

Biomarkers of Ovarian Reserve

Dr. Sahar Taher Hassan^{*}
Dr. Basel Mohammad Mohammad^{**}
Ali Iskandar Antakli^{***}

(Received 17 / 6 / 2023. Accepted 1 / 8 / 2023)

□ ABSTRACT □

The primary function of the female ovary is the production of a mature and viable oocyte capable of fertilization and subsequent embryo development and implantation. At birth, the ovary contains a definite number of oocytes available for folliculogenesis. This definite number of available oocytes is termed “the ovarian reserve”. The determination of ovarian reserve is important in the assessment and treatment of infertility. As the ovary ages, the ovarian reserve will decline. Infertility affects approximately 15%–20% of reproductive aged couples. The most commonly used biomarker assay to assess ovarian reserve is the measurement of follicle stimulating hormone (FSH) on day 3 of the menstrual cycle. However, antimüllerian hormone and inhibin-B are other biomarkers of ovarian reserve that are gaining in popularity since they provide direct determination of ovarian status, whereas day 3 FSH is an indirect measurement. This review examines the physical tools and the hormone biomarkers used to evaluate ovarian reserve.

Keywords: ovarian reserve, FSH, inhibin-B, AMH

Copyright



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

^{*}Professor - Faculty of Human Medicine - Tishreen University - Lattakia - Syria

^{**}Associate Professor - Faculty of Human Medicine - Tishreen University - Lattakia – Syria

^{***}PhD student - Faculty of Human Medicine - Tishreen University - Lattakia – Syria.
aantakli@yahoo.com

المشعرات الحيوية لمخزون المبيض

د. سحر ظاهر حسن*

د. باسل محمد محمد**

علي اسكندر انطكلي***

(تاريخ الإبداع 17 / 6 / 2023. قبل للنشر في 1 / 8 / 2023)

□ ملخص □

تتمثل الوظيفة الأساسية للمبيض الأنثوي في إنتاج بويضة ناضجة وقابلة للحياة قادرة على الإخصاب وتطور الجنين اللاحق وتغشيشه. عند الولادة يحتوي المبيض على عدد محدود من البويضات المتاحة لتكوين الجريبات. هذا العدد المحدود من البويضات المتاحة يسمى "مخزون المبيض". إن تحديد مخزون المبيض مهم في تقييم وعلاج العقم. مع تقدم عمر المبيض سينخفض مخزون المبيض. يؤثر العقم على ما يقرب من 15% - 20% من الأزواج في سن الإنجاب. المقايسة الحيوية الأكثر شيوعاً لتقييم مخزون المبيض هو قياس الهرمون المنبه للجريبات في اليوم الثالث للدورة. تعتبر المقايسات الحيوية للهرمون المضاد لمولر و الانهيبين-ب من المعايير التي تكتسب شعبية حيث أنها تزود تحديداً مباشر لحالة المبيض بينما يعتبر عيار الهرمون الحاث للجريبات في اليوم الثالث قياساً غير مباشر. تفحص هذه المراجعة الأدوات الفيزيائية والمؤشرات الحيوية للهرمونات المستخدمة لتقييم مخزون المبيض.



حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص

CC BY-NC-SA 04

* أستاذ - كلية الطب البشري -جامعة تشرين - اللاذقية- سورية

**أستاذ مساعد - كلية الطب البشري -جامعة تشرين - اللاذقية- سورية

***طالب دكتوراه - كلية الطب البشري -جامعة تشرين - اللاذقية- سورية aantakli@yahoo.com

مقدمة:

