

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

UOC DI ENDOCRINOLOGIA

Direttore: Prof.ssa Caterina Mian

TESI DI LAUREA

**Impatto dello status iodico sugli outcomes della PMA in un
campione di donne infertili della regione Veneto**

Impact of Iodine Status on ART Outcomes in a Sample of
Infertile Women from the Veneto Region

Relatrice: Prof.ssa Caterina Mian

Correlatrice: Dott.ssa Chiara Sabbadin

Laureanda: Rachele Maria Battistin

Anno accademico 2024-2025

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1 ANATOMIA, FISIOLOGIA E PATOLOGIA DELLA TIROIDE.....	1
1.1.1 IODIO: FONTI ALIMENTARI	2
1.1.1.1 STATO IODICO: FABBISOGNO E VALORI DI RIFERIMENTO (UIC).....	3
1.1.1.2 EPIDEMIOLOGIA DELLO STATO IODICO IN VENETO..	7
1.1.2 DISFUNZIONI TIROIDEE	7
1.1.2.1 DISTURBI DA DEFICIENZA IODICA (DDI).....	8
1.2 INFERTILITÀ FEMMINILE E PMA	9
1.2.1 DEFINIZIONE	9
1.2.2 VALUTAZIONE DELLA FERTILITÀ	12
1.2.2.1 L'ORMONE ANTI-MULLERIANO (AMH)	15
1.2.2.2 CONTA DEI FOLLICOLI ANTRALI	17
1.2.3 TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA (PMA)	18
1.2.3.1 STIMOLAZIONE OVARICA CONTROLLATA E PICK-UP OVOCITARIO	19
1.2.3.2 POOR OVARIAN RESPONDER (POR)	22
1.2.3.3 ICSI E FIVET: PRINCIPI E DIFFERENZE.....	23
1.2.3.4 QUALITÀ DEGLI OVOCITI	23
1.2.3.5 QUALITÀ DEGLI EMBRIONI	25
1.3 TIROIDE, IODIO E APPARATO RIPRODUTTIVO.....	27
1.3.1 ASSE TIROIDE-OVAIO: FISIOLOGIA	27
1.3.2 DISFUNZIONI TIROIDEE E INFERTILITÀ	29
1.3.3 IMPATTO DELLO IODIO SULLA FUNZIONE RIPRODUTTIVA	31
1.3.4 STIMOLAZIONE OVARICA E TIROIDE	32
1.3.5 TIROIDE E QUALITÀ EMBRIONARIA NEI CICLI DI PMA..	34
1.3.6 DISFUNZIONI TIROIDEE E GRAVIDANZA	36
1.3.6.1 DEFICIT IODICO E GRAVIDANZA.....	38
2. SCOPO DELLO STUDIO.....	40

3.	MATERIALI E METODI.....	41
3.1	RACCOLTA DEI DATI.....	41
3.2	ENDPOINT.....	43
3.3	ANALISI DEI DATI.....	44
4.	RISULTATI.....	46
5.	DISCUSSIONE.....	57
6.	CONCLUSIONI.....	63
7.	BIBLIOGRAFIA.....	64

Background: L'asse tiroide-ovaio rappresenta un ambito consolidato di interesse nella fisiopatologia della fertilità femminile. Disfunzioni tiroidee, anche subcliniche, possono interferire con follicologenesi, ovulazione e impianto. Recenti evidenze suggeriscono che lo iodio, cofattore essenziale per la sintesi degli ormoni tiroidei, possa influenzare direttamente la riserva ovarica e i risultati delle tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA).

Scopo dello studio: Valutare lo stato iodico, mediante ioduria spot, in un campione di donne infertili candidate a PMA nella regione Veneto; analizzare le associazioni tra ioduria, funzionalità tiroidea e riserva ovarica in fase basale; esplorare l'eventuale correlazione tra ioduria (basale e sotto stimolazione ovarica) e i principali outcomes della PMA, inclusa la qualità embrionale.

Metodi: Studio osservazionale condotto presso la UOSD di PMA dell'Azienda Ospedaliera di Padova tra febbraio 2024 e maggio 2025. In fase basale sono stati misurati ioduria, TSH, fT3, AMH e AFC. In un sottogruppo di pazienti è stato eseguito un secondo dosaggio di ioduria e TSH durante la stimolazione ovarica controllata. Gli outcomes analizzati includevano numero e qualità degli ovociti e degli embrioni.

Risultati: Più del 60% delle pazienti presentava ioduria $<100 \mu\text{g/L}$, con il 41,4% in deficit severo ($<50 \mu\text{g/L}$). È emersa una correlazione significativamente positiva tra ioduria e AMH ($r = 0,15$; $p = 0,037$) e una differenza significativa nei livelli mediani di ioduria tra pazienti classificate come normal (NOR) e poor ovarian responders (POR). Non sono state osservate associazioni significative della ioduria né col TSH né con gli outcomes della PMA, inclusa la qualità embrionale. Anche nel sottogruppo con la valutazione della ioduria durante la stimolazione ovarica controllata non si è evidenziata una variazione significativa rispetto ai valori basali.

Conclusioni: I risultati del presente studio suggeriscono che un adeguato status iodico possa sostenere la funzionalità ovarica, come indicato dalla correlazione positiva tra ioduria e livelli sierici di AMH e dalla maggiore ioduria osservata nelle pazienti con risposta ovarica normale (NOR) rispetto alle poor responders (POR), secondo i criteri di Bologna. Al contrario, non sono emerse associazioni statisticamente significative tra stato iodico — né in fase basale né sotto stimolazione ovarica — e i principali outcomes della PMA, inclusi la risposta alla stimolazione e la qualità embrionale. È plausibile che, in presenza di una carenza iodica lieve-moderata, la funzione tiroidea si mantenga compensata, garantendo

l'eutiroidismo clinico, ma non necessariamente un'omeostasi endocrina ottimale per il microambiente riproduttivo. Lo iodio emerge pertanto come un potenziale modulatore della riserva ovarica, sebbene il suo ruolo sugli esiti riproduttivi resti da chiarire. Studi prospettici su campioni più ampi saranno necessari per approfondire l'impatto clinico dello stato iodico nei percorsi di PMA.

Background: The thyroid–ovary axis represents a well-established area of interest in the pathophysiology of female fertility. Thyroid dysfunctions, including subclinical forms, may interfere with folliculogenesis, ovulation, and implantation. Recent evidence suggests that iodine, an essential cofactor for thyroid hormone synthesis, may directly influence ovarian reserve and the outcomes of assisted reproductive technologies (ART).

Aim of the study: To assess iodine status, through spot urinary iodine concentration (UIC), in a cohort of infertile women undergoing ART in the Veneto region; to analyze associations between UIC, thyroid function, and ovarian reserve at baseline; and to explore the potential relationship between UIC (at baseline and during stimulation) and ART outcomes, including embryo quality.

Methods: This was an observational study conducted at the UOSD of Assisted Reproductive Technology, Azienda Ospedaliera di Padova, from February 2024 to May 2025. At baseline, UIC, TSH, fT3, AMH, and antral follicle count (AFC) were measured. In a subset of patients, UIC and TSH were reassessed during controlled ovarian stimulation. ART outcomes included the number and quality of retrieved oocytes and embryos.

