

Роль антимюллера гормона в женской репродукции

И. В. Кузнецова, д.м.н., проф. кафедры
Ю. С. Драпкина, клинический ординатор кафедры

Кафедра акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва

Role of anti-müllerian hormone in female reproduction

I. V. Kuznetsova, Yu. S. Drapkina

First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov, Moscow, Russia

Резюме

Антимюллеров гормон (АМГ) является одним из наиболее изучаемых в настоящее время биологически активных соединений. Его роль в процессах женской репродукции признается весьма значительной, но конкретные функции, механизмы их осуществления и регуляция образования самого АМГ остаются предметом исследований. В клинической практике определение уровней АМГ применимо в контексте предсказания ответа яичников на стимуляцию в программах вспомогательных репродуктивных технологий, а также для прогнозирования преждевременной овариальной недостаточности у женщин, подвергающихся терапии, потенциально токсичной для яичников. Одним из перспективных направлений является оценка уровня АМГ как способ прогнозирования и диагностики синдрома поликистозных яичников. Лекарственная терапия может оказать существенное влияние на синтез и секрецию АМГ. В качестве средств, прямо и опосредованно позитивно воздействующих на уровень АМГ выделяются аналоги гонадолиберина.

Ключевые слова: антимюллеров гормон, фолликулогенез, овуляция, овариальный резерв, контролируемая индукция овуляции, ожирение, синдром поликистозных яичников, преждевременная недостаточность яичников, эндометриоз, аналоги гонадолиберина.

Summary

Anti-müllerian hormone (AMH) is one of the most studied at the present time biologically active compounds. Its role in the processes of female reproduction is recognized as very significant, but specific functions, mechanisms for their implementation and regulation of the formation of the AMH itself remain the subject of research. In clinical practice, the determination of AMH levels is applicable in the context of predicting the response of ovaries to stimulation in assisted reproductive technology programs, as well as for predicting premature ovarian failure in women undergoing therapy potentially toxic to the ovaries. One of the promising areas is the assessment of the level of AMH as a method for predicting and diagnosing the polycystic ovary syndrome. Drug therapy can have a significant effect on the synthesis and secretion of AMH. As an agent directly and indirectly positively affecting the level of AMH, gonadoliberin analogues are isolated.

Key words: anti-müllerian hormone, folliculogenesis, ovulation, ovarian reserve, controlled induction of ovulation, obesity, polycystic ovary syndrome, premature ovarian failure, endometriosis, gonadoliberin analogues.

Мюллер-ингибирующая субстанция, известная также как антимюллеров гормон (АМГ), является димерным гликопротеином, принадлежащим к семейству трансформирующего фактора роста β (ТФР- β). АМГ выполняет множество функций в процессе развития и дифференцировки эмбриона, играет существенную роль в репродукции. Тем не менее многие функции и механизмы действия АМГ до сих пор остаются неизученными.

У эмбрионов мужского пола АМГ секретруется клетками Сертоли яичка в процессе эмбрионального развития, начиная с шестой недели гестации. АМГ инициирует регрессию мюллеровых протоков и их превращение в простатическую маточку и придаток яичка. Нарушение регрессии и персистенция мюллеровых протоков у мужчин приводит к развитию синдрома, который кли-

нически проявляется крипторхизмом, паховыми грыжами и нарушением репродуктивной функции. В яичниках плодов женского пола секреция АМГ клетками гранулезы мелких растущих фолликулов начинается с 32-й недели гестации, когда формирование производных мюллеровых протоков (матка, маточные трубы и влагалище) полностью завершено. Самая высокая экспрессия АМГ наблюдается в преантральных и малых антральных фолликулах. Во время ФСГ-зависимой фазы фолликулярного роста и в фолликулах, подвергшихся атрезии, АМГ не образуется, однако в преовуляторных фолликулах образование АМГ возобновляется.

Динамику секреции АМГ в течение постнатальной жизни можно разделить на несколько фаз. Непродолжительное повышение концентрации гормона в сыворотке крови отмечается сразу после рожде-

ния девочки. Далее секреция АМГ падает и вскоре начинает медленно увеличиваться. До девяти лет происходит непрерывное повышение секреции АМГ, а затем в период от 10 до 15 лет содержание АМГ в крови несколько снижается. Второе повышение секреции АМГ достигает максимальных значений к 25 годам жизни, после чего происходит постепенное уменьшение концентрации гормона до неопределяемых значений в возрасте 50–51 год, что предшествует менопаузе.

У мальчиков уровень АМГ резко повышается в течении первого месяца после рождения, достигая пикового значения в возрасте шести месяцев. В период полового созревания синтез гормона прогрессивно снижается и сохраняется на очень низком уровне. Определение уровня АМГ у молодых пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом

можно использовать как диагностический маркер стимуляции сперматогенеза гонадотропинами. После завершения полового созревания АМГ в основном высвобождается клетками Сертоли в семенные канальцы, что приводит к большей концентрации гормона в семенной жидкости по сравнению с сывороткой крови. В целом можно констатировать удивительную отрицательную ассоциацию уровня АМГ между полами. Во время фетального периода у мальчиков наблюдается повышение гормона в отличие от девочек, и, напротив, при достижении половой зрелости уровень АМГ у юношей имеет тенденцию к снижению, а у девушек определяется в относительно высоких концентрациях.

АМГ влияет на экспрессию 707 генов и может реализовывать свое действие через рецепторы АМГ второго типа, BMPR 1a (Alk3), BMPR 1b (Alk6) или ACVR 1 (Alk2). АМГ участвует в регуляции выхода фолликулов из состояния покоя и устанавливает темп, в котором фолликулы возобновляют мейоз. Оказывая сдерживающее влияние на фолликулогенез, АМГ регулирует скорость уменьшения примордиального пула. Многие функции АМГ были изучены на моделях мышей *in vivo*. Несмотря на то что животные, у которых не образовывался АМГ, оставались фертильны и имели нормальную частоту овуляции, количество примордиальных фолликулов у них уменьшалось гораздо быстрее за счет более быстрого созревания с последующей атрезией [1]. Этот феномен объясняют тем, что АМГ снижает экспрессию факторов, активирующих рост и созревание фолликулов, к которым относятся фактор роста фибробластов (ФРФ), фактор роста кератиноцитов (КРФ), фактор стволовых клеток (СКФ) [2].

