

Uso clínico do hormônio antimülleriano em ginecologia

Clinical use for anti-mullerian hormone in gynecology

Artigo de Revisão

Palavras-chave

Hormônio antimülleriano
Fertilização *in vitro*
Gônadas/lesões
Amenorreia
Ovário/fisiologia

Keywords

Anti-mullerian hormone
In vitro fertilization
Gonads/injuries
Amenorrhea
Ovary/physiology

Resumo

O hormônio antimülleriano (AMH) é uma glicoproteína produzida pelas células granulosas de folículos ovarianos primários, pré-antrais e pequenos folículos antrais e ultimamente sua aplicabilidade clínica tem sido demonstrada através de diversos estudos. A predição da resposta à estimulação ovariana para fertilização *in vitro* corresponde a sua mais frequente utilização na prática clínica, sendo rotineiramente realizada em muitos serviços para identificar subgrupos de mulheres suscetíveis a má resposta ou a Síndrome da Hiperestimulação Ovariana. Existem perspectivas de que o AMH possa ser aplicável na individualização do risco de injúria gonadal iatrogênica em mulheres portadoras de neoplasia que serão submetidas a quimioterapia. Também é provável que as dosagens de AMH sejam incluídas nos protocolos de investigação de amenorreias e oligomenorreias, uma vez que seus níveis encontram-se elevados em pacientes portadoras da Síndrome dos Ovários Policísticos, reduzidos em casos de falência ovariana prematura e normais em outras condições como a hiperprolactinemia e o hipogonadismo hipogonadotrófico. É possível que futuramente o AMH venha a ser utilizado na predição da idade de menopausa e do prognóstico reprodutivo da mulher, fornecendo bases sólidas ao aconselhamento concepcivo e contracepcivo.

Abstract

Anti-mullerian hormone (AMH) is a glycoprotein produced by granulosa cells of primary, pre-antral and small antral ovarian follicles and its clinical applicability has been recently demonstrated by several studies. Prediction of the response to ovarian stimulation for *in vitro* fertilization corresponds to the most frequent utilization of AMH in clinical practice, being routinely assessed in many services to identify subgroups of women susceptible to a poor response or to Ovarian Hyperstimulation Syndrome. There are great perspectives that AMH may be applicable to the individual determination of risk for iatrogenic gonadal injury in women with neoplasms who will be submitted to chemotherapy. It is also probable that AMH assessment will be included in protocols for the investigation of amenorrhea and oligomenorrhea, since AMH levels are increased in Polycystic Ovary Syndrome, reduced in premature ovarian failure and normal in other conditions such as hyperprolactinemia and hypogonadotropic hypogonadism. It is possible that AMH will be utilized in the future for the prediction of age at menopause and of reproductive prognosis, providing solid bases for pre-conceptive and contraceptive counseling.

Correspondência

Gustavo Salata Romão
Curso de Medicina da Universidade de Ribeirão Preto
Avenida Costabile Romano, 2201
CEP: 14096-000
Ribeirão Preto (SP), Brasil

Recebido em

21/11/2012

Aceito com modificações

22/01/2013

Trabalho realizado no Curso de Medicina, Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP; Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

¹Curso de Medicina, Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

²Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

A identificação de marcadores apropriados para estimar a reserva ovariana permaneceu uma questão controversa durante muitos anos¹, até que recentemente a dosagem sérica do hormônio antimülleriano (AMH) foi reconhecida pelas evidências como um método de maior acurácia em relação aos outros tradicionalmente utilizados².

O hormônio AMH consiste em uma glicoproteína de 140 kDa³ identificada pela primeira vez em 1940, quando foi comprovada sua secreção das células de Sertoli em fetos do sexo masculino e sua principal atividade, na promoção da regressão dos ductos de Muller. A produção de AMH pelas células granulosas folículos primários, folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais (com até 7 mm de diâmetro) foi relatada pela primeira vez em 1981⁴, mas as investigações sobre o seu papel biológico e utilidade clínica somente se concretizaram na virada do século, a partir do desenvolvimento de *kits* comerciais para dosagens desse marcador.

Atualmente as dosagens de AMH estão inseridas na rotina de diversos serviços para diferentes utilidades clínicas.

Avaliação da reserva ovariana funcional em reprodução assistida

Esta corresponde à indicação mais bem estabelecida para dosagens séricas de AMH em mulheres, sendo em muitos serviços realizada rotineiramente antes da fertilização *in vitro* (FIV). O termo “reserva ovariana funcional”, recentemente empregado em reprodução assistida, faz referência ao número médio de folículos recrutáveis sob estímulo de Hormônio Folículo Estimulante (FSH) exógeno para crescerem até o estágio pré-ovulatório, disponibilizando oócitos captáveis para os procedimentos de fertilização, ao passo que a “reserva ovariana verdadeira” corresponde ao patrimônio estimado de folículos remanescentes em um dado momento da vida reprodutiva da mulher².