Results: More than 60% of patients showed UIC <100 µg/L, with 41.4% classified as severely iodine-deficient (<50 µg/L). A statistically significant positive correlation was found between UIC and AMH levels ($r = 0.15$; $p = 0.037$), along with significantly higher median UIC in normal ovarian responders (NOR) compared to poor responders (POR), based on the Bologna criteria. No significant associations were observed between UIC and TSH, nor between UIC and ART outcomes, including embryo quality. In the subgroup of patients with UIC measured during stimulation, no significant variation was found compared to baseline.

Conclusions: These findings suggest that adequate iodine nutrition may support ovarian function, as reflected by the positive association between UIC and AMH levels and higher UIC in NOR patients. However, no statistically significant associations were observed between iodine status—either at baseline or during stimulation—and ART outcomes, including embryo quality. It is plausible that, under mild-to-moderate iodine deficiency, thyroid function remains clinically compensated, ensuring euthyroidism but potentially not optimal endocrine homeostasis within the reproductive microenvironment. Iodine may thus act as a modulator of ovarian reserve, though its role in reproductive outcomes remains

uncertain. Further prospective studies with larger sample sizes are warranted to clarify the clinical impact of iodine status in ART settings.

1. INTRODUZIONE

1.1 ANATOMIA, FISIOLOGIA E PATOLOGIA DELLA TIROIDE

La tiroide è una ghiandola endocrina posta nella parte anteriore del collo, davanti alla trachea, tra la cartilagine cricoidea e l'incisura giugulare. Si presenta con due lobi laterali uniti da una porzione centrale sottile, l'istmo. In condizioni normali pesa tra i 12 e i 20 grammi, ha una consistenza morbida e riceve un'abbondante irrorazione sanguigna.

Dal punto di vista istologico, la tiroide è costituita da follicoli, piccole strutture sferiche rivestite da cellule epiteliali che circondano una cavità contenente colloide. Questa sostanza vischiosa è ricca di tireoglobulina, una glicoproteina che funge da precursore per la sintesi di tiroxina (T4) e triiodotironina (T3). Queste molecole esercitano i loro effetti biologici tramite specifici recettori nucleari (TR α e TR β) e svolgono un ruolo cruciale durante lo sviluppo, favorendo la differenziazione cellulare e la formazione degli organi. Nell'adulto, contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi metabolica e termica.

All'interno della tiroide si trovano anche le cellule parafollicolari o cellule C, localizzate soprattutto nella zona di transizione tra il terzo superiore e i due terzi inferiori della ghiandola. Queste cellule derivano dal corpo ultimobranchiale e producono calcitonina, un ormone che contribuisce alla regolazione del calcio, anche se nel corpo umano ha un ruolo fisiologico limitato.

La secrezione ormonale è regolata dall'ormone tireotropo (TSH), che stimola la sintesi e il rilascio degli ormoni tiroidei.

Il TSH è prodotto dall'ipofisi anteriore e rappresenta un indicatore fisiologico chiave della funzione tiroidea. È costituito da due subunità: una subunità α comune ad altri ormoni glicoproteici (come LH, FSH e hCG), e una subunità β specifica per il TSH. La sua attività biologica è influenzata dal rilascio ipotalamico di TRH (thyrotropin-releasing hormone), che ne regola la sintesi e la secrezione.

L'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide rappresenta un classico esempio di circuito a feedback negativo: il TRH stimola la produzione ipofisaria di TSH, che a sua volta promuove la produzione di T3 e T4. Gli ormoni tiroidei, attraverso l'attivazione dei recettori TR β 2, inibiscono la secrezione di TSH e TRH, regolando così l'attività dell'intero asse.

Il TSH viene secreto in modo pulsatile e presenta un ritmo circadiano, con i livelli più elevati nelle ore notturne. Tuttavia, le sue oscillazioni sono meno marcate rispetto ad altri ormoni ipofisari, grazie alla sua emivita relativamente lunga (circa 50 minuti). Per questo motivo, la sua concentrazione sierica può essere valutata in modo affidabile anche con un singolo prelievo ematico. Le moderne tecniche immunochimiche permettono una misurazione sensibile e specifica del TSH, rendendolo uno strumento diagnostico essenziale per l'individuazione di condizioni di iper- o ipotiroidismo primario.

L'assorbimento dello iodio è il primo passo essenziale nella sintesi degli ormoni tiroidei. Dopo l'ingestione, lo iodio viene in parte legato a proteine plasmatiche e in parte escreto. La tiroide capta lo iodio grazie al *sodium-iodide symporter* (NIS), espresso sulla membrana basolaterale delle cellule follicolari.

Lo iodio è trasportato nel lume follicolare da *pendrina* e lì organificato dalla tireoperossidasi (TPO), con produzione di T3 e T4 attraverso reazioni di iodazione e accoppiamento su tireoglobulina. Gli ormoni vengono infine rilasciati nella circolazione tramite processi lisosomiali.

Il T4 è l'ormone tiroideo maggiormente secreto rispetto al T3 (rapporto circa 20:1) e circola legato a proteine plasmatiche come TBG, transtiretina e albumina. Solo una minima parte (0,02% del T4 e 0,3% del T3) è libera e biologicamente attiva. Il T4 rappresenta il precursore del T3, più attivo, e viene convertito tramite le deiodinasi, classificate come:

- **Tipo I:** prevalenti in fegato, rene e tiroide, bassa affinità;
- **Tipo II:** attive in cervello, ipofisi e tessuto bruno, fondamentali per la regolazione intracellulare;
- **Tipo III:** inattivanti, producono rT3, implicate nella sindrome da eutiroideo malato.

(1)

1.1.1 IODIO: FONTI ALIMENTARI

Lo iodio è un nutriente essenziale per la sintesi degli ormoni tiroidei, e la sua disponibilità dipende dalle fonti alimentari, che a loro volta sono influenzate dal

contenuto di iodio del suolo. In aree geografiche con suoli e acque carenti di iodio, le piante e gli animali ne risultano anch'essi poveri. Il ciclo naturale dello iodio, che passa dall'oceano all'atmosfera e ritorna alla terra, non è sufficiente a reintegrare adeguatamente i suoli che ne sono poveri. Lo iodio è presente in quantità generalmente basse nella maggior parte degli alimenti e delle bevande. Il contenuto varia da 3 a 80 μg per porzione, ma dipende fortemente dall'origine dell'alimento, risultando spesso insufficiente a coprire il fabbisogno giornaliero. Pesci e frutti di mare di acqua salata presentano livelli relativamente alti di iodio grazie alla loro capacità di assorbirlo dall'ambiente marino, ma non rappresentano una fonte significativa a meno che non vengano consumati regolarmente. Alcune alghe marine possono contenere concentrazioni elevate di iodio, rendendole una fonte importante per le popolazioni che ne fanno largo uso. In alcuni casi, lo iodio può essere assunto anche tramite l'acqua potabile, se proveniente da falde acquifere iodate o se trattata con disinfettanti contenenti iodio.

