

**ΠΤΩΧΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ:
ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΦΘΕΙ;
Ο ρόλος της Αντιμυλλερίου ορμόνης ή Μυλλερίου Ανασταλτικής ουσίας**

Κωνσταντίνος Χαϊδόγιαννος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Αντιμυλλερίου ορμόνη (anti-Mullerian hormone, AMH) γνωστή και ως Μυλλερίου ανασταλτική ουσία (Mullerian inhibiting substance, MIS) είναι μια διμερής γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκκρίνεται από τα κοκκιοκύτταρα των ωοθυλακίων από τη στιγμή που αρχίζουν να αυξάνονται, δηλαδή από πρωτογενή και δευτερογενή ωοθυλάκια, μέχρι να επιλεγεί το επικρατούν ωοθυλάκιο. Η AMH/MIS αναστέλλει την αρχική στρατολόγηση (initial recruitment) των αρχέγονων ωοθυλακίων, στη δεξαμενή των αυξανόμενων ωοθυλακίων, ενώ επίσης μειώνει την ευαισθησία των αυξανόμενων ωοθυλακίων στην θυλακιοτρόπο ορμόνη (follicle stimulating hormone, FSH) και αναστέλλει την διεγερτική δράση της FSH στην ανάπτυξη των πρωτογενών και των δευτερογενών ωοθυλακίων. Η AMH/MIS σχετίζεται με την κατάσταση των ωοθυλακίων των ωοθηκών (ovarian follicular status) και αντιπροσωπεύει την ποσότητα και την ποιότητα της δεξαμενής ωοθυλακίων, ενώ επίσης σχετίζεται με τον αριθμό των ωαρίων που λαμβάνονται μετά από διέγερση των ωοθηκών για υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Η AMH/MIS μπορεί να είναι χρήσιμη στην πρόβλεψη του αποθέματος ωοθηκών, της πτωχής απόκρισης στην ωοθηκική διέγερση και του αποτελέσματος των κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Όροι ευρετηρίου: Αντιμυλλερίου ορμόνη, Μυλλερίου ανασταλτική ουσία, αποθέμα ωοθηκών, διέγερση ωοθηκών.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

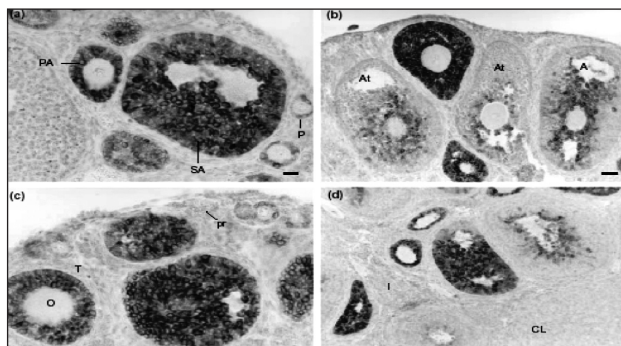
Η Αντιμυλλερίου ορμόνη (anti-Mullerian hormone, AMH) γνωστή και ως Μυλλερίου ανασταλτική ουσία (Mullerian inhibiting substance, MIS) είναι μια διμερής γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 140kDa. Το γονίδιο που την κωδικοποιεί βρίσκεται στο κοντό σκέλος του χρωμοσώματος 19 (19p 13-3)¹. Η AMH/MIS είναι μέλος της οικογένειας του μετατροπικού αυξητικού παράγοντα β (transforming growth factor β, TGF-β)^{2,3}. Στην οικογένεια του TGF-β ανήκουν οι ανασταλτίνες, οι ακτιβίνες, οι μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (bone morphogenetic proteins, BMPs) και οι παράγοντες αύξησης και διαφοροποίησης (growth and differentiation factors, GDFs)⁴. Τα μέλη της οικογένειας του TGF-β έχουν ευρύ φάσμα δράσης που περιλαμβάνει τη μεσεγχευματική-επιθηλιακή αλληλεπίδραση, την κυτταρική αύξηση, την εξωκυττάρια δομή και την ανάπτυξη των ιστών⁵. Η AMH/MIS έχει ισχυρή έκφραση στα άρρενα στα κύτταρα Sertoli από τη στιγμή της διαφοροποίησης των όρχεων στο έμβρυο έως την εφηβεία⁶. Η AMH/MIS προκαλεί την παλινδρομήση των πόρων του Muller κατά τη διαφοροποίηση του άρρενος⁷.

