

RACCOMANDAZIONI E LINEE GUIDA

Ormone anti-Mülleriano e infertilità
Anti-Müllerian hormone and infertilityMarina VITILLO ¹, Renato TOZZOLI ^{2, 3 *}

¹UOC Patologia Clinica, Dipartimento dei Laboratori, Ospedale San Filippo Neri, ASL Roma 1, Roma, Italia; ²Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Ospedale Villa Salus, Venezia, Italia; ³Unità di Endocrinologia, Policlinico San Giorgio, Pordenone, Italia

*Autore di contatto: Renato Tozzoli, Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Ospedale Villa Salus, Venezia, Italia.
E-mail: renato.tozzoli@gmail.com

RIASSUNTO

L'ormone circolante anti-Mülleriano (AMH) è considerato il migliore biomarcatore per la valutazione della riserva ovarica, più affidabile di altri criteri come l'età, la conta dei follicoli antrali o i livelli di ormone follicolo-stimolante (FSH). È una glicoproteina prodotta dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici e riveste un ruolo fondamentale nella regolazione dello sviluppo del follicolo durante la vita fetale e adulta. Diverse generazioni di test ELISA sono state utilizzate dagli anni '90 per la misura dell'AMH. Più recentemente sono state introdotte metodiche automatizzate in chemiluminescenza che utilizzano per lo più anticorpi diretti verso la *pro region* e la *mature region* dell'AMH e quindi rilevano la presenza di entrambe le forme circolanti proAMH e AMH_{N.C.}. I nuovi metodi presentano elevati livelli di precisione, linearità delle determinazioni e, sebbene manchi uno standard internazionale di riferimento, un'ottima correlazione per concentrazioni al di sopra di 1 ng/ml. La maggiore sensibilità delle metodiche automatizzate consente di distinguere nel gruppo di donne con un valore di conta dei follicoli antrali 0-7, coloro che hanno maggiori possibilità di procreare. Nel complesso, le caratteristiche descritte e i tempi ridotti di esecuzione dei metodi automatizzati, favoriscono l'uso della misura dell'AMH nei centri per la riproduzione medicalmente assistita e in donne giovani con patologie neoplastiche per il prelievo e la conservazione dei follicoli prima della chemioterapia. I livelli di AMH aumentano in donne con sindrome dell'ovaio micropolicistico.

(Per citare questo articolo: Vitillo M, Tozzoli R. Ormone anti-Mülleriano e infertilità. Riv Ital Med Lab 2022;18:108-12. DOI: 10.23736/S1825-859X.22.00146-3)

ABSTRACT

Circulating anti-Müllerian hormone (AMH) is considered the best biomarker for evaluating ovarian reserve, more reliable than other criteria such as age, antral follicle count or follicle stimulating hormone (FSH) levels. It is a glycoprotein produced by the granulosa cells of the ovarian follicles and plays a fundamental role in regulating the development of the follicle during fetal and adult life. Several generations of ELISA tests have been used since the 1990s for the measurement of AMH. More recently, automated chemiluminescence methods have been introduced which mostly use antibodies directed towards the pro region and the mature region of AMH therefore detecting the presence of both circulating forms proAMH and AMH_{N.C.}. The new methods have high levels of precision, linearity of the determinations and, although there is no international reference standard, they show an excellent correlation for concentrations above 1 ng/mL. The greater sensitivity of the automated methods allows to distinguish in the group of women with an antral follicle count value of 0-7, those who have the greatest possibility of procreating. Overall, the characteristics described above and the reduced execution time of the automated methods favour the use of the AMH measurement in medically assisted reproduction centres and in young women with neoplastic pathologies for the removal and preservation of follicles before chemotherapy. AMH levels increase in women with micropolycystic ovary syndrome.

Key words: Anti-Müllerian hormone; Ovarian reserve; Polycystic ovary syndrome; Menopause.

