



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELL'AQUILA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA CLINICA, SANITA' PUBBLICA, SCIENZE DELLA
VITA E DELL'AMBIENTE

Dottorato di Ricerca in **SCIENZE DELLA SALUTE E DELL'AMBIENTE**

Curriculum **Medicina Traslazionale - D6G2-20-1**

XXXVI ciclo

La performance diagnostica dell'Ormone Anti-Mulleriano (AMH) nella Sindrome dell'Ovaio Policistico (PCOS) e la ricerca di un appropriato cut off.

SSD MED/40 GINECOLOGIA E OSTETRICIA

Dottorando

Dr. Achille de Dominicis

Coordinatore del corso

Prof.ssa Maria Grazia Cifone

Tutor

Prof.ssa Carla Tatone

Prof. Leonardo di Stefano

a.a. 2022/2023

Sommario

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ABSTRACT | 3 |
| INTRODUZIONE..... | 4 |
| <i>La Sindrome dell'ovaio policistico (PCOS)</i> | 4 |
| <i>Criteri diagnostici per la PCOS</i> | 4 |
| <i>I limiti e le difficoltà nell'utilizzo degli attuali criteri diagnostici</i> | 5 |
| <i>L'Ormone Anti-Mulleriano (AMH)</i> | 6 |
| SCOPO DELLA TESI..... | 9 |
| METODI..... | 10 |
| <i>Partecipanti e selezione dei pazienti</i> | 10 |
| <i>Raccolta dei dati</i> | 10 |
| <i>Analisi dei dati</i> | 11 |
| RISULTATI..... | 12 |
| <i>Caratteristiche dei partecipanti</i> | 12 |
| <i>Confronto dei livelli di AMH</i> | 13 |
| <i>AMH cut off</i> | 14 |
| DISCUSSIONE..... | 15 |
| <i>Ruolo dell'AMH nella diagnosi di PCOS</i> | 15 |
| <i>Sensibilità e Specificità</i> | 15 |
| CONCLUSIONE | 17 |
| RIFERIMENTI..... | 18 |

ABSTRACT

Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is a prevalent condition that affects many women in their reproductive years. It is characterized by a combination of symptoms including hormonal imbalances, irregular ovulation, and changes in ovarian structure. There is no reliable diagnostic test for the accurate diagnosis of PCOS. We conducted a study to investigate the potential correlation between AMH (Anti Mullerian Hormone) and PCOS and to assess the accuracy of using AMH as a potential biomarker for diagnosing PCOS and identifying the most effective threshold. Based on our findings, it is evident that there is a significant link between AMH and PCOS. This suggests that AMH can be utilized as a screening tool or as an additional factor in the diagnosis of PCOS, alongside the Rotterdam criteria.

The robust correlation between PCOS and the consistently elevated levels of this factor make it an important tool that deserves further investigation. The findings of our study, along with other research in this area, suggest that conducting larger studies could help establish a universally accepted AMH cut off for diagnosing PCOS.

INTRODUZIONE

La Sindrome dell'ovaio policistico (PCOS)

La Sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è una condizione estremamente frequente tra le donne in età riproduttiva, caratterizzata da una combinazione, non sempre costante, di iperandrogenismo, disfunzione ovulatoria e morfologia ovarica¹.

La sindrome è stata descritta per la prima volta da due ginecologi, Irving Stein e Michael Leventhal nel 1935 e ancora oggi, non esiste un test diagnostico disponibile per la diagnosi affidabile di PCOS.

La PCOS è la causa più comune di oligo/amenorrea (OA) il che la rende fortemente associata all'infertilità primaria². Gli studi hanno dimostrato come la PCOS influisca sulla fertilità e sulla gravidanza³. Le donne con la PCOS hanno un rischio maggiore di esiti avversi materni e neonatali⁴.

La sindrome comprende anche sintomi non prettamente ginecologici quali: sintomi dermatologici come irsutismo, acne, alopecia e complicazioni metaboliche come insulino resistenza, diabete di tipo 2⁵, obesità, dislipidemia⁶, steatosi epatica non alcolica (NAFLD)⁷ e sindrome metabolica⁸. Tali disturbi possono persistere anche dopo la menopausa.

Le donne con PCOS hanno un aumentato rischio di disturbi di ansia e di depressione⁹, e di sviluppare l'iperplasia endometriale e il cancro dell'endometrio¹⁰.

La definizione di sindrome dell'ovaio policistico è considerata fuorviante poiché non vi sono cisti epiteliali nelle ovaie e l'aspetto policistico proviene dalla presenza dei follicoli antrali¹¹. Non solo il termine è impreciso ma anche la patofisiologia della sindrome dell'ovaio policistico è complessa e non del tutto nota, interessando sia la sfera riproduttiva che quella metabolica¹². La pulsabilità di GnRH, la secrezione anormale di gonadotropine¹³ e la disfunzione ovulatoria sono alcuni dei fattori coinvolti nella patogenesi della PCOS, oltre all'iperandrogenismo e alla resistenza all'insulina. L'infiammazione cronica di basso grado con alterati livelli di proteina C reattiva (PCR), la disfunzione endoteliale¹⁴ e lo stress ossidativo elevato¹⁵ contribuiscono ulteriormente alla complessità della patogenesi della sindrome dell'ovaio policistico.

Criteri diagnostici per la PCOS

Poiché la patogenesi non è pienamente compresa, la diagnosi di PCOS non è né immediata né semplice e di conseguenza tutto ciò ha portato allo sviluppo di diversi set di criteri diagnostici.

La conferenza del 1990 organizzata dal National Institutes of Health (NIH) sulla PCOS ha stabilito che i criteri diagnostici fossero l'iperandrogenismo e l'anovulazione cronica¹⁶, richiedendo la contemporanea presenza di entrambi per porre una diagnosi di PCOS. Al contempo vanno escluse altre cause di iperandrogenismo e oligomenorrea come l'iperprolattinemia, la disfunzione tiroidea, l'insorgenza tardiva dell'iperplasia surrenale congenita, la sindrome di Cushing, insufficienza ovarica primaria, amenorrea ipotalamica, la gravidanza, ecc¹⁷.

Nel 2003, l'ESHRE/ASRM PCOS Consensus di Rotterdam, aggiunge l'ecostruttura policistica dell'ovaio ai criteri di cui sopra, definendo la PCOS come la presenza di almeno due dei precedenti elencati criteri ¹⁸.