Υποδοχείς της AMH/MIS

Η AMH/MIS χρησιμοποιεί ένα ετερομερικό σύστημα διαμεμβρανικών υποδοχέων κινάσης σερίνης-θρεονίνης. Οι υποδοχείς της AMH/MIS διακρίνονται σε υποδοχείς τύπου I (anti-Mullerian hormone receptor I, AMHR I) και υποδοχείς τύπου II (anti-Mullerian hormone receptor II, AMHR II). Ενεργοποίηση του υποδοχέα τύπου I από τον υποδοχέα τύπου II με τρανσφωσφορυλίωση οδηγεί σε μεταβίβαση του σήματος μέσω των πρωτεϊνών Smad⁵.

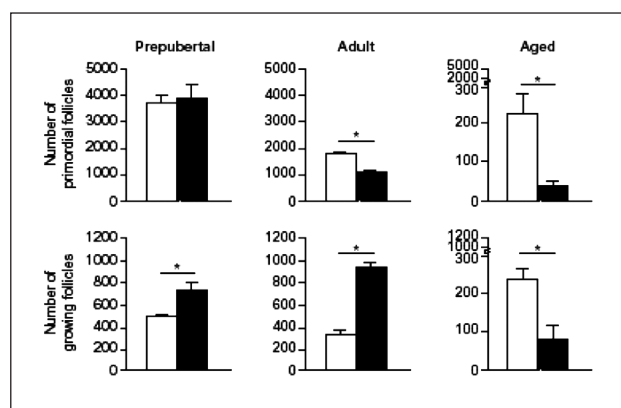
Η σημασία του υποδοχέα τύπου II έχει γίνει περισσότερο κατανοητή. Μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον AMHR II οδηγεί στο σύνδρομο παραμονής των πόρων του Muller (persistent Mullerian duct syndrome, PMDS). Οι υποδοχείς τύπου I έγιναν γνωστοί πιο πρόσφατα και φαίνεται να εμφανίζουν διαφορές ανάλογα με τον ιστό που βρίσκονται.

Ο τρόπος μεταβίβασης του μηνύματος της AMH/MIS στην ωοθήκη δεν είναι πλήρως κατανοητός και απαιτούνται περισσότερες μελέτες.



Εικόνα 1. Η έκφραση της AMH/MIS ποικίλει στα διάφορα στάδια ανάπτυξης του ωοθυλακίου και στα υπόλοιπα στοιχεία του ωοθηκικού ιστού. Τα πρωτογενή ωοθυλάκια (P) εμφανίζουν μικρή έκφραση της AMH/MIS η οποία αυξάνεται στα μικρά δευτερογενή ωοθυλάκια, που αρχίζουν να σχηματίζουν άντρο (PA), (SA). Στα δευτερογενή ωοθυλάκια (A) παρατηρείται μεγαλύτερη έκφραση της AMH/MIS. Τα αρχέγονα ωοθυλάκια (pr), τα ωάρια (O), τα άτρητα ωοθυλάκια (At), τα ωχρά σωμάτια (CL), τα κύτταρα της θήκης (T) και το στρώμα (I) έχουν μηδενική έκφραση της AMH/MIS.

(Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction* 2002; 124:601-609)



Εικόνα 2. Μελετήθηκαν μεταλλαγμένοι μύες με έλλειψη AMH/MIS (anti-Mullerian hormone knockout, AMHKO) και μάρτυρες χωρίς μετάλλαξη. Μετρήθηκε ο αριθμός των ωοθυλακίων πριν την εφηβεία (25 ημερών), στην ενήλικη ζωή (4 μηνών) και σε προχωρημένη ηλικία (13 μηνών). Τα ωοθυλάκια που δεν έχουν αρχίσει να αναπτύσσονται (primordial) είναι στατιστικά λιγότερα σε μύες με έλλειψη AMH/MIS στην ενήλικη ζωή και σε προχωρημένη ηλικία. Τα αυξανόμενα ωοθυλάκια είναι στατιστικά σημαντικά περισσότερα σε μύες με έλλειψη AMH/MIS πριν την εφηβεία και στην ενήλικη ζωή και στατιστικά λιγότερα σε προχωρημένη ηλικία.

(Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999; 140:5789-5796)

Έκφραση της AMH/MIS στην ωοθήκη

Η Alexandra Durlinger αναφέρει εντόπιση με ανοσοϊστοχημεία της AMH/MIS σε ωοθήκες μυών. Η έκφραση της AMH/MIS ποικίλει στα διάφορα στάδια ανάπτυξης του ωοθυλακίου και στα υπόλοιπα στοιχεία του ωοθηκικού ιστού. Τα πρωτογενή ωοθυλάκια εμφανίζουν μικρή έκφραση της AMH/MIS, η οποία αυξάνεται στα μικρά δευτερογενή ωοθυλάκια που αρχίζουν να σχηματίζουν άντρο. Στα δευτερογενή ωοθυλάκια παρατηρείται μεγαλύτερη έκφραση της AMH/MIS. Τα κοκκιοκύτταρα που είναι πλησιέστερα στο άντρο και το ωάριο εμφανίζουν μεγαλύτερη έκφραση της AMH/MIS από κοκκιοκύτταρα που βρίσκονται περιφερικότερα. Οι διαφορές έκφρασης μεταξύ των κυττάρων μέσα στο ίδιο ωοθυλάκιο πιθανόν να οφείλονται στις διαφορές που υπάρχουν στην ικανότητα πολλαπλασιασμού και τη στεροειδογένεση, κάτω από την επίδραση παραγόντων που παράγονται από το ωάριο. Τα αρχέγονα ωοθυλάκια, τα ωάρια, τα άτρητα ωοθυλάκια, τα ωχρά σωμάτια, τα κύτταρα της θήκης και το στρώμα έχουν μηδενική έκφραση της AMH/MIS^{8,9}.

Εκκρίση της AMH/MIS στην ωοθήκη

Η AMH/MIS εκκρίνεται από τα κοκκιοκύτταρα των ωοθυλακίων από τη στιγμή που αρχίζουν να αυξάνονται, δηλαδή από πρωτογενή και δευτερογενή ωοθυλάκια, μέχρι να επιλεγεί το επικρατούν ωοθυλάκιο¹⁰. Η συγκέντρωση της AMH/MIS στο αίμα είναι σχετικά σταθερή κατά τον έμμηνο κύκλο^{11,12}. Η AMH/MIS αρχίζει να παράγεται από το έμβρυο την 36^η εβδομάδα κύησης και σταματά στην εμμηνοπαυση¹³. Οι υψηλότερες τιμές AMH/MIS παρατηρούνται μετά την εφηβεία¹⁴.

Λειτουργία της AMH/MIS στην ωοθήκη

Η AMH/MIS αναστέλλει την αρχική στρατολόγηση (initial recruitment) των αρχέγονων ωοθυλακίων στη δεξαμενή των αυξανόμενων ωοθυλακίων¹⁵. Μελετήθηκαν μεταλλαγμένοι μύες με έλλειψη AMH/MIS (anti-Mullerian hormone knockout, AMHKO) και μάρτυρες χωρίς μετάλλαξη. Μετρήθηκε ο αριθμός των ωοθυλακίων πριν την εφηβεία (25 ημερών), στην ενήλικη ζωή (4 μηνών) και σε προχωρημένη ηλικία (13 μηνών). Τα ωοθυλάκια που δεν έχουν αρχίσει να αναπτύσσονται (primordial) είναι στατιστικά σημαντικά λιγότερα σε μύες με έλλειψη AMH/MIS στην ενήλικη ζωή και σε προχωρημένη ηλικία. Τα αυξανόμενα ωοθυλάκια είναι στατιστικά σημαντικά περισσότερα σε μύες με έλλειψη AMH/MIS πριν την εφηβεία και στην ενήλικη ζωή και στατιστικά λιγότερα σε προχωρημένη ηλικία. Προκύπτει λοιπόν το συμπέρασμα ότι σε μύες με έλλειψη AMH/MIS τα αρχέγονα ωοθυλάκια εξαντλούνται γρηγορότερα

Εικόνα 3. Σε ενήλικες μύες με έλλειψη AMH/MIS η συγκέντρωση της FSH στον ορό είναι χαμηλότερη, όμως τα αυξανόμενα ωοθυλάκια είναι περισσότερα συγκριτικά με τους μάρτυρες, παρά τη χαμηλότερη συγκέντρωση FSH. Επίσης, σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις FSH, σε μύες με έλλειψη AMH/MIS, η διέγερση των ωοθηκών ήταν πιο έντονη τόσο σε αριθμούς ωοθυλακίων όσο και σε στάδιο ανάπτυξης.

(Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Jarels B, Kumar RT, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA et al. Anti-mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142:4891-4899)

με την αύξηση της ηλικίας συγκριτικά με τους μάρτυρες, λόγω της αυξημένης αρχικής στρατολόγησης (initial recruitment) των αρχέγονων ωοθυλακίων¹⁶.

Η AMH/MIS μειώνει την ευαισθησία των αυξανόμενων ωοθυλακίων στην θυλακιοτρόπο ορμόνη (follicle stimulating hormone, FSH) και αναστέλλει την διεγερτική δράση της FSH στην ανάπτυξη των πρωτογενών και δευτερογενών ωοθυλακίων¹⁵. Σε ενήλικες μύες με έλλειψη AMH/MIS η συγκέντρωση της FSH στον ορό είναι χαμηλότερη, όμως τα αυξανόμενα ωοθυλάκια είναι περισσότερα συγκριτικά με τους μάρτυρες, παρά τη χαμηλότερη συγκέντρωση FSH. Επίσης, σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις FSH, σε μύες με έλλειψη AMH/MIS, η διέγερση των ωοθηκών ήταν πιο έντονη τόσο σε αριθμούς ωοθυλακίων όσο και σε στάδιο ανάπτυξης. Προκύπτει λοιπόν το συμπέρασμα ότι σε έλλειψη AMH/MIS, τα αυξανόμενα ωοθυλάκια είναι πιο ευαίσθητα στην FSH¹⁷. Η AMH/MIS συμμετέχει στην αρνητική ρύθμιση της αρωματάσης και του αριθμού των υποδοχέων της ωχροτρούπου ορμόνης (luteinizing hormone, LH) και συνεπώς στην αύξηση της παραγωγής ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης¹⁸. Συνοψίζοντας, η AMH/MIS σχετίζεται με τον αριθμό των αρχέγονων ωοθυλακίων που δεν εξελίσσονται κατά τον κύκλο και δεν απαντούν στην FSH.

Η AMH/MIS ως προγνωστικός δείκτης αποθέματος ωοθηκών (ovarian reserve)

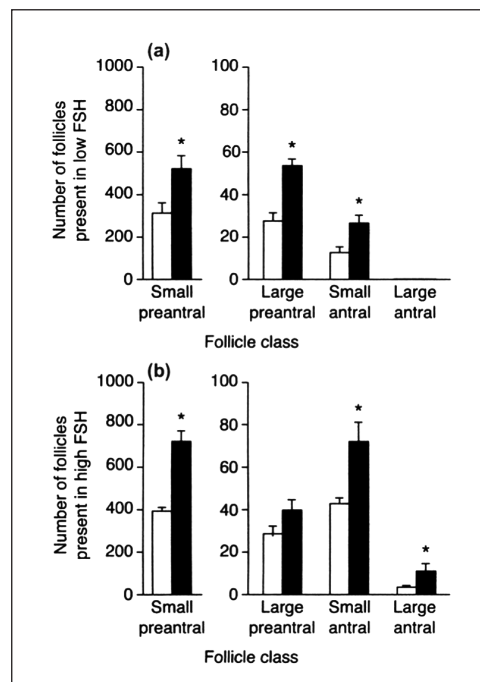
Ο ορισμός του αποθέματος των ωοθηκών (ovarian reserve) περιλαμβάνει την ποσότητα του αποθέματος των αρχέγονων ωοθυλακίων, αλλά και την ποιότητα των ωαρίων που λαμβάνονται¹⁹. Η AMH/MIS μειώνεται με την ηλικία και δεν ανιχνεύεται μετά την εμμηνόπαυση. Αυτό επιβεβαιώνεται σε γυναίκες που υποβλήθηκαν σε χημειοθεραπεία²⁰. Η συγκέντρωση της AMH/MIS σχετίζεται με τη διάρκεια των προηγούμενων κύκλων, ενώ η μείωση της διάρκειας του κύκλου φαίνεται πως είναι ένα από τα πρώτα σημεία ελαττωμένης ωοθηκικής λειτουργίας²¹. Η AMH/MIS σχετίζεται με την ηλικία και την FSH, όμως η συσχέτισή της με τον αριθμό των ωοθυλακίων που σχηματίζουν άντρο είναι πιο ισχυρή και πιθανόν αποτελεί πιο ευαίσθητο δείκτη της ωοθηκικής γήρανσης (ovarian aging)²².