Il sale iodato rappresenta ancora oggi la principale fonte di iodio alimentare in molti paesi. Il contenuto dichiarato nelle etichette commerciali varia tra 15 e 80 μg per grammo di sale. Anche il latte e i derivati lattiero-caseari forniscono un buon apporto di iodio, specialmente nell'infanzia, in paesi come Stati Uniti, Canada e Svizzera. Questo contenuto è influenzato dall'alimentazione iodofortificata dei bovini e dall'uso di iodofori nella disinfezione durante la mungitura. In paesi dove l'uso del sale iodato non è regolamentato (es. Regno Unito, Norvegia), il latte rappresenta la principale fonte dietetica di iodio. Nei paesi industrializzati, il 60–80% del consumo totale di sale proviene da alimenti trasformati (pane, latticini, carni lavorate), i quali possono contenere sale iodato, ma non sempre.

Infine, un ulteriore apporto può provenire dagli integratori alimentari. (2)

1.1.1.1 STATO IODICO: FABBISOGNO E VALORI DI RIFERIMENTO (UIC)

Poiché circa il 90% dello iodio ingerito viene escreto attraverso i reni entro 24–48 ore, la concentrazione mediana dello iodio urinario (UI) nei campioni estemporanei è usata come indicatore dell'assunzione iodica recente. (3)

Sebbene nei singoli individui i livelli urinari possano variare nell'arco della giornata o tra diversi giorni, tali fluttuazioni tendono a uniformarsi quando si considera una popolazione. Numerosi studi hanno dimostrato che la misurazione delle

concentrazioni iodiche in campioni di urine del mattino o raccolti in modo occasionale è sufficiente per valutare lo stato nutrizionale iodico di una popolazione, a condizione che il numero di campioni raccolti sia adeguato. La raccolta delle urine nelle 24 ore non è necessaria, in quanto complessa da eseguire. L'uso del rapporto iodio/creatinina urinario, precedentemente adottato, è considerato oggi superfluo, costoso e impreciso, in quanto influenzato dall'apporto proteico e, di conseguenza, dall'escrezione di creatinina. Il parametro di riferimento più utilizzato è il valore mediano dell'ioduria, dato che i valori urinari nella popolazione non seguono una distribuzione normale.

La definizione di intervalli ideali per l'ioduria non è semplice: storicamente, le valutazioni sono state eseguite nei bambini in età scolare attraverso palpazione tiroidea, a cui si affiancava la misurazione della ioduria, stabilendo così i range "normali", poi estesi all'intera popolazione. Tuttavia, potrebbe essere più appropriato concentrare il monitoraggio sulle donne in età fertile o sulle adolescenti, data la loro maggiore vulnerabilità alla carenza iodica.

Le donne in gravidanza e in allattamento, a causa di un fabbisogno aumentato, richiedono intervalli di riferimento specifici. Tuttavia, la definizione di un valore mediano che soddisfi queste esigenze senza risultare eccessivo per il resto della popolazione resta complessa.

Nei bambini e nelle donne non gravide, si considera che non vi sia carenza iodica nella popolazione se la mediana della ioduria si colloca tra 100 e 299 $\mu\text{g/L}$ e se meno del 20% dei soggetti presenta valori inferiori a 50 $\mu\text{g/L}$. In particolare, per le donne non gravide e non in allattamento, una ioduria di 100 $\mu\text{g/L}$ corrisponde approssimativamente a un'assunzione giornaliera di iodio di circa 150 μg in condizioni di equilibrio.

In gravidanza, invece, il range di riferimento per escludere una carenza iodica nella popolazione è compreso tra 150 e 249 $\mu\text{g/L}$. (4)

L'apporto giornaliero raccomandato (RDA) infatti, è di 220 μg per le donne in gravidanza e 290 μg per le donne in allattamento. A tal proposito, l'American Thyroid Association raccomanda l'assunzione di integratori prenatali contenenti almeno 150 μg di iodio al giorno per tutte le gestanti e puerpere negli Stati Uniti e in Canada. (5)

Un apporto iodico giornaliero insufficiente, i cui valori di riferimento sono riportati nella Tabella I e nella Tabella II, può determinare l'insorgenza di una serie di alterazioni cliniche e condizioni patologiche, tra cui l'ipotiroidismo. Tali manifestazioni rientrano nel quadro dei Disturbi da Deficienza Iodica (IDD), che verranno approfonditi nei paragrafi successivi.(4)

L'introito giornaliero superiore a 300 µg, situazione molto più rara rispetto al deficit di iodio, dovrebbe essere evitato, in particolare in aree precedentemente affette da carenza iodica, dove la popolazione può risultare più suscettibile a sviluppare autoimmunità e/o disfunzione tiroidea. In tali contesti, un rapido incremento dell'assunzione iodica può aumentare il rischio di ipertiroidismo per un periodo che può durare anche 5–10 anni dall'introduzione del sale iodato. Superato tale intervallo, valori mediani fino a 300 µg/L non hanno dimostrato effetti avversi, a patto che la iodazione del sale sia ben controllata. Nei bambini, tuttavia, concentrazioni urinarie superiori a 500 µg/L sono associate a un aumento del volume tiroideo, segnalando possibili effetti dannosi da esposizione cronica a iodio in eccesso. (4)

Concentrazione urinaria mediana (µg/L)	Introito iodico	Status iodico
<20	Insufficiente	Severo deficit iodico
20-49	Insufficiente	Moderato deficit iodico
50-99	Insufficiente	Lieve deficit iodico
100-199	Adeguate	Adeguate introito iodico
200-299	Più che adeguato	Introito probabilmente adeguato nelle donne gravide e in allattamento, a rischio introito eccessivo per le restanti categorie di popolazione

>300	Eccessivo	Introito iodico eccessivo con potenziali effetti avversi (es. ipertiroidismo iodio-indotto)
------	-----------	---

Tabella I. Criteri epidemiologici per stabilire lo stato nutrizionale iodico di una popolazione in base alla concentrazione urinaria di iodio (UIC) mediana di bambini in età scolare (≥ 6 anni) (criteri validi per gli adulti, con l'esclusione di donne gravide e in allattamento).

Gruppo	Iodio urinario mediano (ug/l)	Assunzione di iodio	Status iodico
Donne in gravidanza	<150	Insufficiente	Insufficiente
	150-249	Adegua	Adegua
	250-499	Superiore al fabbisogno	Sovrabbondante
	≥ 500	Eccessiva	Eccessivo
Donne in allattamento e bambini <2 anni	<100	Insufficiente	Insufficiente
	≥ 100	Adegua	Adegua

Tabella II. Criteri epidemiologici per stabilire lo stato nutrizionale iodico in base alla concentrazione urinaria di iodio (UIC) di donne in gravidanza, donne in allattamento e bambini <2 anni.

(6)

1.1.1.2 EPIDEMIOLOGIA DELLO STATO IODICO IN VENETO

Da uno studio condotto nel 2020 dal Dipartimento di Endocrinologia dell'Università di Padova è stato rilevato che, nella popolazione residente nella regione Veneto — storicamente classificata come area a carenza iodica — è stato raggiunto uno stato iodico parzialmente adeguato, con un valore mediano di ioduria (UIC) pari a 111 µg/L.