Um grande número de estudos confirmou a superioridade do AMH obtido no segundo ou terceiro dia de estimulação ovariana controlada em relação à idade feminina, níveis de FSH, estradiol e inibina B na predição do número de oócitos captados para FIV^{5,6}.

Como o AMH se correlaciona fortemente ao número de oócitos obtidos após a estimulação ovariana controlada, as medidas basais de AMH permitem a individualização dos protocolos de estímulo e das expectativas de resultado para os casais inférteis⁷. Mulheres com níveis elevados de AMH no período de pré-estimulação ovariana são propensas a uma resposta excessiva às gonadotrofinas exógenas e deve-se proceder a readequação das doses administradas para prevenir a síndrome da hiperestimulação ovariana (SHO)². Por outro lado, mulheres com níveis reduzidos de AMH são propensas a má resposta a estimulação e consequentemente piores resultados na FIV, devendo

ser apropriadamente aconselhadas, e nestes casos deve-se oferecer outras alternativas de tratamento como a doação de oócitos².

Embora o AMH esteja relacionado primariamente à quantidade e não à qualidade dos oócitos, este marcador também se associa positivamente às taxas de nascidos vivos após a FIV, independentemente da idade materna⁸. Isto se deve a sua relação específica com a produção de oócitos, e para cada idade, ou seja, quanto mais elevados os níveis de AMH, mais favorável é a expectativa em relação ao número de oócitos captados e de embriões disponíveis a serem selecionados para a transferência².

O custo-efetividade do uso rotineiro de AMH nos protocolos de FIV foi recentemente avaliado e os resultados sugerem uma economia substancial⁹. Parte dessa economia atribui-se à identificação de mulheres propensas à SHO, que podem ser induzidas com doses mais brandas de gonadotrofinas exógenas, com redução significativa nos custos da internação e tratamento hospitalar². Outro aspecto a se considerar é a possibilidade de exclusão de mulheres com níveis extremamente baixos de AMH dos programas de FIV, reconhecendo que essas pacientes apresentam chances quase nulas de sucesso e aquelas com níveis indetectáveis de AMH que não apresentam nenhuma chance de gravidez com seus próprios oócitos².

Diferentemente das dosagens basais, alguns achados recentes sugerem que as dosagens de AMH obtidas mais tardiamente no ciclo de estimulação (no sétimo dia) não apresentam a mesma utilidade na predição do padrão de resposta, não sendo recomendado seu uso nessa condição¹⁰.

Avaliação da reserva ovariana verdadeira em idade específica

A maior parcela do AMH produzido na mulher adulta tem origem nas células granulosas dos pequenos folículos em crescimento e suas concentrações séricas apresentam apenas pequenas flutuações ao longo do ciclo menstrual¹¹, o que reflete o contínuo crescimento não cíclico dos folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais independentes de FSH. Além disto, os níveis séricos de AMH apresentam grande reprodutibilidade interciclo e, como consequência, uma única amostra sanguínea é suficiente para uma avaliação realística da reserva ovariana, o que não ocorre em relação às detecções do FSH e inibina B¹². Também se verificou que os níveis séricos de AMH apresentam menor variação intra e interciclo em relação à contagem de folículos antrais (AFC) sendo, portanto, um marcador mais robusto da reserva ovariana verdadeira⁶.

Foi demonstrada oscilação dos níveis de AMH ao longo da infância, adolescência e vida adulta¹³. Coortes realizadas com a população adulta demonstraram claramente um

declínio das concentrações de AMH relacionados à idade, atingindo níveis indetectáveis por ocasião da menopausa¹⁴. Mais recentemente, concentrações de AMH em populações de crianças e adultos jovens foram descritas e a compilação desses dados permitiu a elaboração de um padrão descritivo dos níveis desse marcador desde o nascimento até a menopausa². De acordo com esse perfil, haveria uma elevação transitória de AMH no período neonatal, que é similar à minipuberdade descrita nos recém nascidos de sexo masculino, com subsequente aumento durante a infância e puberdade, atingindo um pico antes dos 20 anos. A partir de então inicia-se um declínio gradual até os 30 anos².

Para mulheres adultas femininas foram estabelecidos normogramas de valores de AMH a partir dos resultados obtidos pelas grandes coortes de mulheres^{15,16}. Ainda não se dispõe de estudos longitudinais a longo prazo, mas as coortes cruzadas sugerem que esses valores correspondam aos dados populacionais².