Introduzione

Il gruppo di Studio in Endocrinologia e Malattie del Metabolismo della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (GdS-EMM SIPMeL) ha inteso portare all'attenzione dei colleghi medici, biologi, chimici e tecnici di laboratorio, le principali caratteristiche dei test ormonali per lo studio dell'infertilità con l'obiettivo di una migliore conoscenza dei problemi legati a questa affezione.

In questo primo contributo vengono descritti la struttura e il significato biologico, gli aspetti analitici e clinici dell'ormone anti-Mülleriano e vengono fornite raccomandazioni sul corretto utilizzo di questo marcatore ormonale.

Struttura e caratteristiche molecolari dell'ormone anti-Mülleriano

L'ormone anti-Mülleriano (AMH) è una glicoproteina omodimerica prodotta dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici in crescita ed è un *marker* utile per la valutazione dello stato di funzionalità ovarica. L'ormone, che fa parte della superfamiglia del TGF- β (*Transforming Growth Factor β*), cui appartengono più di 35 peptidi correlati come inibine, attivine, fattori di differenziazione, etc, è una proteina di 140 kDa, costituita da due subunità identiche legate da ponti disolfuro. L'AMH è codificato da un gene di 2.8 kbp, localizzato nel cromosoma 19 (Figura 1).¹

L'AMH durante la vita fetale ha un ruolo nel sesso maschile nella regressione dei dotti Mülleriani e nel sesso femminile nell'organizzazione follicolare precoce delle gonadi, mentre nella vita postnatale è un fattore determinante nella regolazione della follicologenesi. In assenza di AMH i dotti Mülleriani si differenziano nei futuri organi riproduttivi femminili (utero, tube e parte superiore della vagina).^{1,2}

Funzione e significato biologico

Alla nascita sono presenti circa un milione di ovociti che gradualmente diminuiscono fino ad arrivare a un *pool* di 300.000-500.000 follicoli primordiali all'epoca della pubertà. Durante la vita adulta un numero variabile di follicoli esce dalla fase quiescente ed entra in quella di crescita attiva. La maggior parte di questi ultimi saranno persi per atresia, a meno che non rispondano allo stimolo proliferativo dell'FSH (follitropina), che inizia alla pubertà in concomitanza con l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade. Tra questi solo un follicolo per ciclo sarà selezionato come dominante e andrà incontro a ovulazione determinata dallo stimolo indotto dall'LH (luteotropina).

L'AMH è prodotto nella femmina dalle cellule della granulosa ovarica, in particolare dai follicoli primari, pre-

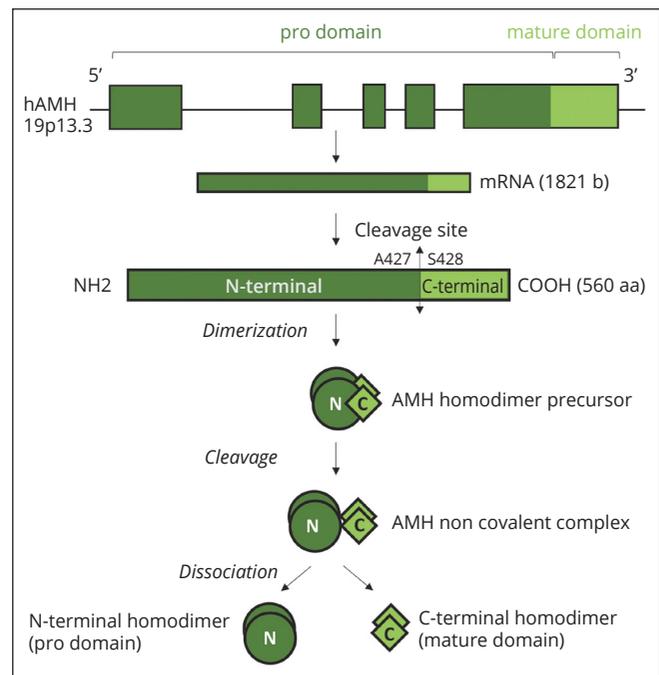


Figura 1.—Caratteristiche molecolari della molecola dell'AMH. (Modificato da di Clemente *et al.*).¹