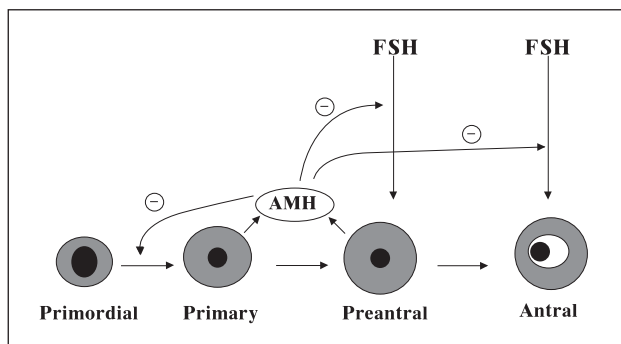
Η πτώση της με την αύξηση της ηλικίας προηγείται των άλλων γνωστών μεταβλητών όπως της FSH, της ανασταλτίνης Β και του αριθμού των δευτερογενών ωοθυλακίων και θα μπορούσε να είναι χρήσιμη στην πρόβλεψη της εμμηνόπαυσης²³. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η AMH/MIS σχετίζεται με την κατάσταση των ωοθυλακίων των ωοθηκών (ovarian follicular status)²² και αντιπροσωπεύει την ποσότητα και την ποιότητα της δεξαμενής ωοθυλακίων¹⁹.

AMH/MIS και «πτωχή ωοθηκική απάντηση» (poor response)

Η «πτωχή ωοθηκική απάντηση» στην ωοθηκική διέγερση δεν έχει οριστεί με ακρίβεια. Λιγότερα από 2-4 ώρια κατά την ωοληψία ή ακύρωση της ωοθηκικής διέγερσης λόγω επηρεασμένης (λιγότερα από 3 ωοθυλάκια) ή καθόλου αύξησης ωοθυλακίων εμπίπτουν στον ορισμό της «πτωχής» απάντησης στη διέγερση των ωοθηκών^{24,25}. Η πτωχή απάντηση μετά από διέγερση με εξωγενείς γοναδοτροπίνες σχετίζεται με ωοθηκική γήρανση, μειωμένο απόθεμα ωοθυλακίων και πρόωμη εμμηνόπαυση^{26,27}.

Ένας δείκτης των ωοθυλακίων που δεν εξελίσσονται κατά τον κύκλο και δεν απαντούν στην FSH, θα μπορούσε να προβλέψει την ωοθηκική απάντηση στη διέγερση των ωοθηκών. Ως δείκτες πτωχής ωοθηκικής απάντησης έχουν χρησιμοποιηθεί η αύξηση της θυλακιοτρόπου ορμόνης, η μείωση της ανασταλτίνης β και η μείωση του αριθμού των ωοθυλακίων στο υπερηχογράφημα. Η θυλακιοτρόπος ορμόνη ρυθμίζεται με αρνητική παλινδρομη ρύθμιση από την οιστραδιόλη και την ανασταλτίνη β που παράγονται από τα κοκκιοκύτταρα και αποτελεί έμμεση αντανάκλαση του αριθμού των πρωτογενών ωοθυλακίων. Η cut-off τιμή της FSH, πάνω από την οποία ακυρώνονται περισσότεροι κύκλοι, είναι 9,8





Εικόνα 4. Η AMH/MIS αναστέλλει την αρχική στρατολόγηση (initial recruitment) των αρχέγονων ωοθυλακίων, στη δεξαμενή των αυξανόμενων ωοθυλακίων. Η AMH/MIS μειώνει την ευαισθησία των αυξανόμενων ωοθυλακίων στην θυλακιοτρόπο ορμόνη (follicle stimulating hormone, FSH) και αναστέλλει την διεγερτική δράση της FSH στην ανάπτυξη των πρωτογενών και δευτερογενών ωοθυλακίων.