Avaliação e predição de lesão gonadal iatrogênica

A possibilidade de interpretar os valores de AMH para uma idade específica permitiu o desenvolvimento de novas aplicações para este marcador. Isso inclui a avaliação do impacto da terapia gonadotóxica (radioterapia, quimioterapia ou cirurgia) sobre a reserva ovariana¹⁷.

Verificou-se que os níveis de AMH declinam rapidamente com o início da quimioterapia¹⁸. A análise das dosagens em mulheres portadoras de linfomas permitiu a demonstração da toxicidade associada ao uso de agentes alquilantes, havendo pouca ou nenhuma recuperação dos níveis de AMH após a quimioterapia. Por outro lado, mulheres que receberam tratamento com agentes não alquilantes apresentaram uma boa recuperação dos níveis de AMH após a quimioterapia, atingindo concentrações próximas aos níveis pré-tratamento^{18,19}. As dosagens séricas de AMH também mostraram grande utilidade em meninas pré-púberes submetidas à quimioterapia, verificando-se o declínio dos níveis durante a quimioterapia e uma recuperação dependente da toxicidade do regime utilizado²⁰, ao passo que a monitorização da quimiotoxicidade por meio de outros hormônios do eixo reprodutivo não apresentou acurácia satisfatória para esta finalidade².

Em estudos de acompanhamento pós-tratamento para câncer verificou-se redução dos níveis de AMH após a radioterapia, tanto na infância quanto na vida adulta^{19,21}. A capacidade de recuperação do sistema reprodutor após a perda abrupta de folículos foi sugerida em face à redução discreta ou imperceptível da fecundidade após a ooforectomia unilateral²². Achados equivalentes foram reportados após a cirurgia para endometriose ovariana,

com declínio dos níveis de AMH imediatamente após a cirurgia e recuperação destes a partir de então¹⁷. Se esses resultados forem transpostos para a condição de pós-quimioterapia, devem ser indicativos de que somente a perda substancial da reserva ovariana terá impacto clínico na fecundidade².

Outra linha de investigação tem procurado verificar se níveis elevados de AMH no período de pré-tratamento seriam indicativos de maior probabilidade de recuperação da função ovariana após a quimioterapia em relação às mulheres da mesma faixa etária com níveis inferiores de AMH no mesmo período. Alguns estudos demonstraram que mulheres portadoras de câncer de mama que mantiveram os ciclos menstruais até um ano após a quimioterapia apresentavam níveis mais elevados de AMH no período pré-tratamento^{23,24}. Outros achados, entretanto, não confirmam esses dados²⁵. Uma recente análise da função menstrual e ovariana cinco anos após a quimioterapia para câncer de mama demonstrou que os níveis de AMH na fase de pré-tratamento foram preditivos da continuidade dos ciclos menstruais e de evidências bioquímicas de atividade ovariana no período pós-tratamento²⁶. A idade também foi preditiva da capacidade de recuperação da função ovariana após a quimioterapia. Entretanto, em uma análise estritamente multivariada somente o AMH permaneceu como preditor, a idade não mais apresentando impacto². Se confirmados, estes achados poderão representar grande valia na tomada de decisões, utilizando métodos mais invasivos de preservação de fertilidade em mulheres com baixas concentrações de AMH na fase de pré-tratamento e iniciando imediatamente a quimioterapia naquelas que apresentem níveis elevados de AMH em fase de pré-tratamento². Entretanto, deve-se reconhecer que estes resultados ainda são preliminares, sendo necessário a sua confirmação por estudos prospectivos de grande porte antes da sua recomendação na prática clínica².

Diagnóstico diferencial das oligomenorreias e amenorreias

Embora se utilize das dosagens de gonadotrofinas e estradiol para subclassificar as oligo e amenorreias, uma simples dosagem de AMH poderia corresponder à primeira linha de investigação².

Em mulheres com oligo ou amenorreia atribuída à síndrome dos ovários policísticos (SOP), os níveis de AMH estão frequentemente elevados devido a sua produção aumentada pela grande quantidade de folículos antrais²⁷. Por outro lado, entre as mulheres com falência ovariana prematura os níveis de AMH estão reduzidos e na amenorreia associada a hiperprolactinemia ou hipogonadismo hipogonadotrófico os níveis de AMH estão normais².

Os níveis de AMH também se encontram elevados em mulheres com tumores das células da granulosa, e apresenta utilidade como marcador tumoral².