تتمثل الوظيفة الأساسية للمبيض الأنثوي في إنتاج بويضة ناضجة وقابلة للحياة قادرة على الإخصاب وتطور الجنين اللاحق وتغشيشه. عند الولادة، يحتوي المبيض على عدد محدود من البويضات لتكوين الجريبات يسمى هذا العدد المحدود من البويضات المتاحة "مخزون المبيض". إن تحديد مخزون المبيض مهم في تقييم وعلاج العقم. مع تقدم عمر المبيض سينخفض مخزون المبيض. يشير مخزون المبيض إلى عدد ونوعية البويضات المتاحة في أي عمر لإنتاج بويضات سائدة في وقت متأخر من المرحلة الجرابية من الدورة الشهرية. من خلال تقدير مخزون المبيض يمكن تقييم التنبؤ بالعمر الإنجابي المتبقي بالإضافة إلى النجاح المحتمل لتقنيات الإنجاب المساعدة (1). لا يقيس أي من اختبارات مخزون المبيض بشكل مباشر العدد الإجمالي للبويضات الفعلية. بدلاً من ذلك يفترض أن عدد البويضات القابلة للتجنيد والنامية (ما قبل الغارية والغارية) يرتبط ارتباطاً مباشراً بمجموع البويضات. خلال حياة الجنين يتم تزويد المبيضين بمخزون كامل من الجريبات (البويضات المحاطة بالخلايا الحبيبية المبيضية) التي تخدم الحياة الإنجابية للمرأة. نظراً لأن عدد البويضات عالية الجودة المتاحة للتجنيد أثناء تكون الجريبات يتغير بشكل ملحوظ خلال حياة المرأة، فإن اتجاه اختبارات التقييم الفيزيائي لتقدير المجموعة الإجمالية للبويضات "الصالحة للحياة" بشكل غير دقيق. ستنتظر هذه المراجعة في الأدوات المادية المستخدمة لتحديد احتياطي المبيض. يؤثر العقم على ما يقرب من 15% - 20% من الأزواج في سن الإنجاب. اختبار العلامات الحيوية الأكثر استخداماً لتقييم احتياطي المبيض هو قياس هرمون تحفيز الجريب في اليوم الثالث FSH يحدد اختبار الدم هذا مستوى هرمون FSH في اليوم الثالث من الدورة الشهرية. يوم الدورة 3 هو يوم الاختبار المفضل بسبب المستوى المنخفض المتوقع من الاستراديول والذي بدوره يؤثر على مستويات FSH من خلال التحكم في دارة التقييم الراجح السلبي. لذلك من المتوقع أن تكون مستويات FSH في اليوم الثالث منخفضة، حيث يشير مستوى FSH أعلى من المعتاد في اليوم الثالث إلى انخفاض احتياطي المبيض. عادة يتم قياس FSH و estradiol في اليوم الثالث من الطمث ومع ذلك تكتسب اختبارات الدم الأخرى (الهرمون المضاد للمولر، وإنهيبين-ب) شعبية لأنها توفر تحديداً مباشراً أكثر لحالة المبيض. في حين أن FSH و estradiol هما قياسات غير مباشرة في اليوم الثالث من الطمث. ستنتظر هذه المراجعة في الهرمونات المذكورة أعلاه باعتبارها مؤشرات حيوية لاحتياطي المبيض.

لمحة عامة عن طب الغدد الصماء التناسلية:

من منطقة ما تحت المهاد يعمل الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية GnRH على الغدة النخامية الأمامية لإنتاج كل من هرمون FSH والهرمون اللوتيني LH اللذين يستهدف كلاهما المبيض عند الإناث. FSH هو مسؤول عن التوظيف الجريبي ونموه وتحويل هرمون الاستروجين (غالباً بيتا- استراديول) من الأندروجينات أثناء تكون الجريبات. الإستروجينات هي الهرمونات الأولية التي تقدم ردود فعل سلبية إلى منطقة ما تحت المهاد والغدة النخامية الأمامية لتنشيط إفراز FSH و LH. الخلايا الحبيبية هي الخلايا المستهدفة داخل المبيض لنشاط FSH. LH مسؤول عن النضج النهائي للجريب والبويضات، والإباضة اللاحقة، وتشكيل الجسم الأصفر. أثناء تكوين الجريبات يعمل الهرمون اللوتيني على الخلايا القرابية المبيضية لإنتاج الأندروجينات. بعد الإباضة سيعزز LH إفراز هرمون الاستروجين والبروجسترون بواسطة الجسم الأصفر. بالإضافة إلى الهرمونات الستيرويدية ينتج المبيض عن طريق الخلايا الحبيبية أيضاً عدداً من هرمونات الببتيدية. قد تشمل هرمونات الببتيدات هذه ريلاكسين وإنهيبين أ وإنهيبين ب وأكتيفين