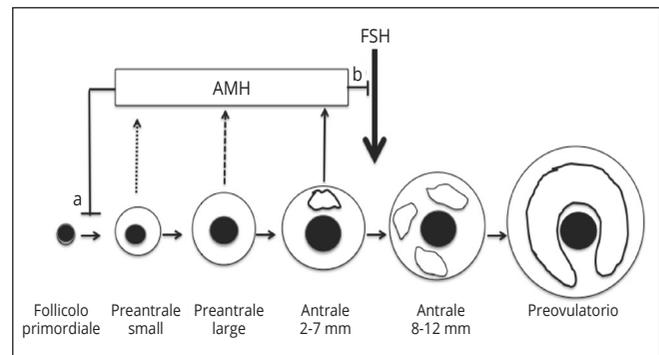


Figura 2.—Modello dell'azione dell'AMH nell'ovaio. A) Reclutamento iniziale (attivazione follicolare); B) secondo reclutamento (ciclico). (Modificata da von Houten *et al.*).³

antrali e antrali di piccole dimensioni, e svolge una doppia funzione: ha un ruolo inibitorio sul passaggio dei follicoli dalla fase primordiale a quella preantrale (reclutamento primario) e contrasta lo stimolo operato dall'FSH che favorisce il passaggio dei follicoli dalla fase preantrale a quella antrale (reclutamento secondario) (Figura 2).³

L'AMH viene inizialmente prodotto in forma di pre-proteina di 560 aminoacidi. Successivamente, durante la sintesi proteica, viene eliminato il peptide segnale di 25 aminoacidi formando il precursore proAMH (AMH₂₅₋₅₆₀).

Il conseguente clivaggio in posizione 451-452 determina la formazione di due monomeri (AMH_{N-pro region} di 120 kDa e AMH_{C-mature region} di 25 kDa), che rimangono associati in un complesso stabile legato in forma non covalente (AMH_{N,C}) (Figura 1). L'AMH circolante è costituito da proAMH e AMH_{N,C}, ma solo quest'ultimo, tramite la componente C, è in grado di attivare direttamente i recettori per l'AMH (AMHR₁ e AMHR₂).⁴

Utilizzo clinico

I follicoli preantrali sono ancora troppo piccoli per essere individuati ecograficamente, presentando un diametro medio di 0.2 mm. Dopo circa 50 giorni passano allo stadio antrale e diventano visibili agli ultrasuoni, presentando dimensioni tra 2 e 10 mm. La produzione di AMH è limitata alle cellule della granulosa dei soli follicoli preantrali e antrali più piccoli e cessa quando il diametro di questi ultimi raggiunge gli 8-10 mm. Ne consegue che la determinazione dell'AMH sierico rispecchia l'entità del pool dei follicoli primordiali e dei piccoli follicoli in crescita presenti in un determinato momento della vita di una donna.

Numerosi studi hanno confermato la correlazione tra livelli di AMH e conta dei follicoli antrali di piccole e medie dimensioni (AFC).^{5, 6} Le linee guida prodotte dal National Institute for Health and Care Excellence (NICE) ne raccomandano l'utilizzo per la valutazione della riserva ovarica da solo o in combinazione con età, AFC e livelli basali di FSH (2°-5° giorno del ciclo mestruale). Parallelamente viene sconsigliato l'utilizzo di altri markers, quali estradiolo e inibina B, valutazione del volume e del flusso ematico ovarico.⁷

La misura dell'AMH è utile nel personalizzare la terapia durante le procedure di fecondazione *in vitro* (IVF),^{1, 6, 8} nella valutazione del danno della riserva follicolare ovarica indotta da farmaci chemioterapici o da radioterapia,¹ per stimare l'età d'insorgenza della menopausa,¹ come criterio diagnostico nella sindrome dell'ovaio policistico (PCOS),^{1, 9} nell'insufficienza ovarica prematura (POF)⁸ e nei tumori ovarici.^{1, 9}