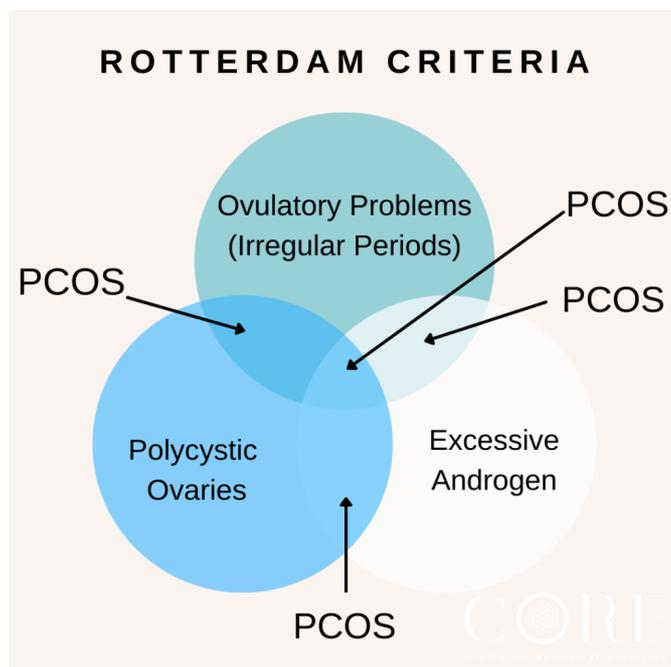


Figura 1 - Criteri di Rotterdam per la diagnosi di PCOS.

Nel 2006, la Androgen Excess and PCOS Society ha definito la PCOS come un disturbo che trova il suo criterio diagnostico imprescindibile nell'iperandrogenismo a cui associare o l'oligoamenorrea o la morfologia ovarica policistica (PCOM) o entrambi ¹⁹ ed escludendo altre condizioni che imitano la PCOS come già precedentemente ricordato.

I limiti e le difficoltà nell'utilizzo degli attuali criteri diagnostici

Molteplici sono le problematiche esistenti con ciascuno dei tre elementi diagnostici della PCOS: iperandrogenismo, oligomenorrea e morfologia ovarica policistica.

In primo luogo, avere diversi set di criteri è fonte di confusione, non solo per i clinici ma anche per i pazienti.

Clinicamente, l'iperandrogenismo può manifestarsi come irsutismo, acne o alopecia. L'acne non può essere considerata come un criterio diagnostico negli adolescenti a meno che non sia grave. Mentre esistono i sistemi di punteggio visivo come quelli di Ferriman-Gallwey (mFG) e Ludwig che vengono utilizzati per valutare rispettivamente la gravità dell'irsutismo e dell'alopecia, nessun sistema di punteggio visivo è disponibile per la valutazione della gravità dell'acne ²⁰.

Esiste una marcata variazione etnica nella manifestazione dell'irsutismo e ciò richiede un aggiustamento valutativo per le diverse etnie, inoltre l'ampia diffusione della depilazione tra le donne complica ulteriormente la valutazione clinica.

Dal punto di vista biochimico ci sono problemi con i test di laboratorio disponibili per misurare i livelli di testosterone libero e totale. Quasi il 99% del testosterone sierico è legato a proteine di legame come le sex hormone-binding globulin (SHBG) e l'albumina, e solo l'1% circola nella forma libera non legata, che rappresenta la forma attiva di testosterone.

Nonostante il testosterone libero sia ben misurato tramite la dialisi di equilibrio o grazie all'ultrafiltrazione, queste pratiche non sono disponibili nella maggior parte dei laboratori a causa dell'alto costo e dell'intenso di lavoro del processo analitico.

I test immunologici comunemente disponibili che misurano direttamente i livelli di testosterone libero sono meno accurati. I livelli delle SHBG possono essere bassi nelle donne con PCOS il che può influenzare la misurazione del testosterone sierico complessivo e il calcolo dell'indice degli androgeni liberi (FAI) e il testosterone biodisponibile²¹. In alcune donne con la PCOS, androgeni diversi dal testosterone come il deidroepiandrosterone solfato (DHEAS) o l'androstenedione possono essere gli unici ormoni elevati.

La diagnosi di oligomenorrea necessita di una buona anamnesi escludendo fattori confondenti. L'oligomenorrea è fisiologica intorno al menarca²² e alla menopausa e una storia di cicli mestruali regolari non esclude sempre l'oligovulazione. La definizione di oligomenorrea varia a seconda dell'età della donna durante lo spettro riproduttivo. Da uno a tre anni dopo il menarca, adolescenti con cicli mestruali < 21 o > 45 giorni (o) > 90 giorni sono considerate oligomenorriche. Da tre anni dopo il menarca fino alla menopausa, donne con cicli mestruali < 21 o > 35 giorni o con la presenza di meno di otto cicli all'anno sono da considerare oligomenorriche²³.

L'analisi della morfologia ovarica policistica non può essere eseguita né nelle donne di età inferiore a otto anni né nelle donne in peri menopausa. Per rilevare un numero ≥ 20 follicoli per ovaio, al fine di soddisfare il criterio diagnostico, è necessario un trasduttore ad alta frequenza a 8 MHz²⁴ e anche se l'ecografia transvaginale misura con precisione il volume ovarico e il numero di follicoli antrali, non è una procedura appropriata per le donne che non sono mai state sessualmente attive. L'ecografia transaddominale presenta difficoltà nella rilevazione accurata dei follicoli antrali, specialmente nelle donne con obesità.

In conclusioni i clinici devono districarsi tra molteplici difficoltà per porre una diagnosi corretta di PCOS e sono alla ricerca costante di un test diagnostico migliore o alternativo che possa rendere meno operatore dipendente e meno complessa la diagnosi di PCOS.