Регуляция синтеза самого АМГ практически не изучена, существует только ограниченное число данных о взаимосвязи гормона с другими факторами аутокринной / паракринной регуляции. Клетки гранулезы секретируют большое число молекул, обеспечивающих фолликулогенез. Например, основные функции инсу-

линоподобного фактора роста (ИФР) в контексте овариальной функции заключаются в координации клетки теки и гранулезы, а также потенцировании эффектов лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов путем образования чувствительных рецепторов. Изменения уровней АМГ, ингибина В, ИФР-1, ИФР-связывающего протеина-3 (ИФРСП-3), и ФСГ изучались в зависимости от возраста. Было обнаружено синхронное снижение уровней АМГ, ИФР-1, ИФРСП-3 с возрастом; точность определения АМГ в диагностике менопаузы соответствует диагностической ценности ФСГ и ингибина В.

В физиологии и патологии репродукции большое значение уделяется неангиогенезу. Повышенная экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) рассматривается как один из компонентов патогенеза таких заболеваний и состояний, как синдром поликистозных яичников (СПКЯ), синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ), эндометриоз, рак яичников. Исследователи показали, что уровень АМГ может изменяться при подавлении секреции гонадотропинов и ингибировании СЭФР. Было обнаружено, что добавление СЭФР *in vitro* индуцировало экспрессию рецептора АМГ второго типа на поверхности клеток гранулезы, изолированных от зрелого фолликула. В норме АМГ и его рецептор второго типа экспрессируются вместе, однако при избыточной активности СЭФР изолированно повышается экспрессия рецептора, что нарушает баланс действия гормона и тормозит созревание фолликулов и ооцитов [3].

Клетки гранулезы фолликулов синтезируют небольшие количества фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) — многофункционального провоспалительного цитокина, в основном выделяемого моноцитами и макрофагами. Между ФНО- α и стимуляцией клеток гранулезы гонадотропинами существует обратная связь. Когда фолликул становится более чувствительным к стимуляции гонадотропинами, образование ФНО- α в нем уменьшается. В фолликулах с нарушением рецептивного

ответа на стимуляцию гонадотропинами продукция ФНО- α увеличивается, ускоряя их апоптоз. Апоптоз первичных ооцитов, реализующийся за счет собственных внутренних механизмов, происходит до образования примордиальных фолликулов и является автономным процессом. Ооциты антральных фолликулов гибнут вторично на фоне фолликулярной атрезии. Вне зависимости от времени и причины запрограммированной гибели, апоптоз ооцита инициируется ФНО- α . Таким образом, ФНО- α уменьшает размер пула примордиальных фолликулов.

Как и фактор роста соединительной ткани, ФНО- α влияет на сборку фолликула (*follicle assembly*), ускоряя данный процесс. Напротив, в исследованиях *in vitro* было показано, что добавление АМГ и прогестерона приводило к замедлению сборки фолликула. В культуре клеток с добавлением АМГ также наблюдалось увеличение числа ооцитов, что свидетельствует об ингибировании гормоном процессов апоптоза. Стоит отметить, что большинство ооцитов подвергаются апоптозу в процессе сборки фолликула. Соответственно, АМГ, ингибируя апоптоз, снижает скорость сборки, а АМГ-индуцированные повреждения апоптоза ооцитов могут выступать как один из механизмов торможения сборки фолликула.

Основной вывод, который можно сделать, исходя из вышеприведенных данных, заключается в том, что именно баланс между ингибирующими факторами (АМГ, прогестерон) и факторами роста, активирующими сборку фолликула (ФНО- α , активин), определяет, будет ли происходить сборка фолликула и с какой скоростью пойдет этот процесс. Приведенные результаты демонстрируют, что воздействовать на пул примордиальных фолликулов и увеличивать продолжительность репродуктивного потенциала женщины теоретически возможно.

Количество фолликулов, которые каждый месяц входят в фазу роста, с возрастом снижается и коррелирует с объемом пула оставшихся примордиальных фолликулов. Поэтому уровень АМГ можно рассматривать как маркер овариального резерва. Тем

не менее многие механизмы регуляции выхода пула примордиальных фолликулов из спящей стадии, их роста и возобновления мейоза остаются дискутируемыми.

Функции АМГ в женском организме не ограничиваются сдерживающим влиянием на рост фолликулов и регуляцией скорости уменьшения примордиального пула. В течение менструального цикла только один фолликул становится доминантным, остальные атрезировываются, и в процессе селекции доминантного фолликула участвует АМГ — уникальный продукт клеток гранулезы, синтез которого в доминантном фолликуле снижается. Было установлено, что *in vivo* АМГ уменьшает чувствительность фолликула к ФСГ, а *in vitro* ингибирует ФСГ-индуцированный рост преантральных фолликулов.

Синтез АМГ максимален в фолликулах диаметром 4–7 мм [4, 5]. Когда фолликул «перерастает» диаметр 8 мм, образование АМГ в нем резко уменьшается. Именно небольшие фолликулы диаметром от 5 до 8 мм секретируют около 60% всего АМГ в организме женщины. Также было обнаружено, что экспрессия гена АМГ и концентрация АМГ в фолликулярной жидкости обратно пропорциональна уровню эстрадиола. Можно предположить, что эстрадиол, как фактор аутоиммунной регуляции, репрессирует ген АМГ. В результате доминирует именно тот фолликул, в котором синтез эстрадиола максимален, то есть лучший фолликул.

Предполагается также наличие системы обратного аутокринного контроля: в фолликулах диаметром менее 8 мм АМГ ингибирует синтез эстрадиола, но когда размер фолликула увеличивается, содержание АМГ в нем резко падает, благодаря чему повышается синтез эстрадиола [6]. Эстрадиол, секретлируемый доминантным фолликулом, подавляет секрецию ФСГ и тем самым созревание остальных фолликулов. При этом содержание АМГ в фолликулярную фазу цикла отражает не функцию доминантного фолликула, в отличие от ингибина В и яичниковых эстрогенов, а показывает количество мел-

ких фолликулов, входящих в фазу роста перед селекцией доминантного фолликула.

