101, 2622-2629.
47. Hughesdon P. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called "hyperthecosis". *Obstet Gynecol Surv*. 1982, 37, 59-77.
48. La Marca A, Orvieto R, Giulini S, [et al.]. Müllerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril*. 2004, 82, 970-972.
49. Durlinger A, Kramer P, Karels B, [et al.]. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*. 1999, 140, 5789-5796.
50. Sir-Petermann T, Codner E, Maliqueo M, [et al.]. Increased anti-Müllerian hormone serum concentrations in prepubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006, 91, 3105-3109.
51. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, [et al.]. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2005, 20, 1820-1826.
52. Falbo A, Rocca M, Russo T, [et al.]. Serum and follicular anti-Müllerian hormone levels in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) under metformin. *J Ovarian Res*. 2010, 3, 16.
53. Li L, Chen X, Mo Y, [et al.]. Elevated serum anti-müllerian hormone in adolescent and young adult Chinese patients with polycystic ovary syndrome. *Wien Klin Wochenschr*. 2010, 122, 519-524.
54. Dewailly D, Pigny P, Soudan B, [et al.]. Reconciling the definitions of polycystic ovary syndrome: the ovarian follicle number and serum anti-Müllerian hormone concentrations aggregate with the markers of hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010, 95, 4399-4405.