L'Ormone Anti-Mulleriano (AMH)

L'AMH è una glicoproteina dimerica descritta per la prima volta da Alfred Jost negli anni '40. Appartiene alla super famiglia TGF β e svolge un ruolo importante nella differenziazione sessuale e nella regolazione della folliculogenesi. Il suo nome deriva dalla sua capacità di inibire lo sviluppo dei dotti di Muller nei feti maschi²⁵. L'AMH è composto da due subunità glicoproteiche identiche, ognuna delle quali ha un prodominio N-terminale più grande e un dominio C-terminale più piccolo, entrambe collegate da ponti disolfuro. La Pre-proAMH è una molecola precursore che subisce una divisione proteolitica, producendo la proAMH

biologicamente inattiva che produce poi la forma biologicamente attiva di AMH ²⁶. L'AMH si lega a recettori specifici sulle cellule dei tessuti bersaglio. Il dominio C-terminale dell'AMH si lega al dominio extracellulare dei recettori della serina/treonina chinasi di tipo 1 e di tipo 2 dell'AMH, producendo un segnale intracellulare Smad, che a sua volta regola la trascrizione del gene bersaglio ²⁷.

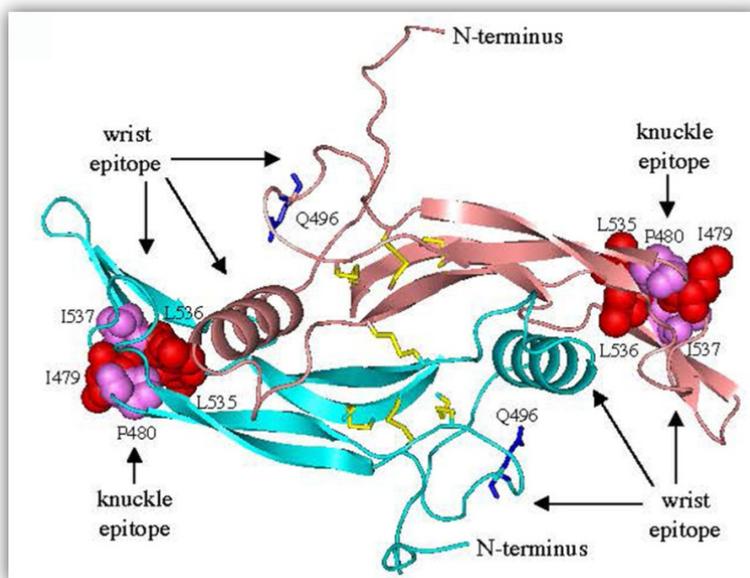


Figura 2 - Ormone Anti-Mülleriano: struttura.

L'ormone anti-Mülleriano svolge un ruolo importante nella differenziazione sessuale. Le gonadi sono indifferenziate fino alla sesta settimana di vita embrionaria. Il sesso genetico è determinato dai cromosomi sessuali. La regione che determina il sesso del cromosoma Y (SRY) nel feto maschio (XY) permette alle gonadi indifferenziate di svilupparsi nei testicoli. Le cellule di Leydig secernono il testosterone che stimola lo sviluppo delle strutture del dotto di Wolff e le cellule Sertoli secernono l'AMH che sopprime lo sviluppo delle strutture dei dotti di Muller. Nelle femmine (XX) l'assenza di SRY consente alle gonadi di svilupparsi nelle ovaie e l'assenza dell'AMH, nelle prime fasi della vita fetale, consente ai dotti di Muller di sviluppare le tube di Falloppio, l'utero, la cervice ed il terzo superiore della vagina ²⁸. Il gene per l'AMH si trova sul braccio corto del cromosoma 19 mentre il gene per il recettore AMH tipo 2 si trova sul braccio lungo del cromosoma 12 ²⁹. L'espressione dell'AMH è osservata nelle cellule della granulosa dei follicoli primari, secondari e nei piccoli follicoli antrali (<4 mm di diametro), mentre è assente nei follicoli primordiali e nei follicoli antrali più grandi (>8 mm in diametro).

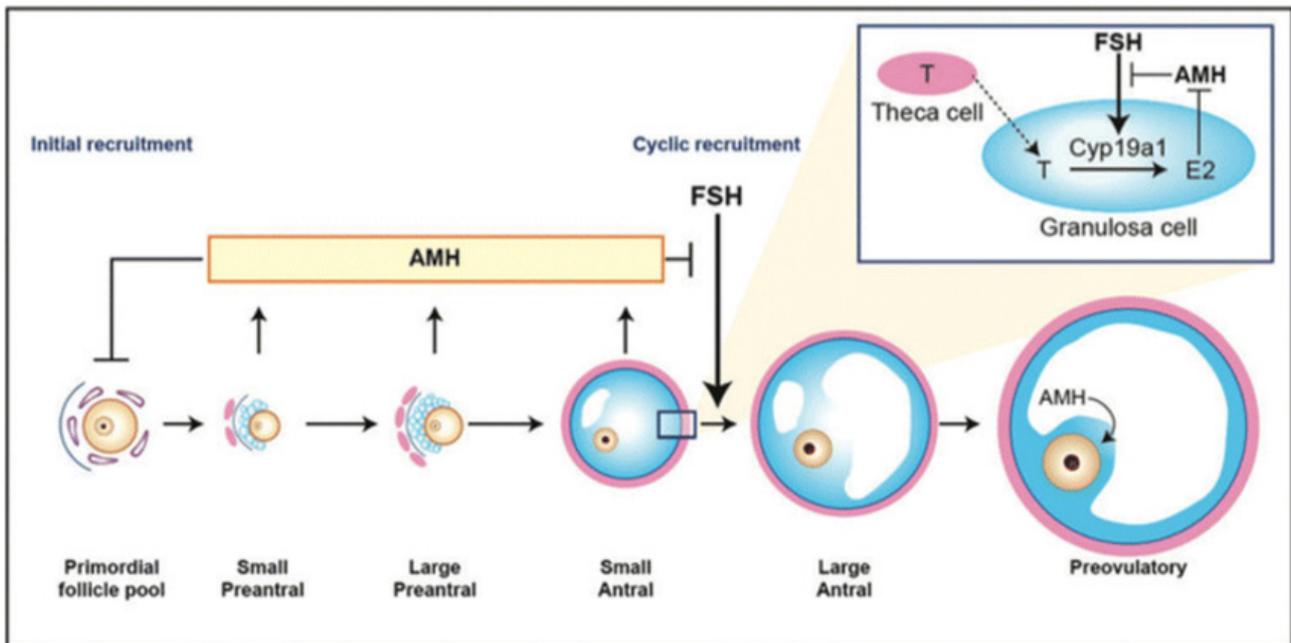


Figura 3 - Modello schematico delle azioni dell'AMH nell'ovaio. Dewailly, D., et al., *Hum Reprod*. L'insero mostra più in dettaglio l'effetto inibitore dell'AMH sull'espressione indotta da FSH del CYP19a1. Fig. modificata da van Houten et al. (2010).