Questo miglioramento è attribuibile all'avvio, nel 2005, di una campagna di profilassi iodica e all'introduzione di un monitoraggio sistematico dell'apporto iodico nei bambini in età scolare (SAC). Tuttavia, secondo le raccomandazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), affinché una popolazione possa essere considerata iodonutrita, non più del 20% dei soggetti dovrebbe presentare valori di ioduria inferiori a 50 µg/L. Nel campione analizzato, il 26% presenta ancora livelli <50 µg/L, indicativi di una carenza iodica moderata.

Questo dato evidenzia come, nonostante i progressi ottenuti, la copertura iodica nella popolazione veneta resti parzialmente insufficiente, con potenziali implicazioni sulla salute pubblica e in particolare sui gruppi più vulnerabili, come donne in età fertile e bambini. (7)

1.1.2 DISFUNZIONI TIROIDEE

Alterazioni nell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide possono portare a condizioni patologiche come l'ipotiroidismo e l'ipertiroidismo, che influenzano l'omeostasi metabolica e richiedono un trattamento per ripristinare l'equilibrio ormonale.

L'ipertiroidismo deriva da un'eccessiva secrezione ormonale, più comunemente dovuta ad una iperfunzione tiroidea autoimmune (malattia di Basedow-Graves) o nodulare (adenoma di Plummer o gozzo multinodulare). I sintomi includono perdita di peso, sudorazione, diarrea, oligomenorrea, tachicardia, ansia e iperattività.

L'ipotiroidismo è invece caratterizzato da una ridotta produzione di ormoni tiroidei. E' prevalentemente primario (per disfunzione tiroidea, principalmente causata da tiroidite cronica autoimmune, ablazione chirurgica o radioiodio-indotta e secondaria a deficit di iodio) e meno frequentemente secondario (per deficit di TSH o TRH, principalmente a seguito di patologie o interventi nella regione ipotalamo-

ipofisaria). Clinicamente, si manifesta con astenia, aumento di peso, perdita di capelli, stipsi, intolleranza al freddo e irregolarità mestruali. (1)

1.1.2.1 DISTURBI DA DEFICIENZA IODICA (DDI)

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), circa due miliardi di persone nel mondo presentano livelli insufficienti di iodio. (1)

La tiroide, di fronte a questa carenza, attiva una serie di meccanismi compensatori, principalmente mediati da un incremento della secrezione di TSH. Quando l'assunzione giornaliera di iodio scende sotto i 100 µg, l'aumento del TSH promuove l'espressione del trasportatore sodio-iodio (NIS) nelle cellule follicolari, favorendo la captazione di iodio plasmatico da parte della ghiandola. Parallelamente, si osserva una riduzione progressiva dell'escrezione urinaria di iodio, a causa dell'aumento della frazione di iodio sequestrata dalla tiroide. Il TSH stimola inoltre la proteolisi della tireoglobulina (Tg) e favorisce una maggiore produzione e rilascio di triiodotironina (T3), più attiva rispetto alla tiroxina (T4). Finché l'introito iodico resta superiore a circa 50 µg al giorno, la tiroide è in grado di mantenere livelli sufficienti di iodio, preservando la normale funzionalità ormonale. Al di sotto di questa soglia, l'apporto assoluto di iodio diviene insufficiente, con conseguente deplezione del contenuto ghiandolare e possibile sviluppo di gozzo.

Nei casi di gozzo colloide di grandi dimensioni, la struttura della tireoglobulina risulta alterata, compromettendo l'efficacia della sintesi ormonale e arrivando quindi ad una condizione patologica di ipotiroidismo. (8)

Il gozzo e l'ipotiroidismo sono solo alcune delle manifestazioni cliniche associate ai disturbi da deficienza iodica (DDI), un gruppo eterogeneo di condizioni causate da un apporto insufficiente di iodio. Tra le forme più gravi rientra il cretinismo, una sindrome caratterizzata da ritardo mentale severo, deficit motorio e alterazioni somatiche irreversibili, che si sviluppa in seguito a carenza iodica durante il periodo critico che va dal secondo trimestre di gestazione fino al terzo anno di vita. In questa fase, infatti, lo sviluppo del sistema nervoso centrale è fortemente dipendente da livelli adeguati di ormoni tiroidei.

L'impatto sulla salute pubblica risulta tuttavia ancora più rilevante nelle forme subcliniche, associate a riduzione lieve o moderata della funzione cognitiva e a un

abbassamento diffuso del potenziale intellettuale nella popolazione generale. In gravidanza, la carenza iodica è inoltre correlata a un aumentato rischio di esiti ostetrici avversi, quali aborti spontanei, mortalità perinatale, natimortalità e malformazioni congenite. (4)

1.2 INFERTILITÀ FEMMINILE E PMA

1.2.1 DEFINIZIONE

Secondo l'ultima definizione riportata nel glossario internazionale dell'OMS sulla salute riproduttiva, l'infertilità è considerata una malattia caratterizzata dall'incapacità di ottenere una gravidanza clinica dopo 12 mesi di rapporti sessuali regolari e non protetti, oppure come una condizione patologica che compromette la capacità riproduttiva dell'individuo, sia singolarmente che all'interno della coppia. La regolarità dei rapporti sessuali è un fattore determinante per il verificarsi della gravidanza.

L'OMS classifica l'infertilità come una malattia che comporta una forma di disabilità, in quanto compromette una funzione biologica fondamentale. Il termine subfertilità è spesso utilizzato come sinonimo di infertilità, sebbene indichi in generale una riduzione, più o meno marcata, della fertilità nei soggetti o nelle coppie che non riescono a concepire spontaneamente.

Mentre l'infertilità viene definita in base a una finestra temporale specifica, la sterilità rappresenta una condizione permanente di infertilità. L'infertilità può essere ulteriormente suddivisa in primaria e secondaria: si parla di infertilità primaria quando la donna non ha mai ottenuto una gravidanza clinicamente documentata, pur soddisfacendo i criteri temporali per la diagnosi. L'infertilità secondaria, invece, si riferisce all'impossibilità di ottenere una nuova gravidanza dopo che una gravidanza clinica è già stata diagnosticata in precedenza. La stessa classificazione può essere applicata anche al partner maschile in relazione al suo contributo al concepimento.

A livello globale, si stima che l'infertilità interessi tra l'8% e il 12% delle coppie in età riproduttiva. Tra le forme di infertilità femminile, quella secondaria risulta essere la più diffusa a livello mondiale.

L'età materna avanzata al momento del concepimento è considerata il principale fattore prognostico negativo per la fertilità. Tuttavia, anche lo stile di vita e i fattori

ambientali sembrano giocare un ruolo crescente nel determinare la fertilità. Tali fattori possono essere distinti in specifici per genere oppure comuni a entrambi i sessi.