وفوليسانتين وهرمون مضاد للمولر AMH. تشمل إجراءات الأكتيفين نكاثر الخلايا الحبيبية، وتنظيم تعبير مستقبلات FSH و LH، وتعزيز نشاط الأروماتاز والإنتاج اللاحق للإسترايول، وقمع إنتاج الأندروجين وزيادة إنتاج الإنهيبينات والفوليسانتين، وتعزيز الكفاءة التنموية للبيوضات. يتمثل الإجراء الأساسي لـ follistatin في الارتباط بـ Activin وتحييده. يتكون Inhibin من سلسلتين alpha و beta مرتبطة ببعضها البعض. يتكون A Inhibin من الوحدة الفرعية alpha و A beta يتكون B Inhibin من الوحدة الفرعية ألفا وبيتا. فقط الجزئيات التي تحتوي على كل من الوحدات الفرعية ألفا وبيتا، نشطة بيولوجياً، على الرغم من وجود أشكال الوحدة الفرعية الحرة في الدورة الدموية. تفرز الخلايا الحبيبية المبيضية الإنهيبينات عند الإناث وعن طريق خلايا سيرتولي في الخصية لدى الذكور. يتم إنتاج كل من الإنهيبين A و B Inhibin لدى الإناث، ولكن عند الذكور، يعتبر الإنزيم B هو الإنزيم المنتشر الرئيسي وكلاهما يقع إفراز FSH من الغدة النخامية. خلال الدورة الشهرية وأوائل الحمل يتم إنتاج الإنزيم A بواسطة الجسم الأصفر. في بداية الدورة الشهرية خلال المرحلة الجرابية المبكرة يتم الكشف عن مستويات منخفضة جداً من الإنزيم أ. مستويات الإنهيبين تزيد بشكل كبير في المرحلة الجرابية المتأخرة وتصل إلى الذروة في المرحلة اللوتئينية الوسطى. يبدو أن الدور الأساسي للإنهيبين B يكون في تنظيم تكون الجريبات من خلال تلقيح راجع سلبي على إنتاج FSH تزداد مستويات الإنهيبين B بشكل كبير أثناء تكون الجريبات ويتم تعظيمها قبل الإباضة مباشرة. يتم إنتاج هرمون AMH بواسطة خلايا سيرتولي في الخصية في الذكور وبشكل حصري عن طريق الخلايا الحبيبية المبيضية في الجريبات ما قبل الغارية في الأنثى البالغة. أثناء التطور الجنيني عند الذكور يعد إفراز هرمون AMH من خلايا الخصية سيرتولي أمراً ضرورياً لتراجع قنوات مولر وبالتالي التطور الطبيعي للجهاز التناسلي الذكري. قنوات مولر هي البادئة للرحم وقتاتي فالوب والمهبل العلوي في الأنثى. في الذكور يبدأ إفراز خلايا سيرتولي لـ AMH خلال مرحلة التطور الجنيني ويستمر طوال الحياة و تنخفض المستويات بعد البلوغ. في الأنثى AMH غير قابل للكشف حتى بداية سن البلوغ. يتم إنتاج هرمون AMH في مجموعة واسعة من الجريبات من المراحل الأولية إلى المراحل الغارية المبكرة لتكوين الجريبات. يتمثل دور هرمون AMH في تعديل تجنيد الجريب البدائي وتثبيط تجنيد الجريبات الدوري وذلك في المقام الأول عن طريق تثبيط عمل FSH على نمو الجريب وانتقاه. يتم الحفاظ على مستويات AMH عند مستويات منخفضة نسبياً حتى سن انقطاع الطمث وفي ذلك الوقت ينخفض هرمون AMH تدريجياً مرة أخرى إلى مستويات لا يمكن اكتشافها.

