

Praktyczne wykorzystanie wiedzy o hormonie antymüllerowskim

Andrzej Max

Francuski endokrynolog, profesor Alfred Jost (1916–1991) w połowie XX w. podjął badania nad zjawiskami różnicowania się płci. Jednym z odkryć stało się ujawnienie u płodów męskich substancji, nazwanej pierwotnie „Müllerian inhibitor”, biorącej udział w rozwoju osobnika w kierunku męskim (1). Hormon antymüllerowski (anti-Müllerian hormone – AMH lub Müllerian inhibiting substance – MIS) jest glikoproteiną należącą do nadrodziny transformujących czynników wzrostu beta (TGF- β), kodowaną u ludzi przez gen zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 19 (2), a u psa w chromosomie 20 (3).

Hormon ten wykazuje swoje biologiczne działanie za pośrednictwem swoistego receptora typu II (AMHR2), po związaniu z którym, przyłączając następnie receptor typu I (AMHR1), inicjuje docelową ścieżkę sygnałową (cyt. za 4).

Także współcześnie AMH kojarzy się przede wszystkim jako czynnik odgrywający wiodącą rolę w kształtowaniu się płci płodu. Jest on jednak także produkowany u osobników dojrzewających i dorosłych. Uzyskał znaczenie diagnostyczne w medycynie człowieka, głównie w ginekologii, andrologii i onkologii. Próbuje się również poznać jego rolę i wykorzystać

ją w weterynarii. W artykule starano się przybliżyć aktualny stan wiedzy i praktyki w tym zakresie.

Rola AMH w embriogenezie

Jak wiadomo, determinacja płci u ssaków bierze swój początek w zapłodnieniu, podczas którego dochodzi do fuzji gamety żeńskiej – oocytu, wyposażonego w chromosom płciowy X, z gametą męską – plemnikiem, wyposażonym albo w chromosom płciowy X albo chromosom płciowy Y. W drugim przypadku kształtuje się osobnik męski o zestawie chromosomów płciowych XY. Nośnikiem płci męskiej jest zlokalizowany w chromosomie Y gen *Sry*, warunkujący uruchomienie szlaku różnicowania w kierunku męskim. Pierwotne gonady stają się jądrami. Komórki podporowe (Sertolego) płodowego jądra wydzielają AMH, powodujący zanikanie przewodów przyszłoczerwonych (dawniej Müllera), które

u osobników żeńskich dają początek macicy, jajowodom i dogłowej części pochwy. Wydzielanie AMH i początek zaniku wspomnianych przewodów zachodzi w płodach psich wkrótce po zapoczątkowaniu różnicowania się jąder, czyli ok. 35–36 dnia ciąży. Jednocześnie AMH wspiera rozwój struktur wywodzących się z przewodów śródnerczowych (dawniej Wolfa), tzn. najądrzy i nasieniowodów oraz różnicowanie się w gonadach męskich komórek Leydiga, produkujących testosteron. Z kolei u płodów o kariotypie płciowym żeńskim (XX) brak jest ścieżki warunkowanej genem *Sry*, nie dochodzi więc do zaniku przewodów przyśródnerczowych, rozwijają się zatem żeńskie narządy płciowe, gonady pierwotne przekształcają się w jajniki, natomiast przewody śródnerczowe ulegają uwstecznieniu (5). Pod koniec ciąży u płodów żeńskich zauważalna jest ekspresja AMH, u ludzi od 36 tygodnia ciąży (2), będąca wynikiem aktywności komórek ziarnistych pęcherzyków jajnikowych, których pula kształtuje się w życiu płodowym i nie ulega zwiększeniu po porodzie.