I tre principali determinanti della probabilità spontanea di concepimento sono:

- a) **la durata del periodo di mancato concepimento indesiderato:** circa l'80% delle gravidanze si verifica nei primi sei cicli; la metà delle coppie che non concepisce entro tale periodo riesce a farlo nei sei mesi successivi. Dopo 12 cicli senza gravidanza, il 10% delle coppie è considerato infertile, ma oltre il 50% può comunque ottenere una gravidanza entro i successivi 36 mesi. Dopo 48 mesi, la probabilità di gravidanza spontanea è quasi nulla.
- b) **l'età della partner femminile:** la fertilità femminile inizia a declinare già tra i 25 e i 30 anni, con una marcata riduzione dopo i 35 anni. La probabilità di concepimento diminuisce progressivamente: il tasso di perdita della fertilità è del 4,5% a 25 anni, 7% a 30 anni, 12% a 35 anni, e 50% a 41 anni, arrivando a quasi il 100% a 50 anni. Tale declino è legato alla riduzione quantitativa e qualitativa degli ovociti, oltre che a disfunzioni ovulatorie e alterazioni della fase luteale. Molte donne sottovalutano l'impatto dell'età sulla fertilità e sopravvalutano l'efficacia delle tecniche di PMA nel compensarlo.
- c) **la presenza di patologie correlate alla funzione riproduttiva**

Fattori ormonali e genetici:

Malattie come l'ipogonadismo ipogonadotropo, (congenito come la sindrome di Kallmann o acquisito) e l'iperprolattinemia sono condizioni che compromettono la fertilità in entrambi i sessi.

Infezioni e malattie genetiche:

Le infezioni come la *Chlamydia trachomatis* e la *Neisseria gonorrhoeae* causano danni alle tube di Falloppio nelle donne e alterano la qualità del seme negli uomini. La fibrosi cistica, una malattia genetica, porta a infertilità maschile a causa dell'assenza congenita dei dotti deferenti e può influire sulla fertilità femminile tramite la produzione di muco cervicale denso.

Malattie sistemiche e metaboliche:

Condizioni come il diabete non controllato, la celiachia, e disfunzioni ormonali (come l'ipotiroidismo) sono collegate a infertilità. Malattie sistemiche gravi, come sepsi o insufficienza renale, possono anche impedire l'impianto dell'embrione. Disturbi metabolici, come la sindrome metabolica, influenzano la qualità del seme e la fertilità femminile.

Fattori legati allo stile di vita:

Comportamenti come l'eccessivo esercizio fisico, la dieta restrittiva, lo stress, e il consumo di sostanze (come fumo, alcol, marijuana e obesità) hanno un impatto negativo sulla fertilità. L'esercizio eccessivo può alterare l'ovulazione nelle donne e ridurre la qualità del seme negli uomini. L'alcol e la marijuana riducono la motilità e la qualità del seme, mentre l'obesità può compromettere sia la funzione ovarica che la produzione di sperma.

Fattori che affliggono la fertilità femminile:

La fertilità femminile può essere influenzata da diversi disturbi che colpiscono l'ovulazione e la capacità di concepire. L'insufficienza ovarica precoce (POI) è caratterizzata dalla cessazione delle mestruazioni prima dei 40 anni e può essere causata da fattori genetici, come la sindrome di Turner o la premutazione del gene fragile X, autoimmuni o iatrogeni (come farmaci, chirurgia, radiazioni). Un altro disturbo comune è la sindrome dell'ovaio policistico (PCOS), che causa irregolarità mestruali ed eccesso di androgeni ed è spesso complicata da complicanze metaboliche, quali insulino-resistenza e obesità, che a loro volta interferiscono con la fertilità. L'endometriosi è una malattia infiammatoria che causa infertilità a causa di aderenze, disfunzioni ormonali e uno stato infiammatorio sistemico cronico. I fibromi uterini e i polipi endometriali possono interferire con l'impianto embrionale, riducendo le probabilità di gravidanza, ma la loro resezione chirurgica può migliorare le possibilità di concepimento.

Fattori che affliggono la fertilità maschile:

La fertilità maschile può essere compromessa da diverse condizioni che riguardano la produzione e il trasporto dello sperma. L'ipogonadismo primario da patologia testicolare può essere congenito, come nel caso della sindrome di Klinefelter o delle microdelezioni del cromosoma Y,

oppure acquisito a causa di varicocele, trauma o infezioni. **Alterazioni post-testicolare**, come le ostruzioni nei dotti spermatici, possono derivare da infezioni, interventi chirurgici o malformazioni congenite, impedendo lo spostamento degli spermatozoi.

Inoltre, la qualità del seme (in termini di concentrazione, motilità e morfologia degli spermatozoi) è un altro fattore cruciale per la fertilità maschile. Oltre all'età, fattori ambientali, come la dieta, lo stile di vita, l'esposizione a sostanze chimiche endocrine, possono influire negativamente sulla qualità del seme ed il suo miglioramento può essere ottenuto con modifiche dello stile di vita, riduzione dello stress e trattamento di eventuali patologie sottostanti.

(9)

Circa il 40% delle coppie che cercano aiuto per l'infertilità presentano solitamente una combinazione di fattori, ovvero un fattore femminile combinato con un disturbo maschile. Pertanto, lo studio dell'infertilità deve sempre essere effettuato considerando la coppia nel suo insieme: l'uomo e la donna, e le interrelazioni tra di loro.

Circa il 15% delle coppie, anche dopo aver considerato tutti i fattori sopra menzionati, non mostra alterazioni oggettive che portino a una diagnosi definitiva. Queste coppie vengono quindi classificate come pazienti con infertilità idiopatica, almeno al momento della diagnosi. (10)

1.2.2 VALUTAZIONE DELLA FERTILITÀ

La valutazione diagnostica per l'infertilità viene solitamente avviata dopo 1 anno di rapporti sessuali non protetti, poiché l'80-85% delle coppie riesce a concepire entro questo periodo. La valutazione della coppia può essere iniziata anche prima che venga raggiunta la definizione di infertilità, specialmente se ci sono fattori di rischio. Se l'età della partner femminile è superiore ai 35 anni, si consiglia di avviare la valutazione dopo 6 mesi di tentativi di gravidanza. Se l'età è superiore ai 40 anni, la valutazione dovrebbe essere avviata immediatamente. La valutazione iniziale deve comprendere una storia medica dettagliata, esami di laboratorio e la consulenza pre-concezionale per entrambi i partner. Poiché possono essere

individuare molteplici cause di infertilità, è consigliabile eseguire una valutazione diagnostica completa prima di intraprendere qualsiasi trattamento.

Anamnesi e Esame Fisico:

Un'anamnesi dettagliata raccolta da entrambi i partner è fondamentale per identificare i fattori di rischio per l'infertilità. Nel caso della partner femminile, si deve raccogliere una storia ginecologica (età del menarca, frequenza mestruale, menorragia, dismenorrea, anamnesi di infezioni sessualmente trasmissibili, endometriosi, storia medica ed endocrina, esposizione a radiazioni pelviche, interventi chirurgici addominali o pelvici, uso di tabacco e alcol, assunzione di farmaci inclusi i farmaci citotossici, storia familiare di menopausa precoce, e precedenti gravidanze). Inoltre, vanno verificate la frequenza dei rapporti sessuali, la tempistica degli stessi, l'uso di metodi per rilevare l'ovulazione e eventuali problematiche legate alla disfunzione sessuale negli ultimi mesi. L'esame fisico della partner femminile deve includere la valutazione del peso, della pressione sanguigna, dell'esame tiroideo e mammario, la ricerca di segni di iperandrogenismo e un esame pelvico per valutare la dimensione dell'utero, la presenza di masse annessiali e altri fattori che potrebbero interferire con i rapporti sessuali. Allo stesso modo, deve essere raccolta una storia dettagliata nel partner maschile, con domande specifiche riguardo a infortuni o interventi chirurgici nel tratto riproduttivo maschile, orchite da parotite, esposizione a radiazioni pelviche, uso di androgeni, farmaci citotossici e altri farmaci, e fertilità con eventuali partner precedenti. L'esame del partner maschile deve comprendere la valutazione del peso, della pressione sanguigna e un esame fisico completo, compreso l'esame dei testicoli.