مخزون المبيض والفحص البدني:

احتياطي المبيض ينخفض أثناء عملية الشيخوخة على الرغم من أن الانخفاض يصاحب الشيخوخة الزمنية يبدو أن التسارع في هذه العملية يحدث في مجموعة فرعية من النساء في فترة ما قبل انقطاع الطمث. يتضح هذا من خلال الاستجابات دون المستوى الأمثل لمحاولات تحفيز المبيض كما يظهر في نسبة من النساء الأصغر سناً اللائي يخضعن لعلاجات من العقم (2) وانتقالهن بعمر أصغر إلى سن الضهي.

تقييم مخزون المبيض عن طريق عدد الجريبات الغارية بواسطة الأمواج فوق الصوتية:

يعرف عدد الجريبات الغارية AFC على أنه عدد الجريبات التي يقل قطرها عن 10 مم المشاهدة بواسطة الايكو المهبل في المرحلة الجريبية البكرة. لقد ثبت أن AFC هو مؤشر على عدد البيوضات المسترجعة في بروتوكولات

فرط تحفيز المبيض الخاضعة للرقابة (27) ومعدلات الإلغاء في التلقيح الاصطناعي (11,27) وللتنبؤ بالإسقاطات في حالات الحمل بأطفال الأنابيب (28).

المؤشرات الحيوية: اختبار الغدد الصماء:

من المستحسن استخدام المؤشرات الحيوية لتقييم الخصوبة بسبب الحد الأدنى من التدخل الجراحي لجمع الدم مقارنة بالإجراءات الأخرى وانعكاس الوظيفة الداخلية وسرعة التحليل والتكلفة المعقولة. لم يتم بعد تحديد المرقم الحيوي المثالي لاحتياطي المبيض بوضوح. ومع ذلك فإن العديد من المؤشرات الحيوية تقدم نظرة ثاقبة فيما يتعلق بحالة احتياطي المبيض. مع تنفيذ طرق اختبار أفضل واكتشاف مؤشرات حيوية جديدة، ستتوفر المزيد من الخيارات. هناك عدد قليل من المؤشرات الحيوية المعترف بها حديثاً تبدو واعدة للغاية بما في ذلك AMH و B-Inhibin.

القياسات غير المباشرة:

عيار ال FSH في اليوم الثالث من الطمث: يمثل المستوى "الأساسي" أو المستوى غير المكبوت من FSH من خلال التغذية المرتدة من المبيض إلى الغدة النخامية (45). يُنسب إلى FSH كونه علامة بيولوجية لاحتياطي المبيض منذ أواخر الثمانينيات، حيث أنه يوفر لمحة عن مدى جودة عمل محور الغدة النخامية والغدد التناسلية (45). مع تقدم النساء في العمر تزداد كمية هرمون FSH المفرز بسبب عدم استجابة المبيض (46). مع ارتفاع مستويات FSH في اليوم الثالث فهذا مؤشر على تناقص احتياطي المبيض. في الواقع من المهم ملاحظة التقلبات بين دورات اليوم الثالث من مستويات FSH لأنها قد تكون انعكاساً لانخفاض احتياطي المبيض (46). قد لا تكون مراقبة مستويات FSH في اليوم الثالث هي الخيار الأفضل لمراقبة احتياطي المبيض ولكنها أكثر العلامات الحيوية المعروفة على نطاق واسع. يتوفر الاختبار على منصات آلية متعددة وبالتالي فهو سريع نسبياً وغير مكلف وقابل للتكرار. بالإضافة إلى ذلك يعتبر ارتفاع مستوى FSH في اليوم الثالث مؤشراً متأخراً لانخفاض ملحوظ في إمكانات الخصوبة (47). قد يكون من الأفضل البحث عن مؤشر مبكر لانخفاض نسبة الأرجحية و / أو نقص الخصوبة المحتملة.