La misura dell'AMH presenta una maggiore precisione nella valutazione della riserva ovarica rispetto all'AFC, che risente maggiormente della variabilità ciclica individuale, oltre ad essere un parametro operatore-dipendente. Le componenti biologiche della variabilità dell'AMH, circadiana ed inter/intra ciclo, sono state valutate in numerosi lavori con risultati che confermano l'ampia variabilità tra partecipanti, maggiore di quella inter-ciclo.¹⁰

L'introduzione dei metodi automatizzati sembra aver risolto la maggior parte dei limiti pre-analitici e analitici dei metodi manuali, facilitando il rilascio di risultati consistenti e accurati.¹¹

Caratteristiche preanalitiche

È stato ipotizzato che le discrepanze riportate negli studi pubblicati risentono anche dell'influenza di fattori preanalitici ed analitici come modalità di prelievo, trasporto e conservazione del campione con conseguenti cambiamenti conformazionali e proteolitici del dimero. Inoltre in questi studi sono state utilizzate differenti metodiche per la determinazione dell'AMH. Hadlow *et al.*¹² hanno standardizzato le modalità di esecuzione dell'AMH utilizzando lo stesso laboratorio e la stessa metodica per tutti i campioni in esame. Gli autori hanno riportato una variabilità individuale del 20% tra le varie determinazioni. La discrepanza dei livelli di AMH rilevati ha determinato una riclassificazione clinica del 30% delle donne in studio, con passaggio delle stesse da una categoria all'altra di riserva ovarica. La variabilità osservata nella determinazione dell'AMH potrebbe dunque influenzare significativamente il successivo iter diagnostico e i protocolli terapeutici da mettere in atto per le tecniche di IVF. Questa osservazione mette in discussione il principio secondo il quale una singola determinazione del valore di AMH possa essere sufficiente per indirizzare una strategia di trattamento per infertilità. Inoltre, i livelli di AMH sono anche influenzati dalla carenza di vitamina D,¹³ uso di contraccettivi orali,¹⁴ fumo,¹⁵ obesità,¹⁶ razza ed etnia,¹⁷ assunzione di biotina.¹⁸

Caratteristiche analitiche

Le prime determinazioni dell'AMH, risalenti agli anni 90, furono eseguite utilizzando tre metodi ELISA che presentavano una sensibilità di 0,5 ng/mL. La sensibilità della metodica è aumentata con gli anni fino a giungere nel 2000 ad un test con una sensibilità analitica di 0,1 ng/mL (metodi di 1^a generazione). Nel 2011 la Diagnostic System Lab (DSL, Webster, USA) e la Immunotech (IOT, Marsiglia, Francia) hanno introdotto metodi ELISA che utilizzavano anticorpi monoclonali altamente specifici per epitopi di entrambe le regioni *pro* (F2B/7A) e *mature* (F2B/12H) dell'AMH. Dopo l'acquisizione della DSL e di IOT da parte di Beckman Coulter, questi due dosaggi sono stati combinati nel metodo ELISA AMH Gen II (sensibilità analitica: 0,08 ng/mL) (metodi di 2^a generazione).¹⁹ A causa della variabilità dei risultati ottenuti con quest'ultima metodica, l'azienda ha riconosciuto una probabile interferenza da complemento che determinava una riduzione del 70% dei valori effettivi di AMH. Di conseguenza il test è stato modificato con l'aggiunta di un tampone in cui preincubare il campione. Tutto ciò ha reso necessario stabilire nuovi valori di riferimento per le concentrazioni di AMH

nella popolazione sana e in quella infertile, mettendo in dubbio i valori stabiliti fino a quel momento.