Ecografia pelvica

Un'ecografia pelvica addominale e transvaginale può valutare anomalie uterine (fibromi, adenomiosi, anomalie mülleriane) e annessiali (endometriosi, ovaie dall'aspetto policistico) e valutare la riserva ovarica (numero di follicoli antrali in entrambe le ovaie).

Valutazione dell'ovulazione

Le donne con cicli mestruali regolari tra i 25 e i 35 giorni di solito hanno cicli ovulatori. L'ovulazione può essere valutata utilizzando strisce per la rilevazione

dell'ovulazione a casa per rilevare l'ormone luteinizzante (LH) urinario, oppure misurando il livello di progesterone nel sangue 7 giorni dopo l'ovulazione.

Isterosalpingografia

L'isterosalpingografia (HSG) viene eseguita durante la fase follicolare per valutare la pervietà delle tube di Falloppio, iniettando un mezzo di contrasto radiopaco attraverso la cervice nell'utero e valutando il flusso del mezzo di contrasto attraverso una o entrambe le tube. Oltre a identificare patologie tubariche, l'HSG può rilevare anomalie intrauterine come polipi, fibromi sottosierosi e aderenze. Sebbene il valore predittivo negativo della HSG per valutare la pervietà tubarica sia elevato, il valore predittivo positivo è relativamente basso. E' interessante il riscontro di tassi di gravidanza più alti nelle donne dopo un test HSG rispetto a quelle che non lo hanno effettuato, probabilmente a causa del "lavaggio" tubarico. Le opzioni alternative che vengono sempre più utilizzate comprendono l'iniezione di un contrasto salino agitato attraverso la cervice nell'utero. La pervietà tubarica viene valutata dimostrando il passaggio del contrasto salino agitato attraverso le tube o l'accumulo nella cavità pelvica visibile tramite ecografia. La sonografia con infusione salina è più accurata nel valutare patologie intrauterine come polipi e cicatrici rispetto alla HSG e può essere combinata con la valutazione ecografica della pelvi.

Valutazione della Riserva Ovarica

La valutazione della riserva ovarica include la misurazione del FSH e dell'estradiolo nel giorno 2 o 3 del ciclo mestruale e del livello di ormone antimülleriano (AMH) nel sangue. Questi test, combinati con l'età della partner femminile e il numero di follicoli antrali misurati tramite ecografia, possono identificare una riserva ovarica ridotta e fornire informazioni sull'urgenza di iniziare il trattamento. AMH e il numero dei follicoli antrali sono anche utilizzati per determinare le dosi iniziali di gonadotropine per i trattamenti di fertilità. Tuttavia, questi marcatori della riserva ovarica non predicono la probabilità di gravidanza e di parto vivo.

Esami Endocrini

Nelle donne con mestruazioni irregolari, dovrebbero essere eseguiti degli approfondimenti ormonali (quali la misurazione dei livelli di TSH, prolattina e androgeni nel sangue) per identificare possibili cause di anovulazione.

Analisi del Seme

Il campione di seme viene raccolto dopo 2 massimo 7 giorni di astinenza e fornisce una valutazione del numero di spermatozoi, della loro motilità e morfologia, del volume e del pH. Sebbene ci sia una sovrapposizione significativa tra i parametri del seme di uomini fertili e infertili, coloro che presentano parametri spermatici anormali secondo i criteri dell'OMS (l'oligoasthenozoospermia è definita come un numero di spermatozoi <15 milioni/mL, motilità <40% e morfologia normale <4%) dovrebbero sottoporsi a un esame fisico e ulteriori indagini endocrine (FSH, LH, prolattina, TSH) e genetiche (cariotipo e microdelezione del cromosoma Y).

Screening Genetico

A tutte le coppie può essere offerto uno screening genetico pre-concezionale, basato su etnia, storia familiare o condizioni autosomiche recessive comuni.

Da notare che laparoscopia diagnostica, test postcoitale, biopsia endometriale, test per la trombofilia, immunologici e il cariotipo non sono indicati come parte della valutazione iniziale dell'infertilità. (1)

1.2.2.1 L'ORMONE ANTI-MULLERIANO (AMH)

L'ormone anti-Mülleriano (AMH) è una glicoproteina appartenente alla famiglia del fattore di crescita trasformante beta (TGF- β), inizialmente nota per il suo ruolo nella differenziazione sessuale maschile durante lo sviluppo embrionale. Attualmente, l'AMH è utilizzato principalmente come marcatore della funzione ovarica, in particolare per la valutazione della riserva ovarica e per la diagnosi della sindrome dell'ovaio policistico (PCOS).

L'AMH è prodotto dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici in fase di crescita, a partire dallo stadio primordiale fino al follicolo antrale di piccole dimensioni. Dopo la selezione follicolare mediata dal FSH, la sua espressione tende a ridursi, pur restando in parte presente nelle cellule del cumulo dei follicoli preovulatori. L'AMH non è rilevabile nei follicoli atresici né nei corpi lutei.

Dato che l'AMH è quindi espresso dai follicoli ovarici in crescita, il suo livello sierico rappresenta un indicatore indiretto, ma affidabile, della riserva ovarica, in particolare per una valutazione di tipo quantitativo. La riserva ovarica totale è

determinata dalla quantità e qualità dei follicoli primordiali, i quali vanno incontro a una progressiva deplezione con l'avanzare dell'età.

Studi iniziali hanno evidenziato una forte correlazione tra i livelli sierici di AMH e il numero di follicoli antrali piccoli, entrambi soggetti a un declino con l'età. L'AMH riflette quindi principalmente la riserva ovarica funzionale (FOR), composta dai follicoli di 2–5 mm di diametro, potenzialmente reclutabili tramite la stimolazione con FSH. È importante sottolineare che l'AMH non riflette direttamente la riserva ovarica totale, spesso confusa con la popolazione di follicoli primordiali.

In studi condotti sia su modelli murini sia sull'uomo, è stato osservato che l'AMH riflette in modo affidabile la FOR a tutte le età, ma solo nelle donne in età riproduttiva avanzata può correlare, in parte, anche con la riserva ovarica totale.

I livelli di AMH tendono a decrescere con l'età, iniziando a calare già intorno ai 25 anni, fino a diventare non rilevabili alla menopausa. Tuttavia, questo declino non è lineare e può variare in base alla fascia d'età e ad altri fattori. Significative variazioni interindividuali sono state osservate anche tra donne della stessa età, con differenze etniche documentate: le donne di etnia cinese tendono ad avere livelli più elevati di AMH ma una diminuzione più marcata nel tempo, mentre le donne afroamericane mostrano valori generalmente più bassi, ma con un declino più lento.