Wydzielanie AMH u osobników rosnących i dojrzałych

U niemowląt płci żeńskiej stężenie AMH we krwi jest niewykrywalne bądź bardzo niskie (do kilku pmol/l), z kolei u dziewcząt w okresie przedpokwitaniowym następuje systematyczny wzrost stężenia hormonu, aby osiągnąć najwyższą wartość w wieku 15,8 roku i utrzymywać się na tym poziomie do wieku 25 lat. Potem następuje stopniowy spadek stężenia AMH wraz ze zmniejszaniem się rezerwy jajnikowej, czyli liczby pęcherzyków jajnikowych zdolnych do reprodukcji (6, 7). U kobiet pęcherzyki jajnikowe, a dokładniej ich komórki ziarniste, zaczynają wydzielać AMH od czasu rekrutacji (pobudzenia do rozwoju przez stymulację gonadotropinami), z największą intensywnością w stadium przedantralnym i wczesnym antralnym (do 4 mm), podczas gdy po osiągnięciu stadium dużego pęcherzyka antralnego wydzielanie AMH stopniowo spada (korelacja ujemna ze stężeniem estradiolu) aż do wartości niewykrywalnych (8). Wpływ na folikulogenezę przejawia się w hamowaniu rekrutacji kolejnych pęcherzyków w bieżącym cyklu, przez co AMH włącza się w proces sterowania czynnością jajników obok gonadotropin, aktywiny, inhibiny i estradiolu. Pomiar stężenia AMH we krwi są używane u ludzi jako wskaźnik czynności jajników i ich potencjalnej zdolności do rozrodu, a także w diagnostyce pewnych chorób, jak np. zespół policystycznych jajników lub niektóre guzy jajnika, takie jak ziarniszczak (*folliculoma*) lub jądrzak (*androblastoma*).

U osobników męskich źródłem hormonu antymüllerowskiego są komórki Sertolego jąder. AMH jest wydzielany w życiu płodowym i dziecięcym (u chłopców szczytowe wartości notuje się ok. 6 miesiąca życia), do uzyskania dojrzałości płciowej, przy czym jego poziom stopniowo spada wraz ze wzrostem wrażliwości komórek Sertolego na testosteron, czyli pojawieniem się w nich swoistych receptorów androgenowych. W wieku dojrzałym AMH jest wydzielany w większym stopniu egzokrynowo – do kanalików plemnikotwórczych, niż endokrynowo – w kierunku śródmiąszowym i do krwi, zatem jego stężenie jest wyższe w osoczu nasienia niż w surowicy krwi (7). Stężenie AMH bywa wykorzystywane w rozpoznawaniu zaburzeń męskiego dojrzewania płciowego, wad rozwojowych jąder oraz nowotworów.

Wykorzystanie pomiarów stężeń AMH u małych zwierząt

Podjęto badania mające na celu określenie praktycznej przydatności oznaczeń AMH u zwierząt w celu odróżnienia osobników kastrowanych od niekastrowanych, rozpoznawania zespołu pozostałości jajnika (ovarian remnant syndrome – ORS) i diagnostyki stanów patologicznych.

Ocena obecności i czynności gonad

Wykazano przydatność pojedynczego pomiaru stężenia AMH do odróżniania suk i kotek posiadających czynne gonady od wykastrowanych, przy użyciu ludzkiego testu diagnostycznego. Ponadto dokonano trafnego rozpoznania przypadków ORS (9). U dorosłych, niekastrowanych suk stwierdzono stężenie AMH w surowicy powyżej 0,5 ng/ml, natomiast u steryli-zowanych poniżej 0,02 ng/ml. W tym badaniu zmiany patologiczne jajników (torbiele i nowotwory) nie wykazywały związku ze stężeniem AMH (10). Także w innych obserwacjach stwierdzono istotny spadek stężenia AMH w wyniku gonadektomii (11, 12). W kolejnym badaniu wykazano, że średnie stężenie AMH u suk niekastrowanych wynosiło 4,26 ng/ml, będąc podobnym do tego u suk z ORS (4,40 ng/ml), podczas gdy u kastrowanych było ono istotnie niższe, a mianowicie 0,28 ng/ml. Autorzy wnioskuje o przydatności tego oznaczenia w diagnostyce obecności jajników (13).

Wykazano, że wielkość zwierzęcia i jego wiek mogą mieć wpływ na wynik badania. Stwierdzono mianowicie, że u suk olbrzymich notuje się niższe stężenia AMH niż u mniejszych. Poza tym stężenie hormonu spada wraz z wiekiem o 0,5 ng/ml rocznie. Ponadto zauważono, że w obrębie grup zwierząt posegregowanych pod względem

Practical use of the knowledge of anti-Müllerian hormone

Max A.