Dal 2014²⁰ sono state introdotte metodiche automatizzate in chemiluminescenza (metodi di 3^a generazione) per i principali analizzatori automatici commerciali (dapprima Access/Unicel e Cobas/Elecsys, poi Vidas, Lumipulse, iFlash, Mindray). Con l'unica eccezione del test iFlash, tutti utilizzano la stessa coppia di anticorpi del test ELISA Gen II. Tali anticorpi sono diretti verso la *pro region* e la *mature region* dell'AMH e quindi rilevano la presenza di entrambe le forme circolanti proAMH e AMH_{N,C}.²¹ Recenti lavori²²⁻³¹ hanno confrontato varie metodiche evidenziando elevati livelli di precisione, linearità delle determinazioni e un'ottima correlazione per concentrazioni al di sopra di 1 ng/mL. La maggiore sensibilità delle metodiche automatizzate consente di distinguere nel gruppo di donne con un valore di AFC 0-7, coloro che hanno maggiori possibilità di procreare. Il test Gen II ELISA, presentando un limite di quantificazione di 0,160 ng/mL, non permette tale distinzione. La Tabella I mostra le differenze principali tra le sette metodiche.

La definizione di intervalli di riferimento e di cutoff dei livelli di AMH consente la classificazione clinica della riserva ovarica e permette di predire la risposta alla stimolazione ormonale suddividendola in classi debole, normale o alta.³² L'obiettivo principale di questo approccio è di fornire a ogni donna un trattamento personalizzato per aumentare la probabilità di gravidanza e minimizzare i rischi legati alle procedure di stimolazione ovarica. Sono stati pubblicati numerosi lavori che definiscono gli intervalli di riferimento da applicare nella pratica clinica. Questi studi si riferiscono a popolazioni selezionate per etnia o per stato fisiologico e i valori sono stati ottenuti con diverse metodiche non uniformate a causa della mancanza di standard di riferimento internazionale. Anche le linee guida prodotte dal NICE del 2013,⁷ aggiornate nel 2017, sebbene abbastanza recenti, sono poco utili, perché

forniscono valori di *cutoff* calcolati con la metodica DSL ELISA, ormai raramente utilizzata.

Studi recenti propongono invece valori di *cutoff* più appropriati, in quanto fanno riferimento a metodiche automatizzate in chemiluminescenza, attualmente più diffuse, confrontate con AFC.

Recentemente la WHO ha messo a punto una nuova preparazione di riferimento (NIBSC 16/190) per aumentare la qualità dei metodi di immunodosaggio per l'AMH:³³ questo materiale non soddisfa completamente la qualità dei dosaggi immunometrici, non è uno standard internazionale del WHO, ma solamente un reagente umano, ricombinante, di riferimento del WHO.^{33, 34}

Raccomandazioni del GdS-EMM SIPMeL

1. L'AMH è il più importante marcatore nella valutazione della riserva ovarica.

In centri di procreazione medicalmente assistita la determinazione dell'AMH è utilizzata in donne che desiderano procreare e in donne giovani con patologie neoplastiche per il prelievo e la conservazione dei follicoli prima della chemioterapia. Le metodiche maggiormente utilizzate sono automatizzate e hanno tempi di esecuzione molto contenuti, che ne consentono un uso quotidiano, velocizzando l'inserimento delle pazienti nei programmi di procreazione assistita con un protocollo personalizzato di stimolazione ormonale.

2. L'AMH è un importante fattore per la diagnosi dell'ovaio micropolicistico. È stato dimostrato che l'AMH risulta elevato nelle donne affette da PCOS. Recenti studi hanno definito valori di *cutoff* di AMH per la diagnosi, utilizzando un metodo automatizzato commerciale.³⁵

3. L'AMH è predittore della menopausa. Numerosi studi⁸ hanno dimostrato che la probabilità di predire la menopausa si realizza da 12 a 36 mesi prima, in combinazione con l'età e l'indice di massa corporea.

TABELLA I.—Caratteristiche analitiche dei principali metodi commerciali per la misura di AMH, in accordo con le informazioni dei produttori.