استراديول: تم تقييم استراديول في اليوم الثالث من أجل اختبار OR أيضاً ولكن لم يتم الاعتماد عليه على نطاق واسع. استراديول هو نتاج الخلايا الحبيبية ويمكن اعتباره انعكاساً للنشاط الجراحي. كما هو الحال مع FSH يتوفر اختبار الاستراديول أيضاً على منصات آلية متعددة وبالتالي فهو سريع نسبياً وغير مكلف وقابل للتكرار. ومع ذلك لا يتم استخدامه بمفرده كمؤشر حيوي لـ OR. يشير ارتفاع مستوى الاستراديول في وقت مبكر من الدورة الشهرية إلى أن تطور الجريبات في مرحلة متقدمة غير مناسب لليوم الثالث (46). ومع ذلك يمكن زيادة مستويات استراديول لسببين مختلفين للغاية. يمكن أن ترتفع مستويات استراديول بسبب حدوث تكوّن الجريبات السريع. بدلاً من ذلك يمكن أن يكون ارتفاع مستوى الاستراديول بسبب زيادة نسبة الأرجحية كما هو الحال في النساء المصابات بمتلازمة المبيض المتعدد الكيسات (PCOS)، حيث يتم إنتاج كمية صغيرة من الاستراديول بواسطة عدد كبير من الجريبات الغارية (48).

القياسات المباشرة:

الانهيبي ب: هرمون بيتيدي يفرز من الجريبات الغارية الصغيرة (46) ويثبط تحرر FSH بشكل انتقائي. مع تراجع عدد الجريبات بسبب تقدم العمر تتراجع مستويات الانهيبي ب (50).

AMH: مثل الإنهيبي ب فإن الهرمون المضاد للمولر هو أيضاً عضو في عائلة TGF الفائقة. يتم إنتاج هرمون AMH بواسطة الخلايا الحبيبية للجريبات قبل الغارية. يتم تعديل النمو الجريبي بواسطة AMH والذي يمنع تجنيد

الجريبات البدائية عن طريق تعديل حساسية FSH لتلك الجريبات (51,52). يعتبر هرمون AMH انعكاساً للجريب غير المعتمد على FSH. عندما ينضج الجريب يختفي إنتاج هرمون AMH مما يسمح للجريب بإكمال عملية التطور خلال مراحل النمو المعتمدة على FSH (52). هرمون AMH يُفرز دون الاعتماد على هرمونات أخرى ولا سيما الجونادوتروبين وأن هرمون AMH يتم التعبير عنه بمستوى ثابت بغض النظر عن يوم الدورة يجعل AMH جذاباً للغاية كمقياس مباشر (53,54,55).

هناك حاجة إلى مزيد من البحث للتعرف على جميع الأدوار التي يلعبها AMH. سيكون من المهم التعرف على الآليات التي تتحكم في إنتاج هرمون AMH داخل الخلايا الحبيبية لفهم ما إذا كان هرمون AMH يعكس حقاً جودة الجريبات (54).

خلاصة:

- كل الاختبارات لها بعض الفوائد. سيكون هناك دائماً مجموعة من العلامات المستخدمة للحصول على أفضل إجابة. أفضل مرشح لمؤشر حيوي واحد هو AMH.
- يمكننا أن نوصي بالحاجة إلى دراسة فاصلة مرجعية باستخدام السكان "العاديين" بالإضافة إلى السكان المصابين بالعقم. يجب تقسيم الفترات المرجعية لكل مجموعة سكانية حسب العمر ومؤشر كتلة الجسم.
- التركيز على AMH لتقييم احتياطي المبيض.