Оценка содержания АМГ в различных клинических ситуациях

Уровень АМГ начали измерять относительно недавно, в конце XX века. В настоящий момент АМГ определяется в плазме и сыворотке крови, а также в фолликулярной жидкости. Тем не менее единый стандарт и общая калибровка значений пока отсутствуют, что мешает точной интерпретации результата. АМГ Gen II и новейший Ansh Labs ultra-sensitive AMH and picoAMH ELISA — наиболее достоверный и чувствительный метод определения АМГ в сыворотке и плазме крови. В основе работы диагностического теста лежит использование моноклональных антител.

Уровень АМГ относительно стабилен во время менструального цикла. Снижение АМГ наблюдается в преовуляторные дни фолликулярной фазы и в раннюю лютеиновую фазу по причине пика ЛГ, уменьшающего экспрессию рецептора АМГ второго типа на мембране клеток гранулезы желтого тела. Затем секреция АМГ снова повышается и остается стабильной вплоть до середины фолликулярной фазы следующего цикла.

Определение содержания АМГ в крови используется для прогнозирования преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) в результате ятрогенных факторов. По сравнению с ФСГ и ингибином В, АМГ является более чувствительным маркером повреждения яичников даже при низких дозах химио- или радиотерапии. Уровень АМГ не только отражает овариальную активность до лечения, но и предсказывает вероятность восстановления овариальной функции после проведения химио- и радиотерапии [7]. Так, уровень АМГ до лечения позволяет стратифицировать группы риска по отсроченному повреждению овариальной функции. Пациентки с исходным более высоким уровнем АМГ относятся к группе со средним и низким риском повреждения яич-

ников на фоне химио- и радиотерапии [8–10]. В одном из исследований до начала лечения у 59 женщин (средний возраст 42,6 года) с диагнозом рака молочной железы ранней стадии были измерены уровни АМГ, ФСГ, ингибина В. Спустя два года было обнаружено, что те пациентки, у которых в результате химиотерапии развилась аменорея, имели исходный уровень АМГ достоверно более низкий по сравнению с пациентками с сохранившимся менструальным циклом ($4,0 \pm 0,9$ пмоль/л и $17,2 \pm 2,5$ пмоль/л соответственно). Изначальные уровни ФСГ и ингибина В при этом существенно между группами не отличались. Таким образом, АМГ выступает как независимый маркер повреждения овариальной функции через два года после химиотерапии. Чувствительность и специфичность теста в отношении развития аменореи составили 98,2 и 80,0% соответственно.

Относительно недавно было доказано, что при исходном уровне АМГ выше 2 нг/мл шанс на восстановление репродуктивной функции после химиотерапии существенно повышается [11]. Rosendahl и соавт. (2010) продемонстрировали, что предсказательная ценность уровня АМГ не зависела от возраста пациентки, типа химиотерапии и наличия обоих или только одного яичника [12]. Стоит отметить, что изначально АМГ может быть снижен у пациенток с гемобластомами. Возможные причины понижения АМГ до химиотерапии на фоне злокачественных заболеваний крови до сих пор остаются неизвестными. Вероятно, развитие системного воспаления на фоне генерализации онкологического процесса приводит к повреждению клеток гранулезы и снижению концентрации АМГ [13].

В исследовании среди девочек в препубертате и девушек-подростков (средний возраст 15 ± 4 года) были измерены уровни АМГ, ингибина В и ФСГ до начала химиотерапии, после каждого курса и в конце лечения [14]. Риск токсического влияния на яичники был разделен на средне-низкий и высокий в зависимости от препарата, применяемого

во время химиотерапии, кумулятивной дозы и наличия радиотерапии. В ходе исследования было обнаружено, что уровень АМГ существенно снижался во время химиотерапии у пациенток в препубертате и пубертате, однако восстанавливался в 100 % наблюдений в группе средне-низкого риска. В группе высокого риска АМГ в сыворотке крови оказался ниже порога чувствительности метода. Ингибин В и ФСГ не продемонстрировали корреляций с уровнем риска.

Экстремально низкие, за пределами чувствительности метода, уровни АМГ у пациенток в группе высокого риска отражали выраженные повреждения овариального резерва на фоне химиотерапии. Таким образом, высокий уровень АМГ до начала лечения может выступать в качестве предиктора сохраненной функции яичников в долгосрочной перспективе после химиотерапии. Однако необходимы дальнейшие исследования в отношении шанса наступления беременности при низком значении АМГ на фоне химиотерапии в анамнезе. Nagen и соавт. (2012) отметили, что у пациенток, особенно молодого возраста, трудно прогнозировать репродуктивный потенциал, основываясь исключительно на пониженной концентрации АМГ в сыворотке крови [15].

Возможность использовать уровень АМГ для предсказания овариального ответа при контролируемой индукции овуляции оказала огромное влияние на профилактику развития СГЯ и других ятрогенных осложнений [16]. Женщины с риском повышенного ответа яичников на стимуляцию подвергаются более тщательному ультразвуковому и гормональному мониторингу. Высокий уровень АМГ позволяет подобрать соответствующие дозу ФСГ и протокол стимуляции [17]. С другой стороны, прогностическая точность низкого уровня АМГ в плане плохого овариального ответа была настолько высока, что в США в 2011 году некоторые центры приняли решение не проводить лечение при установлении низких значений АМГ [18]. Правда, на сегодняшний

день подобное решение считается необоснованным, так как ответ яичников на стимуляцию является многофакторным процессом и зависит не только от содержания АМГ, но и от возраста и исходного числа антральных фолликулов [19].