	AMH Gen II	Ultrasensitive AMH	Access AMH	Elecsys AMH	Vidas AMH	Lumipulse AMH	iFlash AMH	Mindray AMH
Azienda	Beckman	AnshLabs	Beckman	Roche	Biomerieux	Fujirebio	Hylo	Mindray
Tempo totale	180'	150'	40'	18'	35'	35'	18'	ND
Metodica	Manuale	Manuale	Automatica	Automatica	Automatica	Automatica	Automatica	Automatica
Precisione nella serie	1,4-5,4	0,7-2,2	0,5-1,4	ND	0,9-1,1	ND	1,3	2,7-3,1
Precisione tra serie	6,2-13,5	0,9-2,5	0,7-1,9	ND	0,2-1,3	ND	2,2	5,35-5,41
Volume ml	20	25	20	50	200	ND	ND	ND
LoD	0,08	ND	ND	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01
LoQ	0,17	ND	ND	0,03	0,08	0,022	0,08	0,03
Range	ND	ND	ND	0,02-9,00	0,044-22,42	ND	0,02-27,22	0,014-22,1
Anno	2011	2015	2014	2014	2016	2020	2020	2021

Bibliografia

1. di Clemente N, Racine C, Pierre A, Taieb J. Anti-Müllerian hormone in female reproduction. *Endocr Rev* 2021;42:753–82.
2. Nilsson EE, Schindler R, Savenkova MI, Skinner MK. Inhibitory actions of Anti-Müllerian Hormone (AMH) on ovarian primordial follicle assembly. *PLoS One* 2011;6:e20087.
3. van Houten EL, Themmen AP, Visser JA. Anti-Müllerian hormone (AMH): regulator and marker of ovarian function. *Ann Endocrinol (Paris)* 2010;71:191–7.
4. Pankhurst MW, McLennan IS. Human blood contains both the uncleaved precursor of anti-Müllerian hormone and a complex of the NH₂- and COOH-terminal peptides. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305:E1241–7.
5. Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:18–21.
6. van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, *et al.* Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002;17:3065–71.
7. NICE. Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. NICE Clinical Guideline [CG156]; 2017.
8. Finkenstein JS, Lee H, Karkamangla A, Neer RM, Sluss PM, Burnett-Bowie SM, *et al.* Anti-Müllerian hormone and impending menopause in late reproductive age: the study of women's health across the nation. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105:1862–71.
9. Li HW, Robertson DM, Burns C, Ledger WL. Challenges in measuring AMH in the clinical setting. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021;12:691432.
10. Biniyasch M, Laubender RP, Hund M, Buck K, De Geyter C. Intra- and inter-cycle variability of anti-Müllerian hormone (AMH) levels in healthy women during non-consecutive menstrual cycles: the BICYCLE study. *Clin Chem Lab Med* 2021;60:597–605.
11. Iliodromiti S, Nelson SM. Ovarian response biomarkers: physiology and performance. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2015;27:182–6.
12. Hadlow N, Brown SJ, Habib A, Wardrop R, Joseph J, Gillett M, *et al.* Quantifying the intraindividual variation of antimüllerian hormone in the ovarian cycle. *Fertil Steril* 2016;106:1230–7.
13. Merhi ZO, Seifer DB, Weedon J, Adeyemi O, Holman S, Anastos K, *et al.* Circulating vitamin D correlates with serum antimüllerian hormone levels in late-reproductive-aged women: Women's Interagency HIV Study. *Fertil Steril* 2012;98:228–34.
14. Kallio S, Puurunen J, Ruokonen A, Vaskivuo T, Piltonen T, Tapanainen JS. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertil Steril* 2013;99:1305–10.
15. Plante BJ, Cooper GS, Baird DD, Steiner AZ. The impact of smoking on antimüllerian hormone levels in women aged 38 to 50 years. *Menopause* 2010;17:571–6.
16. Oldfield AL, Kazemi M, Lujan ME. Impact of obesity on anti-Müllerian hormone (AMH) levels in women of reproductive age. *J Clin Med* 2021;10:319.
17. Tal R, Seifer DB. Potential mechanisms for racial and ethnic differences in antimüllerian hormone and ovarian reserve. *Int J Endocrinol* 2013;2013:818912.
18. Dorizzi RM. Biotina e interferenze nei metodi immunologici; problemi e opportunità. *Riv Ital Med Lab* 2017;13:1–9.