The aim of this article was to present the current knowledge on the role of anti-Müllerian hormone (AMH). Called also Müllerian-inhibiting hormone (MIH), it is a glycoprotein of transforming growth factor beta superfamily, which key role is in growth differentiation and folliculogenesis. Since the sixties of XX century, AMH is known as the factor conditioning an embryonic male development. This hormone is also active in pre-pubertal and adult mammals. In practice, its serum concentration has an important indicative value in estimating ovarian activity and ovarian reserve. In bitches, queens and mares, AMH serum concentration is used to estimate fertility potential and also to distinguish between intact or castrated animals as well as in the diagnostics of ovarian remnant syndrome. In cattle, this serum hormone level is useful for prediction of superovulatory response in embryo transfer procedures. In turn, in male animals it may be a pointer of developmental disorders such as cryptorchidism, persistent Müllerian duct syndrome, as well as Sertoli cells tumor.

Keywords: AMH, sex determination, ovary, ovarian remnant syndrome, testis.

wielkości, suk cechujące się wyższym stężeniem AMH miały liczniejsze mioty, co po przeliczeniu na każdy 1 ng/ml wzrostu stężenia dało wzrost o 0,3 szczenięcia w miocie. Autorzy sugerują, że można ten wskaźnik wykorzystać w programie hodowlanym (14).

Wysoką przydatność oznaczeń AMH stwierdzono u kotów obu płci. Mianowicie u samic i samców posiadających gonady mieściło się ono odpowiednio w granicach 1,3–19,0 ng/ml oraz 4,8–81,3 ng/ml, a u gonadektomizowanych samic i samców było niższe od 0,14 ng/ml. Wykazano 100% czułość i swoistość tego badania (15).

Wady genetyczne

Zespół przetrwałych przewodów przyśródnerczowych (persistent Müllerian duct syndrome – PMDS) jest wadą ograniczoną płcią, a polega na niedostatecznym działaniu AMH u osobników o kariotypie męskim, u których rozwijają się gonady męskie oraz macica i jajowody. Genetyczną podstawą tego zaburzenia rozwojowego u sznauerów miniaturowych jest autosomalna recesywna mutacja genu kodującego receptor hormonu antymüllerowskiego AMHR2. Badania genetyczne u 216 psów tej rasy wykazały 27% nosicieli wadliwego genotypu, dlatego też rekomenduje się badanie w tym kierunku w obrębie tej populacji (16).

Nowotwory

Nowotwory jąder są stosunkowo częste u psów. Nierzadko rozwijają się, zwłaszcza początkowo, bez widocznych objawów klinicznych. W innych przypadkach, szczególnie jako guz z komórek Sertolego (SCT) mogą powodować feminizację, przebarwienia skóry i wyłysienia, jako skutek wydzielania estradiolu przez komórki nowotworu. Jednak pomiary stężenia estradiolu wykazują duże zróżnicowanie indywidualne, poszukuje się zatem innych wskaźników diagnostycznych. Jednym z kandydatów stał się hormon antymüllerowski. Badania immunohistochemiczne usuniętych jąder z SCT wykazały ekspresję AMH, podobnie jak jądra od płodów i szczepiąt do 45 dnia życia, natomiast w preparatach z jąder zdrowych, dorosłych psów tej ekspresji nie stwierdzono (17). Dla klinicystów nie mniej ważna jest diagnostyka przedoperacyjna. W tym kierunku przeprowadzono porównanie stężeń AMH we krwi psów podzielonych na dwie grupy: 20 z wyczuwalnymi guzami jąder oraz 27 zdrowych (grupa kontrolna). U 26 zwierząt zdrowych stężenie AMH wynosiło <10 ng/ml, podczas gdy u sześciu psów z SCT było ono istotnie wyższe, przekraczało bowiem 22 ng/ml. U połowy zwierząt ze zmianami nienowotworowymi lub nowotworami innymi niż *sertolioma* stężenie AMH zawierało się w granicach 10–22 ng/ml (18). Znacznie podwyższone stężenie AMH w surowicy stwierdzono także u 6-letniego psa rasy welsh corgi pembroke z jednostronnym wnetrostwem i SCT. Po usunięciu zmienionej gonady stężenie AMH spadło (19).