В исследовании, проведенном в Великобритании [20], у женщин репродуктивного возраста определялись уровни АМГ и число антральных фолликулов. Было обнаружено, что эти показатели напрямую зависят от возраста, и что уровень АМГ коррелирует с числом антральных фолликулов и может выступать в качестве оценки фолликулярного пула. Следовательно, для расчета персонализированного ответа яичников необходимо оценивать данные параметры в совокупности: АМГ не сможет заменить подсчет антральных фолликулов и наоборот. В начале фолликулярной фазы первыми на введение гонадотропинов отвечают большие антральные фолликулы, которые не образуют АМГ, и в данном случае число фолликулов лучше предскажет овариальный ответ по сравнению с АМГ. С другой стороны, если учесть, что атрезирующиеся антральные фолликулы не смогут ответить на стимуляцию ФСГ, АМГ становится наиболее надежным маркером, так как не образуется атрезирующимися фолликулами, которые при выполнении ультразвукового исследования (УЗИ) невозможно отличить от здоровых. В то время как АМГ дает представление о количестве небольших фолликулах, готовых ответить на стимуляцию гонадотропинами, подсчет антральных фолликулов по УЗИ помогает оценить овариальный потенциал в текущем цикле [20]. Оба маркера оказываются незаменимы в комплексной оценке овариального ответа и подборе оптимального протокола стимуляции.

АМГ и эндокринопатии

По данным Freeman и соавт. (2007), у женщин с ожирением уровень АМГ на 65 % ниже, чем у женщин с нормальной массой тела [21]. Причина, по которой происходит редукция АМГ у тучных женщин, до сих пор остается неясной.

В фолликулярной жидкости у пациенток с ожирением было зафиксировано повышение уровней различных биохимических маркеров, участвующих в системном воспалении и окислительном стрессе. Merhi и соавт. (2013) обнаружили, что в редукции уровня АМГ при ожирении важную роль играет лептин, существенно уменьшающий экспрессию АМГ и мРНК рецептора АМГ второго типа в яйценодном бугорке и пристеночных клетках гранулы фолликула [22]. Более того, лептин, в противоположность адипонектину, подавляет экспрессию гена АМГ через JAK2/STAT3-сигнальные пути в лютеинизированных клетках гранулы. Похоже, что лептин может программировать нарушение ответа рецептора на стимуляцию АМГ, приводя к овариальной дисфункции. Эти результаты позволяют по-новому взглянуть на патогенез нарушений фертильности при избыточной массе тела.

Взаимосвязь АМГ, лептина и адипонектина требует детального изучения. При измерении этих веществ в фолликулярной жидкости пациенток, подвергавшихся ЭКО / ИКСИ, была обнаружена прямая корреляция уровней АМГ и адипонектина, причем при развитии ожирения и инсулинорезистентности (ИР) уровни адипонектина и АМГ снижались. Изучение взаимосвязи между ИР, содержанием адипокинов и АМГ у здоровых пациенток репродуктивного возраста без СПКЯ показало, что уровень АМГ плазмы крови имел негативную ассоциацию с индексом ИР, содержанием инсулина, уровнем глюкозы натощак и RBP-4. Позитивная связь характеризовала уровни адипонектина и АМГ плазмы крови. Предполагается, что отрицательная корреляция индекса ИР и АМГ связана с прямым или опосредованным воздействием инсулина на секрецию АМГ клетками гранулы [23]. В другом исследовании была установлена сильная обратная взаимосвязь между уровнем оментина-1 (адипокин, уровень которого при ожирении и ИР повышается) и АМГ, что подтверждает участие адипоцитов висцерального жира в овариальных нарушениях при ожирении.

СПКЯ характеризуется увеличением числа фолликулов на всех стадиях роста и отсутствием выделения доминантного фолликула. АМГ плазмы крови в 2–4 раза выше у пациенток с СПКЯ по сравнению со здоровыми женщинами [23, 24]. Увеличенная концентрация АМГ как в фолликулярной жидкости, так и общем кровотоке отражает высокое число малых антральных фолликулов в яичниках. Однако когда исследователи сравнили секрецию АМГ клетками гранулезы овулирующего и неовулирующего яичника, оказалось, что секреция АМГ в неовулирующем яичнике почти в четыре раза превышает таковую в овулирующем яичнике [25].

Это открытие позволило предположить, что повышение уровня АМГ плазмы крови происходит не только благодаря увеличению числа фолликулов, но и за счет изменения свойств клеток гранулезы в поликистозных яичниках [26]. В ходе исследований была изучена секреция АМГ клетками фолликулов разных размеров в нормальных яичниках. Полученные данные затем сравнили с секрецией АМГ в овулирующих и неовулирующих яичниках при СПКЯ. Клетки гранулезы, клетки теки и фолликулярная жидкость были выделены из интактных фолликулов. После культивации клеток в фолликулярной жидкости и кондиционированной среде был измерен уровень АМГ. Результаты исследования показали, что уменьшение содержания АМГ в фолликулах, достигших диаметра более 8 мм, — важный этап в селекции доминантного фолликула. Было также обнаружено, что клетки гранулезы неовулирующего яичника синтезируют АМГ в 75 раз больше по сравнению со здоровыми яичниками.

В отличие от здоровых женщин, ЛГ не уменьшает экспрессию рецептора АМГ второго типа у пациенток с СПКЯ. Избыточная секреция АМГ и экспрессия рецептора АМГ второго типа, таким образом, становятся результатом редукции блокирующих эффектов гонадотропина. Подобное нарушение регуляции подтверждает роль дисфункции рецептора ЛГ у па-

циенток с СПКЯ [27]. S. Thathapudi и соавт. (2015) в своих работах обнаружили, что полиморфизм *rs2293275* в гене рецептора ЛГ/ХГ вносит вклад в развитие СПКЯ [28]. Не исключено, что причиной неадекватного взаимодействия с рецептором является аномалия самого ЛГ. У пациенток с СПКЯ чаще встречалась *G1052A*-мутация гена ЛГ по сравнению с контрольной группой. T. Lamminen и соавт. (2002) показали, что эта мутация не влияет на способность ЛГ связываться со специфическим рецептором, но нарушает структуру гормона [29].