19. Kumar A, Kalra B, Patel A, McDavid L, Roudebush WE. Development of a second generation anti-Müllerian hormone (AMH) ELISA. *J Immunol Methods* 2010;362:51–9.
20. Gassner D, Jung R. First fully automated immunoassay for anti-Müllerian hormone. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1143–52.
21. Pankhurst MW, Chong YH, McLennan IS. Enzyme-linked immunosorbent assay measurements of antimüllerian hormone (AMH) in human blood are a composite of the uncleaved and bioactive cleaved forms of AMH. *Fertil Steril* 2014;101:846–50.
22. van Helden J, Weiskirchen R. Performance of the two new fully automated anti-Müllerian hormone immunoassays compared with the clinical standard assay. *Hum Reprod* 2015;30:1918–26.
23. Anderson RA, Anckaert E, Bosch E, Dewailly D, Dunlop CE, Fehr D, *et al.* Prospective study into the value of the automated Elecsys antimüllerian hormone assay for the assessment of the ovarian growing follicle pool. *Fertil Steril* 2015;103:1074–1080.e4.
24. Segawa T, Omi K, Watanabe Y, Sone Y, Handa M, Kuroda M, *et al.* Age-specific values of Access anti-Müllerian hormone immunoassay carried out on Japanese patients with infertility: a retrospective large-scale study. *BMC Womens Health* 2019;19:57.
25. Homburg R, Rao U, Malamas F, Palouki P, Gudi A, Shah A, *et al.* Automated anti-Müllerian hormone measurement: data review to provide insights and interpretation. *Gynecol Endocrinol* 2021;37:511–4.
26. Han A, Suh B, Yi G, Lee YJ, Kim SE. The Medline article title is Comparison of the Automated Fluorescent Immunoassay System With Roche Elecsys and Beckman Coulter Access 2 Assays for Anti-Müllerian Hormone Measurement. *Ann Lab Med* 2022;42:47–53.
27. Feng Y, Chen Y, Liu C, Fu J, Xu J. The Medline article title is Comparison of Three Immunoassay Systems for Determining Serum Anti-Müllerian Hormone. *Clin Lab* 2021;67:7.
28. Yue CY, Wu Y, Duan CH, Wei J, Zhang D, Luo XH, *et al.* Performance evaluation of a fully automated anti-Müllerian hormone immunoassay and multicentre study on the establishment of reference range in adult women. *Ann Clin Biochem* 2020;57:170–7.
29. Lotierzo M, Urbain V, Dupuy AM, Cristol JP. Evaluation of a new automated immunoassay for the quantification of anti-Müllerian hormone. *Pract Lab Med* 2021;25:e00220.
30. Fraissinet F, Gesland A, Guillerme J, Ziegler F, Brunel V. The Medline article title is Analytical Evaluation of Lumipulse Anti-Müllerian Hormone Assay. *Clin Lab* 2021;67:67.
31. Zhao JJ, Kang C. Performance characteristics of the Mindray chemiluminescence anti-Müllerian hormone assay. *J Clin Lab Anal* 2021;35:23734.
32. Iliodromiti S, Anderson RA, Nelson SM. Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum Reprod Update* 2015;21:698–710.
33. Ferguson J, Hockley J, Rigsby P, Burns C. Establishment of a WHO Reference Reagent for anti-Müllerian hormone. *Reprod Biol Endocrinol* 2020;18:86.
34. Punchoo R, Bhoora S. Variation in the measurement of anti-Müllerian hormone - what are the laboratory issues? *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021;12:719029.
35. Mahajan N, Kaur J. The Medline article title is Establishing an Anti-Müllerian Hormone Cutoff for Diagnosis of Polycystic Ovarian Syndrome in Women of Reproductive Age-Bearing Indian Ethnicity Using the Automated Anti-Müllerian Hormone Assay. *J Hum Reprod Sci* 2019;12:104–13.

Conflitti di interesse.—Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.

Studi condotti su esseri umani e animali.—L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.

Consenso informato.—Per questo tipo di studio non è richiesto il consenso informato.

Pubblicato online: 5 luglio 2022. - Accettato: 4 luglio 2022. - Ricevuto: 29 giugno 2022.