Wykorzystanie pomiarów stężeń AMH u koni

AMH jako wskaźnik płodności klaczy i rezerwy jajnikowej

U samic podczas ich życia dochodzi do wyczerpywania się puli pęcherzyków jajnikowych, w które gonady zostały wyposażone podczas rozwoju płodowego. O ile u kobiet zanik aktywności jajników objawia się menopauzą, to u zwierząt nie jest to wyraźnie zaznaczone. Choć klacze bywają używane do rozrodu nieraz do późnego wieku, czasem ponad 30 lat, to jednak obserwuje się u nich symptomy reprodukcyjnego starzenia się, takie jak przedłużone okresy międzyowulacyjne, podwyższone stężenie FSH, przedłużone ruje, obniżona płodność i wreszcie ustanie cyklu rujowego. Jako że AMH jest ściśle powiązany z obecnością pęcherzyków jajnikowych, może być wykorzystany jako wskaźnik potencjału rozrodczego klaczy, podobnie jak u kobiet i innych gatunków zwierząt.

Zaobserwowano, że wraz z wiekiem wzrastała korelacja między stężeniem AMH a liczbą pęcherzyków antralnych w jajnikach klaczy. Wyznaczenie na tej podstawie poziomu rezerwy jajnikowej może być bardziej miarodajne niż wiek kalendarzowy (20). Ponadto można używać tego wskaźnika do wykrywania klaczy owarietomizowanych (21).

Rozpoznawanie wnetrostwa

U koni występuje biologiczny sezon rozrodczy związany z długim dniem. Ma on wyraźniejsze przełożenie na czynności rozrodcze klaczy, ale także u ogierów obserwuje się pewne różnice. Między innymi wykazano, że stężenie AMH jest wyższe w sezonie wiosenno-letnim niż jesienno-zimowym (22). Ponieważ u samców AMH jest produkowane wyłącznie w komórkach Sertolego, jego oznaczenie może być wykorzystane do rozróżniania normalnych ogierów, wałachów i wnetrów. U tych ostatnich stężenie hormonu w surowicy okazało się wyższe niż u ogierów z jądrami mosznowymi i wałachów (22). W innym badaniu średnie stężenie AMH we krwi normalnych, dojrzałych ogierów wyniosło średnio 13,3 ng/ml, u wnetrów jednostronnych (po usunięciu jądra mosznowego) 17,6 ng/ml, natomiast u wałachów było niewykrywalne. Wyciągnięto wniosek, że stężenie AMH we krwi może być użytecznym wskaźnikiem obecności jądra wnetrowskiego (23).

Nowotwory

Stwierdzono przydatność oznaczenia stężenia AMH do diagnostyki guza z komórek ziarnistych u klaczy, u których okazało się ono bardzo wysokie, wynosząc średnio 1901,4 ng/ml, podczas gdy u zdrowych zawierało się w granicach poniżej 1 ng/ml. Immunoznakowanie i ekspresję AMH i jego receptora stwierdzono badaniem immunohistochemicznym w tkankach guza (24). Czułość oznaczenia stężenia AMH w surowicy określono jako 98%, czyli istotnie wyższą niż oznaczenia inhibiny – 80%, testosteronu – 48% oraz inhibiny/testosteronu – 84% (25). U ogierów można używać tego wskaźnika w różnicowaniu histopatologicznym guza z komórek Sertolego oraz gonad obojnaczych (21, 26).

Wykorzystanie pomiarów stężeń AMH u bydła

Przewidywanie odpowiedzi superowulacyjnej

Bydło jest tym gatunkiem zwierząt, u którego techniki wspomaganego rozrodu (assisted reproductive technologies – ART) są najbardziej zaawansowane zarówno