Можно предположить, что в поликистозных яичниках содержание АМГ в антральных фолликулах будет достаточным для подавления ФСГ-индуцированной экспрессии ароматазы и, таким образом, предотвратит ингибирующий эффект эстрадиола на продукцию АМГ [25]. Этот эффект будет усилен потерей ЛГ-индуцированной репрессии рецептора АМГ второго типа. Избыток АМГ может привести к нарушению фолликулярной функции при СПКЯ и торможению выделения доминантного фолликула. Введение экзогенного ФСГ помогает преодолеть ситуацию, обеспечить достаточный синтез эстрадиола и уменьшить уровень АМГ. Снижение концентрации АМГ в плазме крови у больных СПКЯ, получающих рекомбинантный ФСГ, приводило к появлению доминантного фолликула, причем падение концентрации АМГ четко совпадало с обнаружением при УЗИ одного или нескольких фолликулов 10 мм и более в диаметре [26].

Экспрессия рецептора АМГ второго типа происходит и за пределами яичников: в эндометрии, молочных железах, простате, шейки матки, а также в процессе развития мозговой ткани и легких у плодов мышей. Суммированные данные современных исследований нейроанатомии позволили расширить представление о локализации рецептора АМГ второго типа, обнаруженного также в гиппокампе, коре головного мозга и гипоталамусе. Эксперименты *in vivo* и *in vitro* показали, что повышенный уровень АМГ усиливает

ГнРГ-зависимую секрецию и дополнительный выброс ЛГ. Результаты этих работ отражают центральное действие АМГ на нейроны, вырабатывающие ГнРГ в гипоталамусе. Таким образом, АМГ включается в формирование замкнутого круга, приводящего к гиперандрогенной ановуляции и повышению концентрации ЛГ при СПКЯ.

Роль АМГ в патогенезе овариальной дисфункции при СПКЯ закономерно ставит вопрос о возможности его использования в качестве диагностического маркера. Действительно, концентрация АМГ возрастает у большинства пациенток с СПКЯ. Неоднократно сообщалось о корреляции между уровнем АМГ в крови и количеством фолликулов, обнаруженных на УЗИ [30]. Интересно, что уровень АМГ был более высоким у пациенток с СПКЯ и ИР по сравнению с больными СПКЯ без метаболических нарушений. Повышенный уровень АМГ рассматривался в качестве предиктора развития СПКЯ во время периода полового созревания. У девушек в возрасте 16 лет была обнаружена достоверная корреляция между АМГ и уровнем тестостерона, причем уровни АМГ были существенно выше у пациенток с олиго- и аменореей по сравнению с девушками, имевшими нормальный менструальный цикл (35,9 и 27,7 пмоль/л соответственно). В процессе дальнейшего наблюдения авторы исследования установили, что риск развития СПКЯ прямо зависит от уровня АМГ в конце пубертата: 26-летние женщины с СПКЯ имели более высокие значения АМГ в 16 лет по сравнению с участницами, у которых СПКЯ не развивался (38,1 и 30,2 пмоль/л соответственно). Чувствительность и специфичность АМГ в качестве предиктора развития СПКЯ в репродуктивном возрасте составили 85,7 и 37,5%. Измерение уровня тестостерона не повышало точности теста.

Благодаря высокой чувствительности применение АМГ в качестве предиктора развития СПКЯ позволило бы начать превентивное лечение заболевания еще на ранних стадиях. Однако низкая специфичность теста

не позволяет рассматривать АМГ в качестве надежного диагностического маркера. На сегодня повышенное содержание АМГ с позиций диагностической ценности можно считать идентичным выявляемым при УЗИ особенностям, которые обозначаются термином «морфологические изменения, характерные для поликистозного яичника» [31].

Содержание АМГ в крови коррелирует с уровнем гиперандрогенемии, а также тяжестью олиго- и ановуляции [32]. Высокое содержание уровня АМГ выступает в качестве маркера гиперандрогенемии и фактически может рассматриваться как один из ее признаков. Это могло бы стать важным вкладом в диагностику СПКЯ, так как гиперандрогенемия и (или) клинический гиперандрогенизм является одним из двух принципиально необходимых компонентов заболевания [33]. К сожалению, определить универсальный диагностический минимум АМГ, при котором можно с уверенностью поставить диагноз СПКЯ или установить гиперандрогенемия, пока не получается. Предложено использовать в качестве диагностического критерия СПКЯ его концентрацию в плазме крови выше 4,45 нг/мл [34] с чувствительностью и специфичностью теста 76,1 и 74,6% соответственно. Но сами авторы исследования, которое привело к данному заключению, отмечают, что полученные результаты необходимо проверить на более крупной выборке пациенток.

Влияние лекарственных препаратов на уровень АМГ

Эффекты лекарственных препаратов на АМГ изучаются среди двух категорий пациенток: больные СПКЯ и женщины с низким овариальным резервом либо угрозой его снижения. Особый интерес из всех исследованных до настоящего времени лекарственных средств представляют аналоги гонадолиберина (ГнРГ).

Влияние аналогов ГнРГ на уровни АМГ, ингибина В, ФСГ, ЛГ, эстрадиола и число антральных фолликулов было изучено в протоколах ЭКО. Спустя две недели применения аналога ГнРГ (трипторелин,

0,1 мг — Диферелин®) было отмечено повышение уровня АМГ на 30%. Содержание ФСГ, ЛГ, эстрадиола, ингибина В, наоборот, понизилось примерно на 50%. При этом число антральных фолликулов оставалось тем же, но объем яичников уменьшался. Авторы исследования предположили, что повышение уровня АМГ при приеме аналога ГнРГ отражает увеличение числа фолликулов, способных отвечать на стимуляцию. Исследования, проведенные с целью оценки влияния на АМГ десенситизации гипофиза трипторелином (Диферелин®) в длинных протоколах ЭКО, продемонстрировали, что двухнедельная десенситизация гипофиза характеризуется тенденцией к увеличению АМГ, что однозначно указывает на отсутствие снижения числа доступных для стимуляции фолликулов [35, 36].

После достижения десенситизации гипофиза в программах ВРТ применение препаратов ФСГ привело к снижению концентрации АМГ параллельно с уменьшением числа небольших антральных фолликулов. Этот процесс на фоне овариальной стимуляции связан с переходом фолликулов, синтезирующих АМГ, в быстрорастущие преовуляторные фолликулы и отражает нормализацию фолликулогенеза, что особенно важно у пациенток с СПКЯ.