I follicoli primordiali cominciano ad apparire nell'utero intorno alle 15 settimane di gestazione nei feti femminili e durante la crescita e lo sviluppo, la maggior parte dei follicoli diventano atresici attraverso un sistema ormonalmente regolato e a causa dell'associata apoptosi delle cellule della granulosa. Il resto rimane dormiente fino ad essere attivamente reclutato dal pool follicolare per la maturazione e l'ovulazione³⁰. I follicoli primari hanno un singolo strato di cellule della granulosa cuboidali che circondano l'ovocita, i follicoli secondari acquisiscono un secondo strato cellulare di rivestimento. I follicoli antrali (chiamati anche follicoli terziari) derivano il loro nome dal fatto di possedere una cavità riempita di liquidi chiamata antrum e hanno più strati di cellule della granulosa.

L'ormone follicolo-stimolante (FSH), i regolatori intraovarici come il kit-ligand (fattore delle cellule staminali SCF) e le neurotrofine svolgono un ruolo importante nell'iniziale reclutamento dei follicoli primordiali. L'AMH regola la folliculogenesi ovarica inibendo il reclutamento di follicoli primordiali dal pool follicolare. L'AMH è attualmente considerato il marker per eccellenza della riserva ovarica. I livelli di AMH diminuiscono con l'età e dopo la menopausa³¹.

SCOPO DELLA TESI

Le ricerche svolte sull'AMH indicano che la produzione di AMH sia più alta nelle donne con PCOS³², la ragione di questo aumento non è ancora pienamente compresa.

Gli individui con PCOS che hanno livelli elevati di AMH sierico possono sperimentare condizioni cliniche, endocrinologiche e metaboliche più sfavorevoli³³.

Attualmente, i criteri di Rotterdam 2003 vengono ampiamente utilizzati per la diagnosi di PCOS. Una delle sue limitazioni, tuttavia, è la dipendenza da parametri soggettivi come la diagnosi ecografica e l'iperandrogenismo clinico³⁴. Pertanto, la valutazione dei livelli di biomarcatori come l'AMH, da solo o in combinazione con i criteri di Rotterdam del 2003, è attualmente considerata un metodo pratico, quantitativo ed efficace per la diagnosi di PCOS³⁵.

Un vantaggio notevole nell'utilizzo dell'AMH a differenza di altri ormoni come inibina B, estradiolo (E2), LH, e FSH, è la sua concentrazione pressoché costante durante il ciclo mestruale, la gravidanza, e l'uso di contraccettivi orali. Inoltre, a differenza di altri ormoni, correla efficacemente la riserva ovarica di una donna.

Un approccio completo e multidisciplinare è cruciale per la diagnosi, il trattamento e il monitoraggio degli effetti della PCOS sulle pazienti.

In questo studio, abbiamo misurato i livelli di AMH in un gruppo di pazienti, alcune con diagnosi di PCOS e altre senza diagnosi di PCOS, al fine di esaminare la relazione tra AMH e PCOS.

Inoltre, abbiamo cercato di determinare l'efficienza in termini di sensibilità e specificità dell'utilizzo dell'AMH come potenziale biomarcatore per la diagnosi di PCOS e la ricerca di un suo ottimale cut off.

METODI

Partecipanti e selezione dei pazienti

Lo studio è stato condotto su campione di pazienti infertili che si sono rivolte al centro di PMA dell'Ospedale San Salvatore del L'Aquila, dal gennaio 2021 all'Aprile 2023.

Dopo aver esaminato 300 schede anamnestiche di pazienti e aver applicato criteri specifici di analisi, abbiamo selezionato 60 pazienti con diagnosi di PCOS e 60 non-PCOS donne tra i 22 e i 45 anni per formare il nostro studio caso, controllo.

Per lo studio, è necessario che i soggetti del gruppo caso abbiano ricevuto una diagnosi clinica di PCOS sulla base del consenso di Rotterdam 2003. I controlli non devono avere una diagnosi clinica di PCOS e non devono soddisfare i criteri di Rotterdam.

Inoltre, le donne con altri disturbi endocrini come tumori che secernono androgeni, iperplasia surrenale congenita, iperprolattinemia e sindrome di Cushing non sono state incluse nello studio.

Il consenso di Rotterdam 2003 delinea i criteri per la diagnosi di PCOS, che richiede la presenza di almeno due delle seguenti tre caratteristiche: (1) OA si riferisce a una condizione caratterizzata da periodi mestruali irregolari o assenti. (2) HA è quando c'è un eccesso di ormoni maschili nel corpo, che può essere determinato attraverso prove cliniche o biochimiche come il punteggio Ferriman-Gallwey o l'indice degli androgeni liberi. (3) La PCOM è diagnosticata mediante esame ecografico transvaginale, dove si osserva la presenza di almeno 12 follicoli con diametri che vanno da 2-9mm in ciascun ovario e/o un aumento del volume ovarico di almeno 10mm³.

Criteri di inclusione:

1. Tutte le pazienti sono donne infertili
2. Tutte le pazienti rientrano nell'intervallo di età compreso tra i 22 e i 45 anni.

Criteri di esclusione:

1. Le Pazienti con diagnosi di malattie endocrine come la carenza di 21-idrossilasi, iperprolattinemia, malattia di Cushing, e tumori che secernono androgeni.
2. La presenza di disturbi ginecologici legati alle ovaie.

Raccolta dei dati

I dati riguardanti nazionalità, età, AMH, presenza di oligo/amenorrea, condizione di PCOM, e evidenze cliniche di iperandrogenismo (irsutismo e acne) sono stati raccolti dalle schede anamnestiche presso PMA dell'Ospedale San Salvatore del L'Aquila.

Analisi dei dati

Una curva AUROC è stata costruita per determinare il cut off con la migliore sensibilità e specificità dell'AMH al fine di valutare il potere diagnostico dell'AMH come biomarcatore per PCOS.

Tutti i valori analizzati sono espressi come $\text{media} \pm \text{Errore standard (SE)}$ e con intervallo di fiducia del 95% (CI). Un valore $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Lo studio statistico è stato implementato grazie a Sergeant, ESG, 2018. Epitools Epidemiological Calculators. Ausvet. Available at: <http://epitools.ausvet.com.au>.