w wymiarze poznawczym, jak i komercyjnym. Jednym z głównych kierunków jest tu pozyskiwanie i przenoszenie zarodków technikami MOET (multiple ovulation and embryo transfer). Istotnym etapem tej procedury jest superowulacja, do której używa się gonadotropin: FSH lub eCG. Problem stanowi indywidualne różnicowanie odpowiedzi na zastosowane gonadotropiny. Pewnym rozwiązaniem byłaby wstępna selekcja zwierząt, u których można oczekiwać pożądanej reakcji na stymulację hormonalną. Takim wskaźnikiem może być stężenie AMH, pochodzącego z małych pęcherzyków antralnych (3–7 mm). W grupie krów o wysokiej odpowiedzi superowulacyjnej (średnio 21,5 owulacji) stężenie AMH wynoszące 94,8 pg/ml było istotnie wyższe niż w grupie o niskiej odpowiedzi (śr. 6,8 owulacji), gdzie wyniosło 40,7 pg/ml. Zwierzęta z wyższym stężeniem AMH są bardziej podatne na superowulację. Do tego celu najbardziej przydatny jest pomiar wykonany podczas ruji i po 12 dniu cyklu rujowego, gdyż w tym czasie występuje największa korelacja między stężeniem AMH i nasileniem superowulacji (27, 28).

Możliwości oznaczenia

W światowej ofercie rynkowej są testy zarówno jakościowe, jak i ilościowe. Jakościowe testy ELISA służą do szybkiego stwierdzenia lub wykluczenia obecności AMH w surowicy krwi. Wynik pozytywny świadczy o obecności czynnej tkanki gonadowej. Te przeznaczone dla psów i kotów występują pod nazwą *Spaychek*.

Testy ilościowe wyznaczają jako wynik końcowy bezwzględną, wyrażoną liczbowo zawartość hormonu w badanym materiale. W takiej sytuacji przyjmowana jest wartość graniczna dla oceny aktywności gonad. Jeżeli nie jest ona podana przez producenta, należałoby wykonać wstępne przetestowanie pewnej grupy zwierząt o znanym statusie gonadowym, aby wyznaczyć przedziały wartości stężenia AMH dla konkretnego testu.

Laboratoria wykorzystują testy swoiste lub nieswoiste gatunkowo (29). W ofercie rynkowej są zarówno testy przeznaczone dla jednego (np. canine AMH ELISA dla psów, Equine AMH dla koni), jak i dla kilku gatunków ssaków, włączając ludzi, dla których sieć laboratoriów wykonujących oznaczenia jest dostępna w szerokim zakresie. Wśród laboratoriów weterynaryjnych Laboklin ma w swojej ofercie oznaczenie stężenia AMH w surowicy krwi.

Piśmiennictwo

- Josso N.: Professor Alfred Jost: the builder of modern sex differentiation. *Sex Dev.* 2008, 2, 55–63.
- Rzeszowska M., Leszcz A., Putowski L., Hałabiś M., Tkaczuk-Włach J., Kotarski J., Polak G.: Anti-Müllerian