При использовании депонированных форм аналогов ГнРГ у пациенток с эндометриозом выяснилось, что после двух инъекций концентрация ФСГ и ЛГ снизилась на 50 и 300% соответственно, а уровень АМГ остался прежним. Следовательно, применение депо-форм аналогов ГнРГ не влияет на число антральных фолликулов. Это относится к любым вариантам депонированных форм препаратов. В частности, трипторелин (Диферелин®) в настоящее время доступен в двух лекарственных депо-формах: 3,75 и 11,25 мг; обе они используются в лечении больных эндометриозом. Единственное существенное отличие дозы 11,25 мг состоит в том, что она рассчитана на трехмесячное действие. Это создает дополнительный комфорт и повышает приверженность больных

к лечению. Особенно привлекательно выглядит подобная лекарственная форма для применения в качестве эмпирической терапии у пациенток с тазовой болью, предположительно ассоциированной с эндометриозом. Спектр положительных и побочных эффектов депо-форм не различается. Это относится и к влиянию на уровни АМГ. Но депо-форма 11,25 мг применяется исключительно у больных эндометриозом. При осуществлении программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) используются 0,1 мг трипторелина для ежедневного введения и 3,75 мг трипторелина для ежемесячного введения.

Существует мнение, что аналоги ГнРГ инициируют экспрессию мРНК АМГ в клетках гранулезы. С помощью иммуногистохимического анализа была также изучена секреция АМГ клетками гранулезы фолликулов на разных стадиях развития при назначении аГнРГ [35]. Оказалось, что экспрессия АМГ клетками гранулезы фолликулов *in vivo* постоянно меняется. В первичных фолликулах экспрессия АМГ под действием аналога ГнРГ сразу увеличивалась, а затем постепенно снижалась. В мелких и больших преантральных фолликулах уровень АМГ начинал повышаться с первого дня назначения аналогов ГнРГ, затем несколько снижался, а спустя 2–3 дня снова увеличивался, достигая пиковых значений. В клетках гранулезы небольших антральных фолликулов, выстилающих базальную мембрану, секреция АМГ, напротив, была существенно снижена. Таким образом, влияние аналогов ГнРГ на синтез и секрецию АМГ, бесспорно, существует, причем, можно уверенно говорить о положительном характере этого воздействия.

Помимо прямого действия аналогов ГнРГ на синтез и секрецию АМГ, следует принимать во внимание возможность опосредованных эффектов. Аналоги ГнРГ, связываясь со специфическими рецепторами I и II типов, оказывают значительное тканевое действие на яичники [37], в том числе снижают уровень белка мидкайна — фактора роста, уча-

ствующего в процессе овуляции и связанного с ангиогенезом, хемотаксисом, митотической активностью, воспалением, и избыточно экспрессированного в фолликулярной и перитонеальной жидкостях больных эндометриозом [38, 39]. Аналоги ГнРГ также уменьшают чувствительность тканей к тромбину, участвующему в воспалительной, пролиферативной и гемостатической реакциях [40], снижают экспрессию СЭФР [41] и пр. Существенные изменения в экспрессии разнообразных ростовых факторов, бесспорно, должны отразиться на секреции АМГ, который и сам является представителем семейства ТФР-β.

Экспериментальные и клинические данные поддерживают гипотезу о протективном влиянии аналогов ГнРГ на овариальный резерв и позволяют использовать их в практике. Данная группа препаратов уже более 10 лет применяется с целью профилактики преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) у женщин, получающих химиотерапию [42–46]. В мета-анализе, включившем семь контролируемых исследований (320 пациентов), было установлено, что использование аналогов ГнРГ, в том числе трипторелина (Диферелин®), во время химиотерапии достоверно связано с сохранением овариальной функции (относительный риск [ОР] — 1,7; 95 % доверительный интервал [ДИ] 1,4–2,2) [47]. Недавний мета-анализ, включивший уже 11 РКИ (1 062 пациентов), продемонстрировал существенно более высокую частоту восстановления спонтанных менструаций у женщин, применявших аналоги ГнРГ, по сравнению с пациентками, получавшими только химиотерапию (отношение шансов [ОШ] — 2,57; 95 % ДИ — 1,65–4,01) [48]. В контролируемых испытаниях, включавших группы женщин с аутоиммунными заболеваниями (например, системная красная волчанка) при использовании химиопрепарата в сравнении «химиопрепарат плюс аналоги ГнРГ», агонисты показали достоверно лучшие результаты по сохранению овариальной функции (достоверно более высокий уровень АМГ), и хотя эта протекция

не была полной, уровень АМГ снижался по сравнению с пациентами, не получавшими химиолечения [46], авторы исследований считают применение аналогов ГнРГ у молодых женщин, получающих химиотерапию, целесообразным и обоснованным.

Заключение

АМГ — надежный и удобный показатель овариальной функции на всем протяжении жизненного цикла женщины от детского и подросткового возраста и в течение всего репродуктивного периода, однако клиническое применение АМГ крови несколько ограничено из-за технических трудностей и недостаточной чувствительности диагностических систем. Концентрация АМГ изменяется при назначении ряда лекарственных препаратов. Аналоги ГнРГ можно рассматривать как средство, улучшающее функции клеток granulosa и позволяющее сохранить овариальный резерв у больных с угрозой ПНЯ и в то же время оптимизирующее ответ яичников на стимуляцию гонадотропинами в программах ВРТ.