RISULTATI

Caratteristiche dei partecipanti

Lo studio ha coinvolto 120 donne di razza caucasica tra i 22 e i 45 anni di cui 60 pazienti con diagnosi PCOS, gruppo caso, e altri 60 senza diagnosi di PCOS, gruppo controllo.

L'età media delle pazienti PCOS è lievemente superiore a quella dei controlli non mostrando una differenza statisticamente significativa.

L'indice di massa corporea (BMI) delle pazienti PCOS è lievemente superiore a quella dei controlli non mostrando una differenza statisticamente significativa.

Non ci sono differenze rilevanti tra i casi e i controlli in termini di caratteristiche di base, ad eccezione delle caratteristiche cliniche della PCOS. Le caratteristiche demografiche, cliniche ed ecografiche sia del gruppo PCOS che del gruppo non PCOS sono riassunte nella Tabella 1.

| Variabile | Gruppo PCOS | Gruppo Non PCOS | p-Value |
|-------------------------|--------------------|------------------------|----------------|
| Età (media) anni | 34,6 | 34,1 | 0.5461 |
| BMI (media) | 30,1 | 29,9 | 0.7725 |
| Irsutismo | 51 (85%) | 11 (18%) | <0.001 |
| Acne | 34 (57%) | 17(28%) | <0.001 |
| Oligo/Amenorrea | 49 (82%) | 10 (17%) | <0.001 |
| PCOM | 53 (88%) | 10 (17%) | <0.001 |

Tabella 2 - Caratteristiche demografiche, cliniche ed ecografiche del gruppo PCOS e del gruppo Non PCOS.

Confronto dei livelli di AMH

Il valore medio di AMH è stato di 6,23 ng/mL (CI: 5,47–7,00) nelle pazienti PCOS e 2,78 ng/ml (IC: 2,32-3,24) nelle pazienti Non PCOS (Tabella 3). Il gruppo PCOS ha registrato un valore dell'AMH medio del 124% superiore rispetto al valore medio dell'AMH nel gruppo Non PCOS. La differenza osservata è da considerarsi statisticamente significativa ($p < .001$).

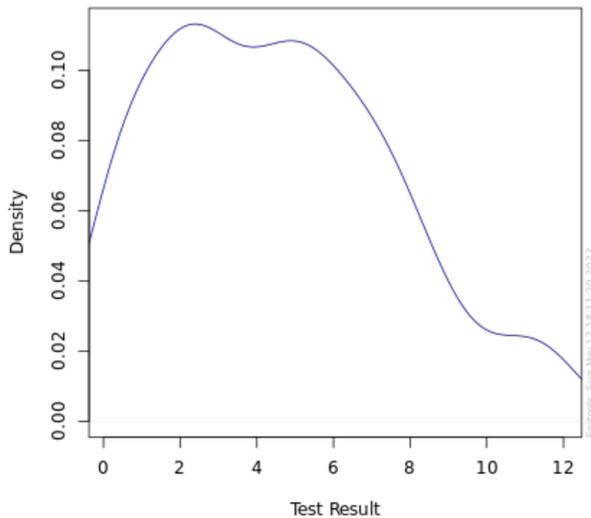


Grafico 1 – Curva di densità di tutti I risultati.

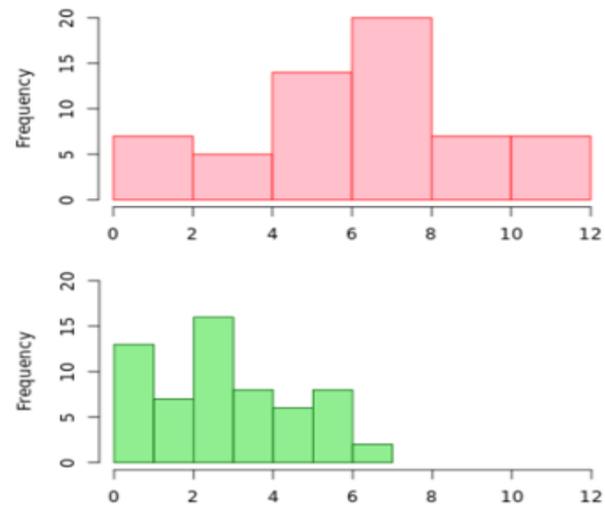


Grafico 2 – Istogramma dei livelli di AMH nel gruppo PCOS (superiore) e Non PCOS (inferiore).

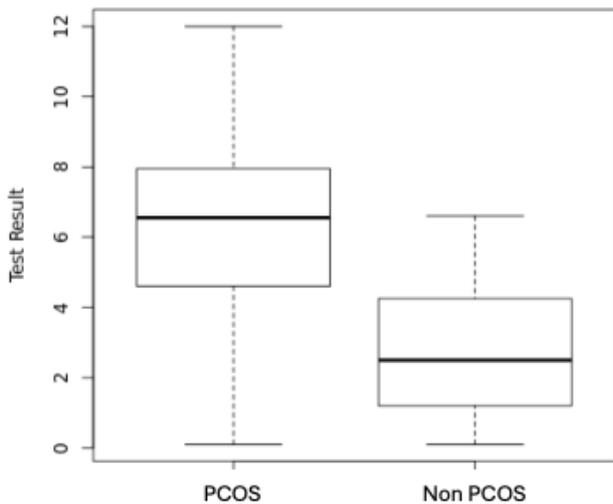


Grafico 3 - Boxplots dei livelli di AMH.

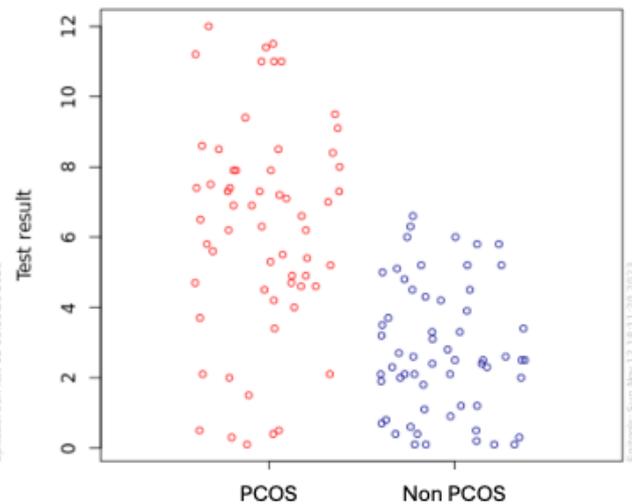


Grafico 4 - Stripchart dei livelli di AMH.

| | PCOS | | Non PCOS | | p-Value |
|--------------------|------------------------|----------------|------------------------|----------------|---------|
| | Mean (CI) | Standard Error | Mean (CI) | Standard Error | |
| AMH (ng/mL) | 6,23 (CI:5,47-7,00) | 0,39 | 2,78 (IC:2,32-3,24) | 0,24 | <0,001 |

Tabella 4 - Livelli di AMH nel gruppo PCOS e Non PCOS.