- hormone: structure, properties and appliance. *Ginekol. Pol.* 2016, **87**, 669–674.
3. Nowacka-Woszuk J., Switoński M.: Comparative cytogenetic mapping of three genes involved in sex determination in four species of the family *Canidae*. *J. Anim. Feed Sci.* 2010, **19**, 5–12.
 4. Skalba P., Cygal A., Dąbkowska-Huć A.: Wpływ hormonu anti-Müllerowskiego (AMH) na folikulogenezę. *Ginekol. Pol.* 2008, **79**, 137–140.
 5. Ruvinsky A., Hill M.: *Developmental Genetics*. W: Ostrander E.A., Ruvinsky A.: *The Genetics of the Dog*, 2nd Edition, CAB, Wallingford, UK, 2012, s. 344–346.
 6. Lie Fong S., Visser J.A., Welt C.K., de Rijke Y.B., Eijkemans M.J., Broekmans F.J., Roes E.M., Peters W.H., Hoken-Koelega A.C., Fauser B.C., Themmen A.P., de Jong F.H., Schipper I., Laven J.S.: Serum anti-Müllerian hormone levels in healthy females: a nomogram ranging from infancy to adulthood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012, **97**, 4650–4655.
 7. Matuszczak E., Hermanowicz A., Komarowska M., Debek W.: Serum AMH in physiology and pathology of male gonads. *Int. J. Endocrinol.* 2013, doi: 10.1155/2013/128907.
 8. Jeppesen J.V., Anderson R.A., Kelsey T.W., Christiansen S.L., Kristensen S.G., Jayaprakasan K., Raine-Fenning N., Campbell B.K., Yding Andersen C.: 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**, 519–527.
 9. Place N.J., Hansen B.S., Cheraskin J.L., Cudney S.E., Flinders J.A., Newmark A.D., Barry B., Scarlett J.M.: Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2011, **23**, 524–527.
 10. Walter B., Aupperle H., Klein R., Daub L., Geyer A., Coelfen A., Jäger K., Braun J.: Anti Müllerian hormone concentration in female dogs with and without ovarian disorders. *VIII Intern. Symp. on Canine and Feline Reprod.* Paris, June 22–25, 2016, 228.
 11. Pir Yagci I., Pekcan M., Polat I.M., Kalender H., Macun H.C.: Does serum anti-Müllerian hormone levels always discriminate presence of the ovaries in adult bitches? Comparison of two ELISA kits. *Reprod. Domest. Anim.* 2016, **51**, 910–915.
 12. Themmen A.P., Kalra B., Visser J.A., Kumar A., Savjani G., de Gier J., Jaques S.: The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs. *Theriogenology* 2016, **86**, 1467–1474.
 13. Turna Yilmaz Ö., Toydemir T.S., Kirsan I., Gunay Ucmak Z., Caliskan Karacan E.: Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches. *Vet. Res. Commun.* 2015, **39**, 159–162.
 14. Hollinshead F.K., Walker C., Hanlon D.W.: Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reprod. Domest. Anim.* 2017, **52** Suppl 2, 35–40.
 15. Axné E., Ström Holst B.: Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology* 2015, **83**, 817–821.
 16. Smit M.M.: *Genetic investigation of the AMH and AMHR2 genes in canine Persistent Müllerian Duct Syndrome*. Master thesis, Utrecht University 2017, <https://dspace.library.uu.nl/handle/1874/348887>.
 17. Banco B., Veronesi M.C., Giudice C., Rota A., Grieco V.: Immunohistochemical evaluation of the expression of anti-Müllerian hormone in mature, immature and neoplastic canine Sertoli cells. *J. Comp. Pathol.* 2012, **146**, 18–23.
 18. Holst B.S., Dreimanis U.: Anti-Müllerian hormone: a potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours. *BMC Vet Res.* 2015, doi: 10.1186/s12917-015-0487-5.
 19. Ano H., Hidaka Y., Katamoto H.: Evaluation of anti-Müllerian hormone in a dog with a Sertoli cell tumour. *Vet. Dermatol.* 2014, **25**, 142–145.
 20. Ball B.A.: Applications of anti-Müllerian hormone (AMH) in equine reproduction. *Proc. of the Society for Theriogenology Annual Conference*, Asheville, USA – Jul. 27–30, 2016.
 21. Claes A.N., Ball B.A.: Biological functions and clinical applications of Anti-Müllerian hormone in stallions and mares. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2016, **32**, 451–464.
 22. Claes A., Ball B.A., Almeida J., Corbin C.J., Conley A.J.: Serum anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology* 2013, **79**, 1229–1235.
 23. Murase H., Saito S., Amaya T., Sato F., Ball B.A., Nambu Y.: Anti-Müllerian hormone as an indicator of hemicastrated unilateral cryptorchid horses. *J. Equine Sci.* 2015, **26**, 15–20.
 24. Almeida J., Ball B.A., Conley A.J., Place N.J., Liu L.K., Scholtz E.L., Mathewson L., Stanley S.D., Moeller B.C.: Biological and clinical significance of anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology* 2011, **76**, 1393–1403.
 25. Ball B.A., Almeida J., Conley A.J.: Determination of serum anti-Müllerian hormone concentrations for the diagnosis of granulosa-cell tumours in mares. *Equine Vet. J.* 2013, **45**, 199–203.
 26. Ball B.A., Conley A.J., Grundy S.A., Sabeur K., Liu L.K.: Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) in the equine testis. *Theriogenology* 2008, **69**, 624–631.
 27. Rico C., Fabre S., Médigue C., di Clemente N., Clément E., Bontoux M., Touzé J.L., Dupont M., Briant E., Rémy B., Beckers J.F., Monniaux D.: Anti-müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol. Reprod.* 2009, **80**, 50–59.
 28. Rico C., Médigue C., Fabre S., Jarrier P., Bontoux M., Clément F., Monniaux D.: Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biol. Reprod.* 2011, **84**, 560–571.
 29. Antibodies on-line: <http://www.antibodies-online.com/search.php#190m>.