References

1. Baird, D.T., Collins, J., Egozcue, J., Evers, L.H., Gianaroli, L., Leridon, H., Sunde, A., Templeton, A., Van Steirteghem, A., Cohen, J. et al. 2005. Fertility and ageing. *Hum. Reprod. Update*, 11:261–76.
2. de Boer, E.J., den Tonkelaar, I., te Velde, E.R., Burger, C.W., Klip, H. and van Leeuwen, F.E. 2002. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. *Fertil.*
3. *Steril.*, 77:978–85.
4. de Boer, E.J., den Tonkelaar, I., te Velde, E.R., Burger, C.W. and van Leeuwen, F.E. 2003. Increased risk of early menopausal transition and natural menopause after poor response at first IVF treatment. *Hum. Reprod.*, 18:1544–52.
5. Lawson, R., El-Toukhy, T., Kassab, A., Taylor, A., Braude, P., Parsons, J. and Seed, P. 2003. Poor response to ovulation induction is a stronger predictor of early menopause than elevated basal FSH: a life table analysis. *Hum. Reprod.*, 18:527–33.
6. Bukulmez, O. and Arici, A. 2004. Assessment of ovarian reserve. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 16:231–7.
7. Chang, M.Y., Chiang, C.H., Hsieh, T.T., Soong, Y.K. and Hsu, K.H. 1998. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil. Steril.*, 69:505–10.
8. Frattarelli, J.L., Levi, A.J., Miller, B.T. and Segars, J.H. 2003. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. *Fertil. Steril.*, 80:350–5.

9. Bancsi, L.F., Broekmans, F.J., Eijkemans, M.J., de Jong, F.H., Habbema, J.D. and te Velde, E.R. 2002. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil. Steril.*, 77:328–36.
10. Vladimirov, I.K., Tacheva, D.M., Kalinov, K.B., Ivanova, A.V. and Blagoeva, V.D. 2005. Prognostic value of some ovarian reserve tests in poor responders. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 272:74–9.
11. Lass, A., Skull, J., McVeigh, E., Margara, R. and Winston, R.M. 1997. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response. *Hum. Reprod.*, 12:294–7.
12. Frattarelli, J.L., Lauria-Costab, D.F., Miller, B.T., Bergh, P.A. and Scott, R.T. 2000. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil. Steril.*, 74:512–7.
13. Ruess, M.L., Kline, J., Santos, R., Levin, B. and Timor-Tritsch, I. 1996. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 174:624–7.
14. Engmann, L., Sladkevicius, P., Agrawal, R., Bekir, J.S., Campbell, S. and Tan, S.L. 1999. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. *Fertil. Steril.*, 71:22–9.
15. Zaidi, J., Barber, J., Kyei-Mensah, A., Bekir, J., Campbell, S. and Tan, S.L. 1996. Relationship of ovarian stromal blood flow at the baseline ultrasound scan to subsequent follicular response in an in vitro fertilization program. *Obstet. Gynecol.*, 88:779–84.
16. Flaws, J.A., Langenberg, P., Babus, J.K., Hirshfeld, A.N. and Sharara, F.I. 2001. Ovarian volume and antral follicle counts as indicators of menopausal status. *Menopause*, 8:175–80.
17. Erdem, M., Erdem, A., Biberoglu, K. and Arslan, M. 2003. Age-related changes in ovarian volume, antral follicle counts and basal follicle stimulating hormone levels: comparison between fertile and infertile women. *Gynecol. Endocrinol.*, 17:199–205.
- te Velde, E.R. and Pearson, P.L. 2002. The variability of female reproductive ageing. *Hum. Reprod. Update*, 8:141–54.
- Giacobbe, M., Mendes Pinto-Neto, A., Simoes Costa-Paiva, L.H. and Martinez, E.Z. 2004. The usefulness of ovarian volume, antral follicle count and age as predictors of menopausal status. *Climacteric*, 7:255–60.
18. Elter, K., Sismanoglu, A. and Durmusoglu, F. 2005. Intercycle variabilities of basal antral follicle count and ovarian volume in subfertile women and their relationship to reproductive aging: a prospective study. *Gynecol. Endocrinol.*, 20:137–43.
19. Sharara, F.I. and McClamrock, H.D. 1999. The effect of aging on ovarian volume measurements in infertile women. *Obstet. Gynecol.*, 94:57–60.
20. Syrop, C.H., Dawson, J.D., Husman, K.J., Sparks, A.E. and Van Voorhis, B.J. 1999. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. *Hum. Reprod.*, 14:1752–6.
21. *Reprod.*, 14:1752–6.
22. Bowen, S., Norian, J., Santoro, N. and Pal, L. 2007. Simple tools for assessment of ovarian reserve (OR): individual ovarian dimensions are reliable predictors of OR. *Fertil. Steril.*, 88:390–5.