L'AMH viene generalmente dosato nella fase follicolare precoce del ciclo mestruale, anche se alcune evidenze suggeriscono che i suoi livelli possano fluttuare nel corso del ciclo, soprattutto nelle donne più giovani. La variabilità inter-ciclo può influenzare l'accuratezza della stima della FOR, pur non essendo così marcata come per altri ormoni.

Diversi fattori estrinseci influenzano i livelli di AMH. È stata osservata una correlazione inversa con l'indice di massa corporea (BMI): l'obesità può ridurre i livelli di AMH senza necessariamente riflettere una reale diminuzione della riserva funzionale. Anche la vitamina D è stata associata alla regolazione dell'AMH, probabilmente tramite un effetto sulla sopravvivenza dei follicoli preantrali. (11)

1.2.2.2 CONTA DEI FOLLICOLI ANTRALI

I follicoli ovarici, unità funzionali dell'ovaio, ospitano l'ovocita e sono avvolti da cellule della granulosa. Si distinguono in quattro principali stadi maturativi: primordiali, primari, secondari e terziari (antrali). La riserva ovarica corrisponde al numero di follicoli primordiali presenti alla nascita, che va incontro a un fisiologico declino con l'età. Questi follicoli, di dimensioni inferiori a 0,05 mm, non sono rilevabili tramite ecografia transvaginale.

I follicoli primordiali, in stato di quiescenza, sono formati da un ovocita circondato da un singolo strato di cellule piatte della granulosa. Il loro passaggio allo stadio successivo dipende da un delicato equilibrio tra segnali di crescita e meccanismi apoptotici. Con l'attivazione, le cellule della granulosa diventano cubiche e iniziano a proliferare: si formano così i follicoli primari, che sviluppano anche la zona pellucida, una membrana glicoproteica che isola l'ovocita. Nei follicoli secondari, la componente stromale si differenzia in teca interna e teca esterna, separate da una rete vascolare.

La comparsa di una cavità piena di liquido, denominata antra follicolare, caratterizza il follicolo terziario o antrale. Tali follicoli diventano visibili all'ecografia solo quando raggiungono un diametro ≥ 2 mm, momento in cui acquisiscono maggiore sensibilità alla stimolazione da parte dell'FSH. I follicoli con diametro tra 2 e 10 mm vengono definiti reclutabili, mentre quelli di dimensioni superiori (>10 mm) sono considerati dominanti.

La conta dei follicoli antrali (AFC) viene effettuata tramite ecografia transvaginale, includendo generalmente quelli con diametro compreso tra 2 e 10 mm.

La conta dei follicoli antrali (AFC) è ampiamente riconosciuta come uno dei parametri più affidabili per la valutazione della riserva ovarica funzionale, utile sia per predire la risposta alla stimolazione con gonadotropine sia per stimare la probabilità di successo di una procedura di fecondazione in vitro (IVF). Un AFC ridotto ($<5-7$ follicoli) è associato a una bassa risposta ovarica, minore numero di ovociti recuperati e tassi di gravidanza inferiori. Al contrario, valori pari o superiori a 20 follicoli sono correlati a una risposta ovarica eccessiva, con conseguente rischio aumentato di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS).

Il conteggio follicolare è particolarmente indicato nelle donne con età superiore ai 35 anni che cercano una gravidanza da oltre sei mesi, o in quelle a rischio di diminuita riserva ovarica, come in caso di pregressi trattamenti gonadotossici (chemioterapia, radioterapia) o interventi chirurgici sull'ovaio (es. per endometriomi). Inoltre, l'AFC può essere utilizzato per affinare la predizione del rischio di aneuploidie fetali e per stimare l'età della menopausa: un $AFC \leq 4$ è associato a un rischio maggiore di menopausa entro 7 anni (35%) rispetto a un $AFC > 4$ (13%).

L'AFC rappresenta uno strumento predittivo importante anche in termini quantitativi: consente di anticipare il numero di ovociti che verranno presumibilmente prelevati dopo stimolazione ovarica e quindi il potenziale tasso di successo di un ciclo IVF, anche nel lungo termine (tasso cumulativo di gravidanza). Tuttavia, una bassa riserva ovarica non implica necessariamente una ridotta capacità di concepimento spontaneo, sottolineando la necessità di un'interpretazione clinica contestualizzata. (12)

1.2.3 TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA (PMA)

Le tecniche di PMA includono l'insieme delle procedure che implicano la manipolazione di gameti femminili e maschili, o di embrioni, nell'ambito di un percorso clinico finalizzato al conseguimento di una gravidanza.

La classificazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita in primo, secondo e terzo livello si fonda su criteri di complessità procedurale e grado di invasività tecnica. Le linee guida adottano il principio secondo cui il percorso terapeutico deve privilegiare, in prima istanza, le opzioni più semplici, meno invasive e meno onerose, tenendo in considerazione fattori determinanti quali l'età della donna e l'eziologia, quando identificabile, dell'infertilità o sterilità di coppia.

Tecniche di I livello

Comprendono interventi a bassa invasività, eseguibili senza anestesia e con minime manipolazioni:

- Inseminazione intrauterina (sopracervicale) in ciclo spontaneo, con utilizzo di liquido seminale opportunamente trattato.

- Stimolazione ovarica controllata con successiva inseminazione intrauterina mediante seme preparato in laboratorio.
- Crioconservazione eventuale dei gameti maschili.

Le inseminazioni sopracervicali consistono nell'introduzione degli spermatozoi in utero (IUI), in peritoneo (IPI), oppure mediante perfusione tubarica (FSP).

Tecniche di II livello

Si tratta di procedure più complesse, generalmente eseguibili in regime ambulatoriale, con anestesia locale e/o sedazione:

- Fecondazione in vitro con trasferimento dell'embrione (FIVET).
- Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI).
- Prelievo testicolare dei gameti (percutaneo o tramite biopsia testicolare).
- Crioconservazione di gameti maschili e femminili, nonché di embrioni, nel rispetto della normativa vigente.
- Trasferimento intratubarico di gameti (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET), mediante approccio transvaginale ecoguidato o isteroscopico.

Tecniche di III livello

Comprendono interventi ad alta complessità, che richiedono anestesia generale con intubazione e accesso chirurgico maggiore:

- Prelievo microchirurgico di gameti direttamente dal testicolo.
- Prelievo laparoscopico degli ovociti.
- Trasferimento intratubarico di gameti (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET) per via laparoscopica.

(13)

1.2.3.1 STIMOLAZIONE OVARICA CONTROLLATA E PICK-UP OVOCITARIO

L'ovulazione è il processo naturale attraverso il quale un ovocita maturo viene rilasciato dal follicolo ovarico per essere disponibile alla fecondazione. Il processo di ovulazione avviene in risposta alla fluttuazione degli ormoni durante il ciclo mestruale, che è regolato dall'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio.

- **Fase follicolare** (inizia il primo giorno delle mestruazioni): l'ipotalamo

rilascia GnRH (ormone di rilascio delle gonadotropine), che stimola l'ipofisi a produrre FSH (ormone follicolo-stimolante). L'FSH stimola la crescita e la maturazione dei follicoli ovarici. Durante questa fase, uno dei follicoli diventa dominante e inizia a produrre estradiolo.