AMH cut off.

Per determinare il valore dell'AMH come criterio diagnostico di PCOS abbiamo costruito una curva ROC (Receiver Operating Characteristic curve) che analizza le prestazioni di un modello a diverse soglie di probabilità (Grafico 5).

L'area sotto la curva AUROC ha prodotto un risultato di 0.827, indicando un alto livello di precisione (Tabella 5).

In combinazione con la curva ROC abbiamo calcolato L'indice J di Youden per tutti i punti della curva potendo così calcolare il valore massimo dell'indice e di conseguenza il valore ottimale di cut off. (Grafico 6).

Il miglior valore di cut off dell'AMH è risultato di 4,6 ng/mL (32,86pmol/L) dimostrando un buon equilibrio tra specificità e sensibilità, con una specificità dell'80% e una sensibilità del 77%.

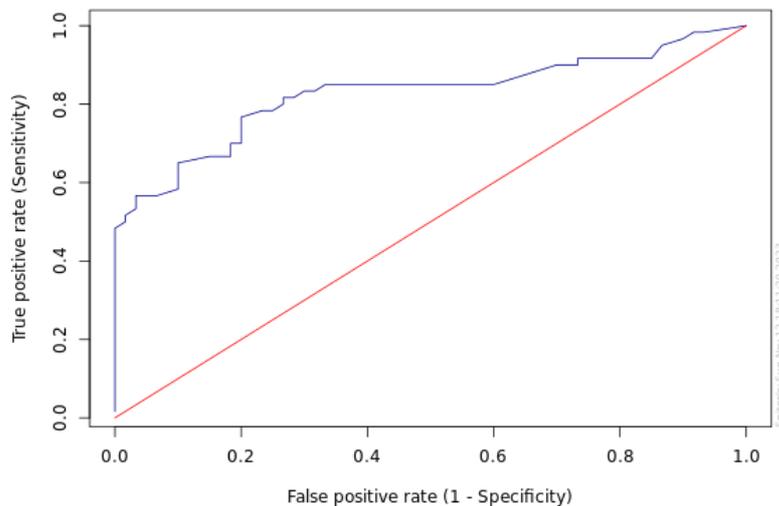


Grafico 7 - Curva ROC (Receiver Operating Characteristic Curve).

| | |
|------------------------|-------------|
| Area under curve (AUC) | 0.827 |
| 95% CI for AUC | 0.749-0.904 |

Tabella 6 - Area sotto la curva AUROC.

DISCUSSIONE

Ruolo dell'AMH nella diagnosi di PCOS

Negli ultimi anni e soprattutto nelle pazienti infertili che si rivolgono ai centri di PMA, l'uso dell'AMH si è affermato nella pratica clinica come una valida alternativa alla diagnosi ecografia di PCOS. Questo ormone ha dimostrato una stretta correlazione con il conteggio dei follicoli antrale (AFC), importante indicatore della riserva ovarica nelle donne.

Rispetto all'ecografia, l'AMH offre vantaggi significativi in quanto è più economico e non dipende dalle capacità dell'operatore nell'effettuare l'esame ultrasonografico.

Questo rende l'AMH un'alternativa promettente per la rilevazione della morfologia policistica ovarica (PCOM) e potrebbe svolgere un ruolo nella diagnosi della sindrome dell'ovario policistico (PCOS).

Questi vantaggi potrebbero essere particolarmente rilevanti in pazienti ancora virgo o in contesti culturali in cui l'esame ecografico transvaginale non è accettabile o praticabile. Inoltre, l'obesità, comune tra le donne con PCOS, può compromettere la qualità delle immagini ecografiche addominali, rendendo l'AMH un'opzione diagnostica ancora più interessante.

Il ruolo dell'AMH nella patofisiologia della PCOS ha generato un crescente interesse nella ricerca volta a esplorare l'associazione tra questo ormone e la PCOS stessa, nonché a valutare il suo potenziale nell'agevolare la diagnosi. Tuttavia, attuali linee guida non raccomandano l'uso dei livelli sierici di AMH come test per la diagnosi di PCOM o come unico test per la diagnosi di PCOS. Nonostante ciò, gli studiosi non escludono la possibilità di futuri sviluppi in questo campo.

Miglioramenti nella standardizzazione delle analisi e la validazione su larga scala potrebbero rendere i test di AMH più affidabili nella rilevazione della PCOS in futuro. Il nostro studio mira a contribuire a questo sforzo dimostrando che i livelli sierici di AMH sono significativamente più elevati nei pazienti con PCOS rispetto a quelli senza PCOS. Questo suggerisce che l'AMH potrebbe essere un utile marcatore diagnostico per la PCOS.

Inoltre, i livelli di AMH potrebbero essere utili nel guidare la gestione del trattamento, consentendo una personalizzazione delle terapie e la previsione degli esiti riproduttivi e metabolici a lungo termine. In sintesi, l'AMH emerge come un'importante risorsa nella comprensione e nella gestione della PCOS.

Sensibilità e Specificità

Il valore massimo raggiunto dall'indice di Youden è stato utilizzato come criterio per la selezione del cut-off ottimale.