23. Frattarelli, J.L., Levi, A.J. and Miller, B.T. 2002. A prospective novel method of determining ovarian size during in vitro fertilization cycles. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 19:39–41.
24. Kupesic, S., Kurjak, A., Bjelos, D. and Vujisic, S. 2003. Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age. *Fertil. Steril.*, 79:190–7.
25. Syrop, C.H., Willhoite, A. and Van Voorhis, B.J. 1995. Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction. *Fertil. Steril.*, 64:1167–71.
26. Christensen, J.T., Boldsen, J. and Westergaard, J.G. 1997. Ovarian volume in gynecologically healthy women using no contraception, or using IUD or oral contraception. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand*, 76:784–9.
27. Tepper, R., Zalel, Y., Markov, S., Cohen, I. and Beyth, Y. 1995. Ovarian volume in postmenopausal women—suggestions to an ovarian size nomogram for menopausal age. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand*, 74:208–11.
28. Tomas, C., Nuojua-Huttunen, S. and Martikainen, H. 1997. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 12:220–3.
29. Elter, K., Kavak, Z.N., Gokaslan, H. and Pekin, T. 2005. Antral follicle assessment after down-regulation may be a useful tool for predicting pregnancy loss in in vitro fertilization pregnancies. *Gynecol. Endocrinol.*, 21:33–7.
30. Tan, S.L., Child, T.J. and Gulekli, B. 2002. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated ovaries: predicting the number of immature oocytes retrieved by early follicular phase ultrasonography. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 186:684–9.
31. Chow, G.E., Criniti, A.R. and Soules, M.R. 2004. Antral follicle count and serum follicle-stimulating hormone levels to assess functional ovarian age. *Obstet. Gynecol.*, 104:801–4.
32. Hendriks, D.J., Kwee, J., Mol, B.W., te Velde, E.R. and Broekmans, F.J. 2007. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil. Steril.*, 87:764–75.
33. Kwee, J., Elting, M.E., Schats, R., McDonnell, J. and Lambalk, C.B. 2007. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 5:9.
34. Muttukrishna, S., McGarrigle, H., Wakim, R., Khadum, I., Ranieri, D.M. and Serhal, P. 2005. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG*, 112:1384–90.
35. Nardo, L.G., Christodoulou, D., Gould, D., Roberts, S.A., Fitzgerald, C.T. and Laing, I. 2007. Anti-Mullerian hormone levels and antral follicle count in women enrolled in in vitro fertilization cycles: Relationship to lifestyle factors, chronological age and reproductive history. *Gynecol. Endocrinol.*, 1–8.
36. Scheffer, G.J., Broekmans, F.J., Looman, C.W., Blankenstein, M., Fauser, B.C., teJong, F.H. and teVelde, E.R. 2003. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum. Reprod.*, 18:700–6.
37. Ng, E.H., Yeung, W.S., Fong, D.Y. and Ho, P.C. 2003. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. *Hum. Reprod.*, 18:2169–74.