(La Marca A, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clinical Endocrinology* 2006; 64:603-610)

IU/mL²⁸. Η θυλακιοτρόπος ορμόνη δεν σχετίζεται με το αποτέλεσμα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, αλλά με την ωοθηκική απάντηση²⁹. Η ανασταλίνη β εκκρίνεται από μικρά πρωτογενή ωοθυλάκια επομένως και αυτή εξαρτάται από τον αριθμό των πρωτογενών ωοθυλακίων. Η ανασταλίνη β αντανάκλα την ικανότητα των κοκκιοκυττάρων και του αποθέματος ωοθυλακίων της ωοθήκης.

Η υπερηχογραφική μέτρηση του αριθμού των ωοθυλακίων (antral follicle count, AFC) διαστάσεων 2-5 mm είναι επίσης δείκτης της απόκρισης των ωοθηκών, αλλά τα αρχέγονα ωοθυλάκια είναι δύσκολο να μετρηθούν απευθείας υπερηχογραφικά. Ο AFC έχει ισχυρή προγνωστική αξία σχετικά με την πτωχή απόκριση στην διέγερση των ωοθηκών²⁴.

Η AMH/MIS σχετίζεται με τον αριθμό των ωαρίων που λαμβάνονται μετά από διέγερση των ωοθηκών για υποβοηθούμενη αναπαραγωγή^{30,31}. Επίσης συσχετίζεται θετικά με τον αριθμό των ώριμων ωαρίων (μετάφαση II), αλλά και με τον αριθμό των εμβρύων και των κλινικών κήσεων (διαπίστωση καρδιακής λειτουργίας εμβρύου με διακολπικό υπερηχογράφημα)²¹.

Η προγνωστική αξία της AMH στην πτωχή απόκριση των ωοθηκών είναι συγκρίσιμη με το AFC³¹.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η μέτρηση της AMH/MIS μπορεί να είναι χρήσιμη στην πρόβλεψη της πτωχής απόκρισης στην ωοθηκική διέγερση και του αποτελέσματος των κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF)²¹. Η συγκέντρωση της AMH/MIS στο αίμα αντανάκλα το απόθεμα ωοθυλακίων των ωοθηκών και μάλλον είναι ο καλύτερος δείκτης που αντανάκλα την έκπτωση της αναπαραγωγικής λειτουργίας με την ηλικία^{31,32}. Η μέτρηση της AMH/MIS θα μπορούσε επίσης να είναι χρήσιμη στην πρόβλεψη της εμμηνόπαυσης³³. Η δημιουργία μεταλλαγμένων μωών, χωρίς AMH/MIS, και η χρήση ανασυνδυασμένης AMH/MIS έχουν βοηθήσει στην κατανόηση του ρόλου της στην αρχική στρατολόγηση και στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Η αποσαφήνιση της λειτουργίας της AMH/MIS θα την καταστήσει χρήσιμο εργαλείο στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.

SUMMARY

Anti-Mullerian hormone (AMH) also known as Mullerian inhibiting substance (MIS) is a dimeric glycoprotein, a member of the transforming growth factor β (TGF- β) superfamily. AMH/MIS is produced by the granulosa cells of early developing follicles. AMH/MIS inhibits initiation of primordial follicles during initial recruitment; it also inhibits FSH-stimulated follicle growth by decreasing the FSH-responsiveness of the follicle. AMH/MIS may represent both the quantity and quality of the ovarian follicle pool (ovarian follicular status). AMH/MIS seems to be the best marker reflecting the decline of reproductive function and could be used as a marker for ovarian aging and for ovarian response to controlled ovarian stimulation for IVF.