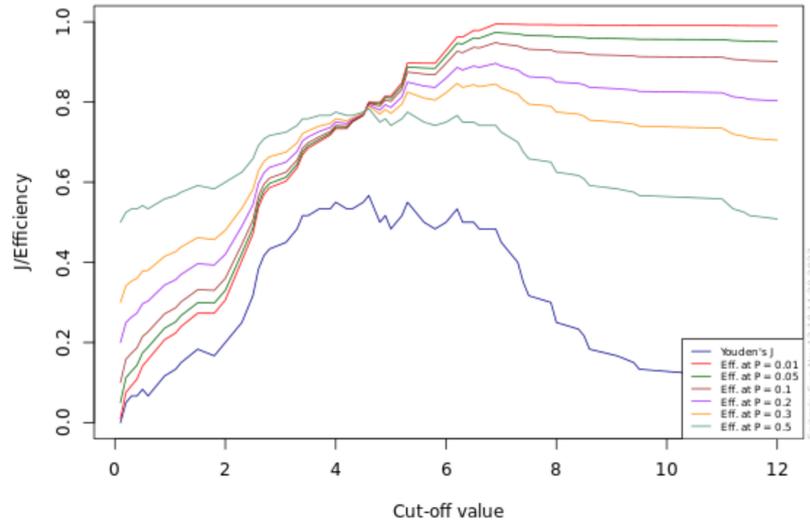


Grafico 8 - Youden's J e test Efficiency

Con una sensibilità del 77% e una specificità dell'80%, rispettivamente, la nostra ricerca ha dimostrato che il potenziale diagnostico ottimale di AMH è stato rilevato ad un cut off di 4,6 ng/mL (32,86pmol/L).

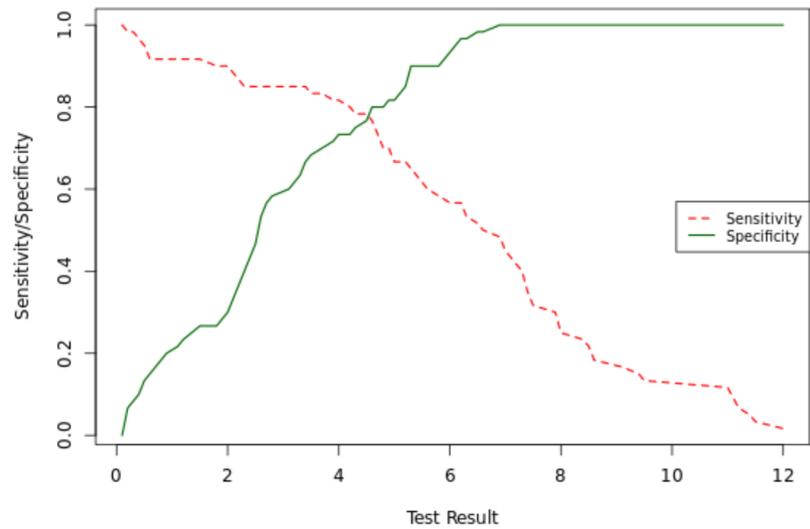


Grafico 9 - Sensibilità e Specificità – ROC Curve.

| | Cut-point | Sensitivity | Specificity |
|------------------|-----------|-------------|-------------|
| Youden's J | 4.6 | 0.767 | 0.8 |
| Eff. at P = 0.01 | 6.9 | 0.483 | 1 |
| Eff. at P = 0.05 | 6.9 | 0.483 | 1 |
| Eff. at P = 0.1 | 6.9 | 0.483 | 1 |
| Eff. at P = 0.2 | 6.9 | 0.483 | 1 |
| Eff. at P = 0.3 | 6.2 | 0.567 | 0.967 |
| Eff. at P = 0.5 | 4.6 | 0.767 | 0.8 |

Tabella 7 - Cut-points to maximise Youden's J and test Efficiency.

Altri studi hanno indagato cut off ideali di AMH per la diagnosi di PCOS, quello condotto da Dewailly e colleghi ³⁶ ha posto un cut off di 4,9 ng/mL, con una sensibilità del 76,1% e una specificità di 74,6%, rispettivamente giungendo alla conclusione che l'AMH, non solo è correlato in modo quantitativo con la conta dei follicoli antrali (AFC), ma anche il grado di iperandrogenismo, rendendo l'AMH un marcatore più accurato del numero di follicoli per ovario ³⁷.

CONCLUSIONE

In conclusione, i risultati del nostro studio confermano la forte correlazione tra AMH e PCOS, e supportano l'utilizzo dell'AMH come test di screening o come criterio aggiuntivo ai criteri di Rotterdam per la diagnosi di PCOS. La sua relazione lineare con la PCOS e il livello costantemente elevato nel corso della malattia, lo rendono uno strumento prezioso che merita attenzione. I nostri risultati, concordi con altri studi sull'argomento, ampliano le possibilità che ulteriori ricerche, utilizzando dimensioni di campione più grandi, possano giungere quanto prima alla convalida e la determinazione di un cut off di AMH globalmente accettato per la diagnosi di PCOS. La solidità dei risultati in merito a questo biomarcatore offrirà una soluzione fattibile alle sfide affrontate dai clinici e dai ricercatori che gestiscono PCOS.