38. Bancsi, L.F., Broekmans, F.J., Looman, C.W., Habbema, J.D. and te Velde, E.R. 2004. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 81:35–41.
39. Broekmans, F.J., Faddy, M.J., Scheffer, G. and te Velde, E.R. 2004. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. *Menopause*, 11:607–14.
40. Bouchard, G., Roy, R., Casgrain, B. and Hubert, M. 1989. Population files and database management: the BALSAC database and the INGRES/ INGRID system. *Hist. Mes.*, 4:39–57.
41. Riboli, E., Hunt, K.J., Slimani, N., Ferrari, P., Norat, T., Fahey, M., Charrondiere, U.R., Hemon, B., Casagrande, C., Vignat, J. et al. 2002. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutr.*, 5:1113–24.
42. Haadsma, M.L., Bukman, A., Groen, H., Roeloffzen, E.M., Groenewoud, E.R., Heineman, M.J. and Hoek, A. 2007. The number of small antral follicles (2–6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum. Reprod.*, 22:1925–31.
43. Hendriks, D.J., Mol, B.W., Bancsi, L.F., Te Velde, E.R. and Broekmans, F.J. 2005. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil. Steril.*, 83:291–301.
44. Merce, L.T., Gomez, B., Engels, V., Bau, S. and Bajo, J.M. 2005. Intraobserver and interobserver reproducibility of ovarian volume, antral follicle count, and vascularity indices obtained with transvaginal 3-dimensional ultrasonography, power Doppler angiography, and the virtual organ computer-aided analysis imaging program. *J. Ultrasound Med.*, 24:1279–87.
45. Scheffer, G.J., Broekmans, F.J., Bancsi, L.F., Habbema, J.D., Looman, C.W. and Te Velde, E.R. 2002. Quantitative transvaginal two- and three-dimensional sonography of the ovaries: reproducibility of antral follicle counts. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 20:270–5.
46. Barnhart, K. and Osheroff, J. 1998. Follicle stimulating hormone as a predictor of fertility. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 10:227–32.
47. Perloe, M., Levy, D.P. and Sills, E.S. 2000. Strategies for ascertaining ovarian reserve among women suspected of subfertility. *Int. J. Fertil. Womens Med.*, 45:215–24.
48. Sharara, F.I., Scott, R.T. and Seifer, D.B. 1998. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 179:804–12.
49. Toner, J.P. 2003. Ovarian reserve, female age and the chance for successful pregnancy. *Minerva Ginecol.*, 55:399–406.
50. Mukherjee, T., Copperman, A.B., Lapinski, R., Sandler, B., Bustillo, M. and Grunfeld, L. 1996. An elevated day three follicle-stimulating hormone: luteinizing hormone ratio (FSH:LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil. Steril.*, 65:588–93.
51. Broekmans, F.J., Scheffer, G.J., Bancsi, L.F., Dorland, M., Blankenstein, M.A. and te Velde, E.R. 1998. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women. *Maturitas*, 30:205–14.
52. La Marca, A., Stabile, G., Arsenio, A.C. and Volpe, A. 2006. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum.*

54. *Reprod.*, 21:3103–7.
55. Visser, J.A., de Jong, F.H., Laven, J.S. and Themmen, A.P. 2006. AntiMullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*, 131:1–9.
56. La Marca, A. and Volpe, A. 2006. Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool?
57. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 64:603–10.
58. Feyereisen, E., Mendez Lozano, D.H., Taieb, J., Hesters, L., Frydman, R. and Fanchin, R. 2006. Anti-Mullerian hormone: clinical insights into a promising biomarker of ovarian follicular status. *Reprod. Biomed Online*, 12:695–703.
59. Hehenkamp, W.J., Looman, C.W., Themmen, A.P., de Jong, F.H., Te Velde, E.R. and Broekmans, F.J. 2006. Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91:4057–63.
60. La Marca, A., Giulini, S., Tirelli, A., Bertucci, E., Marsella, T., Xella, S. and Volpe, A. 2007. Anti-Mullerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum. Reprod.*, 22:766–71.
61. Ebner, T., Sommergruber, M., Moser, M., Shebl, O., Schreier-Lechner, E. and Tews, G. 2006. Basal level of anti-Mullerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum. Reprod.*, 21:2022–6.
62. van Rooij, I.A., Broekmans, F.J., Scheffer, G.J., Looman, C.W., Habbema, J.D., de Jong, F.H., Fauser, B.J., Themmen, A.P. and te Velde, E.R. 2005. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil. Steril.*, 83:979–87.
63. Hendriks, D.J., Broekmans, F.J., Bancsi, L.F., de Jong, F.H., Looman, C.W. and Te Velde, E.R. 2005. Repeated clomiphene citrate challenge testing in the prediction of outcome in IVF: a comparison with basal markers for ovarian reserve. *Hum. Reprod.*, 20:163–9.