Key words: anti-Mullerian hormone (AMH), Mullerian inhibiting substance (MIS), ovarian reserve, poor response, IVF.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Cohen-Haguenauer O, Picard Mattei JY, Mattei MG, Serero S, Nguyen VC, de Tand MF, Guerrier D, Hors-Cayla MC, Josso N, Frezal J. Mapping of the gene for anti-Mullerian hormone to the short arm of human chromosome 19. *Cytogenetics and Cell Genetics* 1987; 44:2-6.
2. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM, Cheung A, Ninfa EG, Frey AZ, Gash DJ, Chow EP, Fisher RA, Bertonis JM, Torres G, Wallner BP, Ramachandran KL, Ragin RC, Manganaro TF, MacLaughlin DT, Donahoe PK. Isolation of the bovine and human genes for Mullerian inhibiting substance and expression of the human genes in animal cells. *Cell* 1986; 45:685-698.
3. Pepinski RB, Sinclair LK, Chow EP, Mattaliano RJ, Manganaro TF, Donahoe PK. Proteolytic processing of Mullerian inhibiting substance produces a transforming growth factor- β like fragment. *Journal of Biological Chemistry* 1988; 263:18961-18964.

4. Massagu J. The transforming growth factor- β family. *Annual Review of Cell Biology* 1990; 6:597-641.
5. Massagu J, Chen YG. Controlling TGF- β signalling. *Genes and Development* 2000; 14:627-644.
6. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81:571-576.
7. Munsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-Mullerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development* 1991; 113:613-624.
8. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, Grootegoed JA. Anti-Mullerian hormone and anti-Mullerian 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.
9. Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction* 2002; 124:601-609.
10. Vigier B, Picard JY, Tran D, Legeai L, Josso N. Production of anti Mullerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology* 1984; 114:1315-1320.
11. Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME. Serum Mullerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertility Sterility* 2000; 73:859-861.
12. La Marca A, Malmusi S, Giuliani S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, Volpe A. Anti-Mullerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Human Reproduction* 2004; 19:2738-2741.
13. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84:3836-3844.
14. Hudson PL, Douglá I, Donahoe PK, Cate RL, Epstein J, Pepinsky RB. An immunoassay to detect human Mullerian inhibiting substance in males and females during normal development. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1990; 70:16-22.
15. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002; 143:1076-1084.
16. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999; 140:5789-5796.
17. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Jarels B, Kumar RT, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA. Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142:4891-4899.
18. di Clemente N, Goxe B, Romy JJ, Cate RL, Josso N, Vigier B, Salesse R. Inhibitory effect of AMH upon the expression of aromatase activity and LH receptors by cultured granulosa cells of rat and porcine immature ovaries. *Endocrine* 1994; 2:553-558.
19. te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive aging. *Human Reproduction Update* 2002; 8:141-154.
20. Bath LE, Wallace WHB, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti Mullerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Human Reproduction* 2003; 18:2368-2374.
21. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antiMullerian hormone/Mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertility Sterility* 2004; 82:1323-1329.
22. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Human Reproduction* 2003; 18:323-327.
23. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone serum levels: A putative marker for ovarian aging. *Fertility Sterility* 2002; 77:357-362.
24. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertility Sterility* 2002; 77:328-336.
25. Hellberg D, Waldenstrom U, Nilson S. Defining a poor responder in in vitro fertilization. *Fertility Sterility* 2004; 82:488-490.
26. de Boer EJ, den Tonkelaar I, te Velde ER, Burger CW, Klip H, van Leeuwen FE; OMEGA-project group. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. *Fertility Sterility* 2002; 77:978-985.
27. Nikolaou D, Lavery S, Turner C, Margara R, Trew G. Is there a link between an extremely poor response to ovarian hyperstimulation and early ovarian failure? *Human Reproduction* 2002; 17:1106-1111.
28. Creus M, Pegarrubia J, Fábregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Human Reproduction* 2000; 15:2341-2346.
29. Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HS, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal FSH levels in women undergoing IVF. *Fertility Sterility* 2003; 79:63-68.
30. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum mullerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertility Sterility* 2002; 77:468-471.
31. van Rooij IAJ, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, de Jong FH, Themmen APN. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Human Reproduction* 2002; 17:3065-3071.
32. Van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Schefferde GJ, Jong FH, Themmente AP, te Velde ER. Anti-Mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004; 11:601-606.
33. La Marca A, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clinical Endocrinology* 2006; 64:603-610.