Mulheres com hiperprolactinemia ou hipogonadismo hipogonadotrófico apresentarão baixas concentrações de FSH sendo esperada uma redução na produção de AMH a partir do *pool* de folículos em crescimento. Contudo, o grau de supressão gonadotrófica parece ser insuficiente para impactar a produção de AMH nessas mulheres. De forma similar a produção de AMH parece não ser alterada pelo uso de pílulas anticoncepcionais combinadas²⁸, embora já tenha sido relatado uma elevação de seus níveis após descontinuação do uso desse contraceptivo²⁹.

Parece que a supressão completa e prolongada da secreção de gonadotrofinas (com o uso de análogos de GnRH) pode estar associada à redução dos níveis de AMH, tal qual foi observado em mulheres que utilizaram goserelina em período prolongado para tratamento do câncer de mama³⁰. Por meio da confirmação desses dados, verificou-se a redução dos níveis de AMH durante a gravidez³¹.

As dosagens de AMH não fazem parte dos atuais critérios diagnósticos da síndrome dos ovários policísticos, mas tais critérios estão sujeitos a revisão, sendo provável que o AMH seja incluído nos novos protocolos³². Certamente a elevação pronunciada dos níveis de AMH em contraste com os frequentes achados de normalidade dos outros hormônios reprodutivos na SOP aumenta a possibilidade de sua utilização como critério diagnóstico da síndrome².

Predição do futuro reprodutivo

O declínio dos níveis de AMH nos últimos anos da vida reprodutiva é um achado consolidado, tanto em

estudos prospectivos quanto nos transversais, aumentando assim a possibilidade de predição da menopausa e do prognóstico reprodutivo da mulher². Em análise de amostras seriadas do sangue de 50 mulheres acompanhadas prospectivamente desde os 42 anos, constatou-se que os níveis de AMH declinam até níveis indetectáveis nos últimos cinco anos que precedem a menopausa³³. Os níveis de inibina B declinam de maneira similar, tornando-se indetectáveis nos últimos quatro anos antes da menopausa². Entretanto, somente os níveis de AMH foram significativamente relacionados com a idade e com o tempo até a menopausa, ao passo que para a Inibina B esta relação não foi significativa².

Um grande estudo que incluiu 257 mulheres ovulatórias entre 21 e 46 anos evidenciou que os níveis séricos de AMH são preditores de longo prazo da idade da menopausa³⁴. Níveis de AMH baixos para a idade específica relacionaram-se à antecipação da menopausa, enquanto níveis elevados foram preditores de menopausa mais tardia. Porém, somente 11% das mulheres desse estudo alcançaram a menopausa durante o período de acompanhamento e, portanto, estudos com maiores e amostras de mais longa duração serão necessários para confirmar esses dados³⁴.

Deve ser reconhecido que a idade da menopausa é fortemente determinada por fatores genéticos e embora um grande número de fatores ambientais tenha sido identificado, seu impacto combinado é modesto³⁵. Seria interessante verificar se o AMH seria melhor preditor da idade da menopausa em relação à idade de menopausa materna². A possibilidade de predição biológica do futuro reprodutivo da mulher a partir de uma determinada idade disponibiliza bases sólidas para o aconselhamento conceptivo e contraceptivo.

Referências

1. Franco RC, Romão GS, Ferriani RA, Sala MM. A má resposta à estimulação ovariana controlada com gonadotrofinas em fertilização in vitro. *Reprod Clim.* 1999;14(1):11-5.
2. Anderson RA, Nelson SM, Wallace WH. Measuring anti-Müllerian hormone for the assessment of ovarian reserve: when and for whom is it indicated? *Maturitas.* 2012;71(1):28-33.
3. di Clemente N, Josso N, Gouédard L, Belville C. Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads. *Mol Cell Endocrinol.* 2003;211(1-2):9-14.
4. Hutson J, Ikawa H, Donahoe PK. The ontogeny of Müllerian inhibiting substance in the gonads of the chicken. *J Pediatr Surg.* 1981;16(6):822-7.
5. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arsenio AC, et al. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update.* 2010;16(2):113-30.
6. Anckaert E, Smits J, Schiettecatte J, Klein BM, Arce JC. The value of anti-Müllerian hormone measurement in the long GnRH agonist protocol: association with ovarian response and gonadotrophin-dose adjustments. *Hum Reprod.* 2012;27(6):1829-39.
7. Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod.* 2009;24(4):867-75.
8. La Marca A, Nelson SM, Sighinolfi G, Manno M, Baraldi E, Roli L, et al. Anti-Müllerian hormone-based prediction model for a live birth in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2011;22(4):341-9.
9. Yates AP, Rustamov O, Roberts SA, Lim HY, 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(9):2353-62.