Список литературы

1. Visser JA, Durlinger ALL, Peters IJJ, van den Heuvel ER, Rose UM, Kramer P, et al. Increased Oocyte Degeneration and Follicular Atresia during the Estrous Cycle in Anti-Müllerian Hormone Null Mice. *Endocrinology* 2007; 148: 2301–8. doi:10.1210/en.2006-1265.
2. Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction* 2007; 134: 209–21. doi:10.1530/REP-07-0119.
3. Fang Y, Lu X, Liu L, Lin X, Sun M, Fu J, et al. Vascular endothelial growth factor induces anti-Müllerian hormone receptor 2 overexpression in ovarian granulosa cells of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection patients. *Mol. Med. Rep* 2016; 13: 5157–62. doi:10.3892/mmr.2016.5173.
4. Andersen CY, Schmidt KT, Kristensen SG, Rosendahl M, Byskov AG, Ernst E. Concentrations of AMH and inhibin-B in relation to follicular diameter in normal human small antral follicles. *Hum. Reprod.* 2010; 25: 1282–7. doi:10.1093/humrep/deq019.
5. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K, et al. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol. Hum. Reprod.* 2013; 19: 519–27. doi:10.1093/molehr/gat024.

6. Grynberg M, Pierre A, Rey R, Leclerc A, Arouche N, Hesters L, et al. Differential Regulation of Ovarian Anti-Müllerian Hormone (AMH) by Estradiol through α- and β-Estrogen Receptors. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2012; 97: E1649–57. doi:10.1210/jc.2011-3133.
7. Decanter C, Morschhauser F, Pigny P, Lefebvre C, Gallo C, Dewailly D. Anti-Müllerian hormone follow-up in young women treated by chemotherapy for lymphoma: preliminary results. *Reprod. Biomed. Online* 2010; V20: B280–5. doi:10.1016/j.rbmo.2009.11.010.
8. Lie Fong S, Laven JSE, Hakvoort-Cammel FGJ, Schipper I, Visser JA, Themmen APN, et al. Assessment of ovarian reserve in adult childhood cancer survivors using anti-Müllerian hormone. *Hum. Reprod.* 2009; 24: 982–90. doi:10.1093/humrep/den487.
9. Gracia CR, Sammel MD, Freeman E, Prewitt M, Carlson C, Ray A, et al. Impact of cancer therapies on ovarian reserve. *Fertil. Steril.* 2012; 97: 134–140.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.10.040.
10. Anderson RA, Rosendahl M, Kelsey TW, Cameron DA. Pretreatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *Eur. J. Cancer* 2013; 49: 3404–11. doi:10.1016/j.ejca.2013.07.014.
11. Dillon KE, Sammel MD, Prewitt M, Ginsberg JP, Walker D, Mersereau JE, et al. Pretreatment antimüllerian hormone levels determine rate of posttherapy ovarian reserve recovery: acute changes in ovarian reserve during and after chemotherapy. *Fertil. Steril.* 2013; 99: 477–483.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.09.039.
12. Rosendahl M, Andersen CY, la Cour Freiesleben N, Juul A, Løssl K, Andersen AN. Dynamics and mechanisms of chemotherapy-induced ovarian follicular depletion in women of fertile age. *Fertil. Steril.* 2010; 94: 156–66. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.02.043.
13. Lawrenz B, Mahajan N, Fatemi HM. The effects of cancer therapy on women's fertility: what do we know now? *Futur. Oncol.* 2016; 12: 1721–9. doi:10.2217/fo-2015-0004.
14. Brougham MFH, Crofton PM, Johnson EJ, Evans N, Anderson RA, Wallace WHB. Anti-Müllerian Hormone Is a Marker of Gonadotoxicity in Pre- and Postpubertal Girls Treated for Cancer: A Prospective Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97: 2059–67. doi:10.1210/jc.2011-3180.
15. Hagen CP, Vestergaard S, Juul A, Skakkebaek NE, Andersson A-M, Main KM, et al. Low concentration of circulating antimüllerian hormone is not predictive of reduced fecundability in young healthy women: a prospective cohort study. *Fertil. Steril.* 2012; 98: 1602–1608.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.08.008.
16. Nelson SM, Yates RW, Fleming R. Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles implications for individualization of therapy. *Hum. Reprod.* 2007; 22: 2414–21. doi:10.1093/humrep/dem204.
17. Broer SL, Dolleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJM. AMH and AFC as predictors of excessive response