Riferimenti

- 1 Bhide P, Homburg R. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2016;37:38–45.
- 2 Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, et al. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Hum Reprod.* 1995;10(8):2107–2111.
- 3 Azziz R, Carmina E, Chen Z, Dunaif A, Laven JS, Legro RS, Lizneva D, Natterson-Horowitz B, Teede HJ, Yildiz BO. Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2:16057.
- 4 Sir-Petermann T, Ladrón de Guevara A, Villarroel AC, Preisler J, Echiburú B, Recabarren S: [Polycystic ovary syndrome and pregnancy]. *Rev Med Chil.* 2012;140:919–25.
- 5 Legro, R.S.; Kusanman, A.R.; Dodson, W.C.; Dunaif, A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: A prospective, controlled study in 254 affected women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84, 165–169.
- 6 Wild, R.A.; Rizzo, M.; Clifton, S.; Carmina, E. Lipid levels in polycystic ovary syndrome: Systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* 2011, 95, 1073–1079.e1–11.
- 7 Kumarendran, B.; O'Reilly, M.W.; Manolopoulos, K.N.; Toulis, K.A.; Gokhale, K.M.; Sitch, A.J.; Wijeyaratne, C.N.; Coomarasamy, A.; Arlt, W.; Nirantharakumar, K. Polycystic ovary syndrome, androgen excess, and the risk of nonalcoholic fatty liver disease in women: A longitudinal study based on a United Kingdom primary care database. *PLoS Med.* 2018, 15, e1002542.
- 8 Dokras, A.; Bochner, M.; Hollinrake, E.; Markham, S.; Vanvoorhis, B.; Jagasia, D.H. Screening women with polycystic ovary syndrome for metabolic syndrome. *Obstet. Gynecol.* 2005, 106, 131–137.
- 9 Cooney, L.G.; Lee, I.; Sammel, M.D.; Dokras, A. High prevalence of moderate and severe depressive and anxiety symptoms in polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2017, 32, 1075–1091.
- 10 Dumesic, D.A.; Lobo, R.A. Cancer risk and PCOS. *Steroids* 2013, 78, 782–785.
- 11 Khadilkar, S.S. Polycystic Ovarian Syndrome: Is It Time to Rename PCOS to HA-PODS? *J. Obstet. Gynaecol. India* 2016, 66, 81–87.
- 12 Teede, H.; Deeks, A.; Moran, L. Polycystic ovary syndrome: A complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010, 8, 41.
- 13 Taylor, A.E.; McCourt, B.; Martin, K.A.; Anderson, E.J.; Adams, J.M.; Schoenfeld, D.; Hall, J. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997, 82, 2248–2256.
- 14 Tarkun, I.; Arslan, B.C.; Cantürk, Z.; Türemen, E.; Sahin, T.; Duman, C. Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: Relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 89, 5592–5596.
- 15 Sabuncu, T.; Vural, H.; Harma, M.; Harma, M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin. Biochem.* 2001, 34, 407–413.
- 16 Diamanti-Kandarakis, E.; Dunaif, A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanisms and implications. *Endocr. Rev.* 2012, 33, 981–1030.
- 17 Zawadzki, J.; Dunaif, A. Diagnostic Criteria for Polycystic Ovary Syndrome: Towards a Rational Approach. In *Polycystic Ovary Syndrome Current Issues in Endocrinology and Metabolism*; Dunaif, J.R., Haseltine, F.P., Merriam, G.E., Eds.; Blackwell Scientific Inc.: Boston, MA, USA, 1992; pp. 377–384, Published Online.
- 18 Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2004, 19, 41–47.
- 19 Azziz, R.; Carmina, E.; Dewailly, D.; Diamanti-Kandarakis, E.; Escobar-Morreale, H.F.; Futterweit, W.; Janssen, O.E.; Legro, R.S.; Norman, R.; Taylor, A.E.; et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: The complete task force report. *Fertil. Steril.* 2009, 91, 456–488.
- 20 Afifi, L.; Saeed, L.; Pasch, L.; Huddleston, H.; Cedars, M.; Zane, L.; Shinkai, K. Association of ethnicity, Fitzpatrick skin type, and hirsutism: A retrospective cross-sectional study of women with polycystic ovarian syndrome. *Int. J. Womens Dermatol.* 2017, 3, 37–43.
- 21 Lujan, M.E.; Chizen, D.R.; Pierson, R.A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Pitfalls and controversies. *J. Obstet. Gynaecol. Can. JOGC* 2008, 30, 671–679.
- 22 Carmina, E.; Oberfield, S.E.; Lobo, R.A. The diagnosis of polycystic ovary syndrome in adolescents. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010, 203, 201.e1–201.e5.

-
- 23 Teede, H.J.; Misso, M.L.; Costello, M.F.; Dokras, A.; Laven, J.; Moran, L.; Piltonen, T.; Norman, R.J. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2018, 33, 1602–1618.
- 24 Kim, J.J.; Hwang, K.R.; Chae, S.J.; Yoon, S.H.; Choi, Y.M. Impact of the newly recommended antral follicle count cutoff for polycystic ovary in adult women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2020, 35, 652–659.
- 25 Patel, N.; Zafar Gondal, A. Embryology, Mullerian-inhibiting Factor. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2022.
- 26 Silva, M.S.B.; Giacobini, P. New insights into anti-Müllerian hormone role in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and neuroendocrine development. *Cell Mol. Life Sci. CMLS* 2021, 78, 1–16.
- 27 Massagué, J. TGF β signalling in context. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2012, 13, 616–630.
- 28 Rey, R.; Josso, N.; Racine, C. Sexual Differentiation. In *Endotext*; Feingold, K., Anawalt, B., Blackman, M., Boyce, A., Chrousos, G., Corpas, E., de Herder, W.W., Dhatariya, K., Hofland, J., Dungan, K., et al., Eds.; MDText.com, Inc.: South Dartmouth, MA, USA, 2000.
- 29 Visser, J.A.; Mcluskey, A.; Vanbeers, T.; Weghuis, D.O.; Vankessel, A.G.; Grootegoed, J.A.; Themmen, A.P.N. Structure and chromosomal localization of the human anti-müllerian hormone type II receptor gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 215, 1029–1036.
- 30 Weenen, C.; Laven, J.S.; Von Bergh, A.R.; Cranfield, M.; Groome, N.P.; Visser, J.A.; Kramer, P.; Fauser, B.C.; Themmen, A.P. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: Potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol. Hum. Reprod.* 2004, 10, 77–83.
- 31 Bertone-Johnson, E.R.; Manson, J.E.; Purdue-Smithe, A.; Steiner, A.Z.; Eliassen, A.H.; Hankinson, S.E.; Rosner, B.A.; Whitcomb, B.W. Anti-Müllerian hormone levels and incidence of early natural menopause in a prospective study. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2018, 33, 1175–1182.
- 32 Rudnicka E, Kunicki M, Calik-Ksepka A, et al. Anti-müllerian hormone in pathogenesis, diagnostic and treatment of PCOS. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12507.
- 33 Malhotra N, Mahey R, Cheluvvaraju R, et al. Serum anti-mullerian hormone (AMH) levels among different PCOS phenotypes and its correlation with clinical, endocrine, and metabolic markers of PCOS. *Reprod Sci.* 2023;30(8):2554–2562.
- 34 Saxena U, Ramani M, Singh P. Role of AMH as diagnostic tool for polycystic ovarian syndrome. *J Obstet Gynaecol India.* 2018;68(2):117–122.
- 35 Piltonen TT, Komsu E, Morin-Papunen LC, et al. AMH as part of the diagnostic PCOS workup in large epidemiological studies. *Eur J Endocrinol.* 2023;188(6):547–554
- 36 Dewailly D, Pigny P, Soudan B, et al. Reconciling the definitions of polycystic ovary syndrome: the ovarian follicle number and serum anti-Müllerian hormone concentrations aggregate with the markers of hyperandrogenism.
- 37 Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, 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.