10. Romão GS, Navarro PA, Ferriani RA, Dib LA, Rodrigues J, Bortolheiro MA. [Serum anti-Müllerian hormone to predict ovarian response in assisted reproduction cycles]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2012;34(12):575-81. [português].
11. La Marca A, Stabile G, Arsenio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3103-7.
12. Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod*. 2005;20(4):923-7.
13. Hagen CP, Aksglaede L, Sørensen K, Main KM, Boas M, Cleemann L, et al. Serum levels of anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(11):5003-10.
14. van Rooij IA, Tonkelaar Id, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, et al. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause*. 2004;11(6 Pt 1):601-6.
15. Nelson SM, Messow MC, Wallace AM, Fleming R, McConnachie A. Nomogram for the decline in serum antimüllerian hormone: a population study of 9,601 infertility patients. *Fertil Steril*. 2011;95(2):736-41.e1-3.
16. Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil Steril*. 2011;95(2):747-50.
17. Chang HJ, Han SH, Lee JR, Jee BC, Lee BI, Suh CS, et al. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels. *Fertil Steril*. 2010;94(1):343-9.
18. 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;20(2):280-5.
19. Lie Fong S, Laven JS, Hakvoort-Cammel FG, Schipper I, Visser JA, Themmen AP, et al. Assessment of ovarian reserve in adult childhood cancer survivors using anti-Müllerian hormone. *Hum Reprod*. 2009;24(4):982-90.
20. Bath LE, Wallace WH, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Müllerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Hum Reprod*. 2003;18(11):2368-74.
21. Lutchman Singh K, Muttukrishna S, Stein RC, McGarrigle HH, Patel A, Parikh B, et al. Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer. *Br J Cancer*. 2007;96(12):1808-16.
22. Gosden RG, Telfer E, Faddy MJ, Brook DJ. Ovarian cyclicity and follicular recruitment in unilaterally ovariectomized mice. *J Reprod Fertil*. 1989;87(1):257-64.
23. Anders C, Marcom PK, Peterson B, Gu L, Unruhe S, Welch R, et al. A pilot study of predictive markers of chemotherapy-related amenorrhea among premenopausal women with early stage breast cancer. *Cancer Invest*. 2008;26(3):286-95.
24. Rosendahl M, Andersen CY, Ernst E, Westergaard LG, Rasmussen PE, Loft A, et al. Ovarian function after removal of an entire ovary for cryopreservation of pieces of cortex prior to gonadotoxic treatment: a follow-up study. *Hum Reprod*. 2008;23(11):2475-83.
25. Yu B, Douglas N, Ferin MJ, Nakhuda GS, Crew K, Lobo RA, et al. Changes in markers of ovarian reserve and endocrine function in young women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2010;116(9):2099-105.
26. Anderson RA, Cameron DA. Pretreatment serum anti-müllerian hormone predicts long-term ovarian function and bone mass after chemotherapy for early breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(5):1336-43.
27. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(1):318-23.
28. Li HW, Wong CY, Yeung WS, Ho PC, Ng EH. Serum anti-müllerian hormone level is not altered in women using hormonal contraceptives. *Contraception*. 2011;83(6):582-5.
29. van den Berg MH, van Dulmen-den Broeder E, Overbeek A, Twisk JW, Schats R, van Leeuwen FE, et al. Comparison of ovarian function markers in users of hormonal contraceptives during the hormone-free interval and subsequent natural early follicular phases. *Hum Reprod*. 2010;25(6):1520-7.
30. Anderson RA, Themmen AP, Al-Qahtani A, Groome NP, Cameron DA. The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer. *Hum Reprod*. 2006;21(10):2583-92.
31. Nelson SM, Stewart F, Fleming R, Freeman DJ. Longitudinal assessment of antimüllerian hormone during pregnancy-relationship with maternal adiposity, insulin, and adiponectin. *Fertil Steril*. 2010;93(4):1356-8.
32. 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(11):3123-9.
33. Sowers MR, Eyvazzadeh AD, McConnell D, Yosef M, Jannausch ML, Zhang D, et al. Anti-müllerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(9):3478-83.
34. Broer SL, Eijkemans MJ, Scheffer GJ, van Rooij IA, de Vet A, Themmen AP, et al. Anti-müllerian hormone predicts menopause: a long-term follow-up study in normoovulatory women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(8):2532-9.
35. Kok HS, van Asselt KM, van der Schouw YT, Peeters PH, Wijmenga C. Genetic studies to identify genes underlying menopausal age. *Hum Reprod Update*. 2005;11(5):483-93.