- in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 2011; 17: 46–54. doi:10.1093/humupd/dmq034.
18. Yates AP, Rustamov O, Roberts SA, Lim HYN, Pemberton PW, Smith A, et al. Anti-Müllerian hormone-tailored stimulation protocols improve outcomes whilst reducing adverse effects and costs of IVF. *Hum. Reprod.* 2011; 26:2353–62. doi:10.1093/humrep/der182.
 19. Anderson RA, Nelson SM, Wallace WHB. Measuring anti-Müllerian hormone for the assessment of ovarian reserve: When and for whom is it indicated? *Maturitas* 2012; 71: 28–33. doi:10.1016/j.maturitas.2011.11.008.
 20. Broer SL, Dölleman M, van Disseldorp J, Broeze KA, Opmeer BC, Bossuyt PMM, et al. Prediction of an excessive response in in vitro fertilization from patient characteristics and ovarian reserve tests and comparison in subgroups: an individual patient data meta-analysis. *Fertil. Steril.* 2013; 100:420–429. e7. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.04.024.
 21. Freeman E, Gracia C, Sammel M, Lin H, Lim L, Strauss III J. Association of anti-müllerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women. *Fertil. Steril.* 2007; 87: 101–6. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.05.074.
 22. Merhi Z, Buyuk E, Berger DS, Zapantis A, Israel DD, Chua S, et al. Leptin suppresses anti-Müllerian hormone gene expression through the JAK2/STAT3 pathway in luteinized granulosa cells of women undergoing IVF. *Hum. Reprod.* 2013; 28: 1661–9. doi:10.1093/humrep/det072.
 23. Park HT, Cho GJ, Ahn KH, Shin JH, Kim YT, Hur JY, et al. Association of insulin resistance with anti-Müllerian hormone levels in women without polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2010; 72: 26–31. doi:10.1111/j.1365-2265.2009.03614.x.
 24. Lie Fong S, Schipper I, de Jong FH, Themmen APN, Visser JA, Laven JSE. Serum anti-Müllerian hormone and inhibin B concentrations are not useful predictors of ovarian response during ovulation induction treatment with recombinant follicle-stimulating hormone in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 2011; 96: 459–63. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.05.084.
 25. Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, et al. Granulosa Cell Production of Anti-Müllerian Hormone Is Increased in Polycystic Ovaries. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92: 240–5. doi:10.1210/jc.2006-1582.
 26. Catteau-Jonard S, Jamin SP, Leclerc A, Gonzalès J, Dewailly D, di Clemente N. Anti-Müllerian 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. Metab.* 2008; 93: 4456–61. doi:10.1210/jc.2008-1231.
 27. Pierre A, Peigné M, Grynberg M, Arouche N, Taieb J, Hesters L, et al. Loss of LH-induced down-regulation of anti-Müllerian hormone receptor expression may contribute to anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* 2013; 28: 762–9. doi:10.1093/humrep/des460.
 28. Thathapudi S, Kodati V, Erukkambattu J, Addepally U, Qurratulain H. Association of Luteinizing Hormone Chorionic Gonadotropin Receptor Gene Polymorphism (rs2293275) with Polycystic Ovarian Syndrome. *Genet. Test Mol. Biomarkers* 2015; 19: 128–32. doi:10.1089/gtmb.2014.0249.
 29. Lamminen T, Jiang M, Manna PR, Pakarinen P, Simonsen H, Herrera RJ, et al. Functional study of a recombinant form of human LH-beta-subunit variant carrying the Gly(102) Ser mutation found in Asian populations. *Mol. Hum. Reprod.* 2002; 8: 887–92.
 30. Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, Robin G, Leroy M, Pigny P, et al. 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: 3123–9. doi:10.1093/humrep/der297.
 31. Robin G, Gallo C, Catteau-Jonard S, Lefebvre-Maunoury C, Pigny P, Duhamel A, et al. Polycystic Ovary-Like Abnormalities (PCO-L) in Women with Functional Hypothalamic Amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97: 4236–43. doi:10.1210/jc.2012-1836.
 32. Catteau-Jonard S, Cortet-Rudelli C, Richard-Proust C, Dewailly D. Hyperandrogenism in Adolescent Girls. *Endocr. Dev.*, vol. 22, 2012, p. 181–93. doi:10.1159/000326688.
 33. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil. Steril.* 2009; 91:456–88. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.06.035.
 34. Wiweko B, Maidarti M, Priangga MD, Shafira N, Fernando D, Sumapraja K, et al. Anti-müllerian hormone as a diagnostic and prognostic tool for PCOS patients. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014;31:1311–6. doi:10.1007/s10815-014-0300-6.
 35. Cimino I, Casoni F, Liu X, Messina A, Parkash J, Jamin SP, et al. Novel role for anti-Müllerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion. *Nat. Commun.* 2016; 7: 10055. doi:10.1038/ncomms10055.
 36. Jayaprakasan K, Campbell BK, Hopkinson JF, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Effect of pituitary desensitization on the early growing follicular cohort estimated using anti-Müllerian hormone. *Hum. Reprod.* 2008;23:2577–83. doi:10.1093/humrep/den282.
 37. Hong I-S, Klausen C, Cheung AP, Leung PCK. Gonadotropin-Releasing Hormone-I or -II Interacts with IGF-I/Akt But Not Connexin 43 in Human Granulosa Cell Apoptosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97: 525–34. doi:10.1210/jc.2011-1229.
 38. Nirgianakis K, Bersinger NA, McKinnon B, Kostov P, Imboden S, Mueller MD. Regression of the inflammatory microenvironment of the peritoneal cavity in women with endometriosis by GnRHa treatment. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2013; 170: 550–4. doi:10.1016/j.ejogrb.2013.08.010.
 39. Muramatsu T. Structure and function of midkine as the basis of its pharmacological effects. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 171: 814–26. doi:10.1111/bph.12353.
 40. Osuga Y. Novel Therapeutic Strategies for Endometriosis: A Pathophysiological Perspective. *Gynecol. Obstet. Invest.* 2008; 66: 3–9. doi:10.1159/000148025.
 41. Huang F, Wang H, Zou Y, Liu Q, Cao J, Yin T. Effect of GnRH-II on the ESC proliferation, apoptosis and VEGF secretion in patients with endometriosis in vitro. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013; 6: 2487–96.
 42. Sverrisdóttir A, Nystedt M, Johansson H, Fornander T. Adjuvant goserelin and ovarian preservation in chemotherapy treated patients with early breast cancer: results from a randomized trial. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 117: 561–7. doi:10.1007/s10549-009-0313-5.
 43. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertil. Steril.* 2009; 91: 694–7. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.12.044.
 44. Blumenfeld Z, Avivi I, Eckman A, Epelbaum R, Rowe JM, Dann EJ. Gonadotropin-releasing hormone agonist decreases chemotherapy-induced gonadotoxicity and premature ovarian failure in young female patients with Hodgkin lymphoma. *Fertil. Steril.* 2008; 89: 166–73. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.02.010.
 45. Behringer K, Wildt L, Mueller H, Mattle V, Ganitis P, van den Hoonaard B, et al. No protection of the ovarian follicle pool with the use of GnRH-analogues or oral contraceptives in young women treated with escalated BEACOPP for advanced-stage Hodgkin lymphoma. Final results of a phase II trial from the German Hodgkin Study Group. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2010; 21: 2052–60. doi:10.1093/annonc/mdq066.
 46. Marder W, McCune WJ, Wang L, Wing JJ, Fisseha S, McConnell DS, et al. Adjunctive GnRH-a treatment attenuates depletion of ovarian reserve associated with cyclophosphamide therapy in premenopausal SLE patients. *Gynecol. Endocrinol.* 2012; 28: 624–7. doi:10.3109/09513590.2011.650752.
 47. Clowse MEB, Behera MA, Anders CK, Copland S, Coffman CJ, Leppert PC, et al. Ovarian Preservation by GnRH Agonists during Chemotherapy: A Meta-Analysis. *J. Women's Heal.* 2009; 18: 311–9. doi:10.1089/jwh.2008.0857.
 48. Shen Y-W, Zhang X-M, Lv M, Chen L, Qin T-J, Wang F, et al. Utility of gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage in premenopausal women with breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2015; 8: 3349–59. doi:10.2147/OTT.S95936.