- **Picco di LH e ovulazione** (verso la metà del ciclo): quando il livello di estradiolo raggiunge una soglia critica, l'ipofisi stimola un picco di LH (ormone luteinizzante) che innesca l'ovulazione. Il picco di LH porta alla rottura del follicolo dominante, liberando l'ovocita maturo nella tuba di Falloppio, dove può essere fecondato.
- **Fase luteale**: dopo l'ovulazione, il follicolo vuoto si trasforma nel corpo luteo, che produce progesterone per preparare l'utero ad accogliere un eventuale embrione. Se non avviene la fecondazione, il corpo luteo regredisce e il livello di progesterone cala, provocando le mestruazioni. (14)

La **stimolazione ovarica controllata (Controlled Ovarian Stimulation, COS)**, emulando la fisiologia dell'ovulazione, rappresenta una fase centrale dei protocolli di procreazione medicalmente assistita (PMA) ed è finalizzata alla crescita multipla di follicoli, per aumentare il numero di ovociti disponibili per il prelievo e la fecondazione in vitro. Questo processo si articola in tre componenti principali:

1. **Somministrazione di gonadotropine esogene** per indurre una crescita multifollicolare.
2. **Utilizzo di analoghi del GnRH (agonisti o antagonisti)** per sopprimere la funzione ipofisaria e prevenire un picco endogeno prematuro di LH, che potrebbe compromettere il ciclo.
3. **Induzione della maturazione ovocitaria finale**, eseguita 36–38 ore prima del prelievo ovocitario, per sincronizzare l'ovulazione e ottimizzare il recupero degli ovociti maturi.

Le gonadotropine utilizzate includono preparazioni urinarie, come la gonadotropina menopausale umana (hMG), che contiene sia FSH che LH, e forme purificate di FSH (p-FSH e hp-FSH). Sono inoltre disponibili formulazioni ricombinanti di FSH (rFSH) e LH (rFSH/rLH), che offrono un maggiore controllo e standardizzazione della risposta ovarica. In alcuni casi selezionati, viene proposto anche un ciclo naturale, senza stimolazione

farmacologica, mirato al recupero di un singolo ovocita, ma questa pratica è ancora poco diffusa.

Per quanto riguarda la soppressione ipofisaria, esistono diversi protocolli. Nel "protocollo lungo", un agonista del GnRH viene somministrato almeno due settimane prima dell'inizio della stimolazione ovarica e proseguito fino al momento del trigger. Il "protocollo corto", invece, prevede la somministrazione contemporanea dell'agonista e della stimolazione, sempre fino al momento della maturazione ovocitaria. Un'alternativa diffusa è l'uso di **antagonisti del GnRH**, iniziati pochi giorni dopo l'avvio della stimolazione e continuati fino all'induzione dell'ovulazione, con un tempo di trattamento complessivamente più breve rispetto agli agonisti.

La fase finale della stimolazione prevede la somministrazione di un farmaco per indurre la maturazione ovocitaria, simulando il picco endogeno di LH. I farmaci più utilizzati a questo scopo sono la gonadotropina corionica umana (hCG), impiegata nella maggior parte dei cicli, oppure un agonista del GnRH, in particolare nei protocolli con antagonisti. (15)

Completata la stimolazione ovarica, e verificata la maturazione follicolare, si passa alla fase successiva: il prelievo ovocitario (pick-up), che consente di recuperare gli ovociti maturi direttamente dai follicoli.

Inizialmente, il prelievo ovocitario (OPU) veniva eseguito per via laparoscopica sotto anestesia generale, ma a causa della sua natura invasiva è stato progressivamente sostituito. Attualmente, la tecnica standard prevede l'aspirazione transvaginale eco-guidata dei follicoli, effettuata in regime ambulatoriale. Le modalità anestesologiche variano da sedazione cosciente (la più comune, impiegata nel 95% dei casi negli Stati Uniti) ad anestesia locale, epidurale, spinale o generale, a seconda delle pratiche regionali e della preferenza del centro.

Il timing dell'OPU è fondamentale e viene pianificato 34–36 ore dopo la somministrazione dell'hCG; in pazienti con prevalente produzione di ovociti immaturi, può essere utile ritardare il prelievo a 36–39 ore per aumentare la quota di ovociti maturi.

Dopo l'aspirazione follicolare, i liquidi prelevati vengono trasferiti in terreni di coltura tamponati con HEPES per mantenere un pH fisiologico. Su piastra

riscaldata a 37 °C, i complessi cumulo-ovocita (COC) vengono identificati e separati da coaguli ematici o detriti. La valutazione della maturità ovocitaria si basa su criteri morfologici: gli ovociti immaturi (in fase di vescicola germinativa o metafase I) si presentano circondati da un cumulo compatto, mentre quelli maturi (in metafase II) mostrano un'espansione delle cellule del cumulo e uno strato coronale ben visibile. I COC vengono quindi trasferiti in terreni di coltura mantenuti a 37 °C in atmosfera con 5% di CO₂.

Il campione seminale è solitamente raccolto tramite masturbazione subito prima o dopo il prelievo ovocitario. La preparazione degli spermatozoi avviene con tecniche di “swim-up” o gradienti di densità, al fine di isolare spermatozoi mobili di elevata qualità. La capacitazione viene indotta incubando lo sperma in terreni arricchiti di proteine per un periodo variabile tra 30 minuti e 4 ore. (16)

1.2.3.2 POOR OVARIAN RESPONDER (POR)

La stimolazione ovarica nella fecondazione in vitro (IVF) ha come obiettivo il reclutamento di più follicoli, al fine di compensare le limitazioni legate alla coltura embrionale, alla selezione degli embrioni da trasferire e al successivo impianto. Una risposta inadeguata a tale stimolazione riflette solitamente una ridotta attività follicolare, con conseguente diminuzione del numero di ovociti recuperati.

Attualmente, per definire una risposta ovarica scarsa (Poor Ovarian Response, POR) è necessario che siano presenti almeno due dei seguenti tre criteri (definiti come i “criteri di Bologna”):

- (i) età materna avanzata (≥ 40 anni) o presenza di altri fattori di rischio per POR;
- (ii) una precedente risposta inadeguata (≤ 3 ovociti ottenuti con protocollo di stimolazione convenzionale);
- (iii) un test di riserva ovarica alterato, come un'antral follicle count (AFC) inferiore a 5–7 follicoli o un livello di ormone antimülleriano (AMH) compreso tra <0.5 e 1.1 ng/ml.

Anche in assenza di età avanzata o test di riserva ovarica patologico, due cicli con risposta ovarica scarsa nonostante una stimolazione massimale sono sufficienti per

porre diagnosi di POR. Essendo il termine POR strettamente correlato alla risposta ovarica dopo stimolazione, è necessaria almeno una stimolazione per una diagnosi definitiva. Tuttavia, nelle pazienti con più di 40 anni e contemporanea alterazione dei parametri di riserva ovarica, è possibile classificare il quadro come "expected POR", ovvero una risposta ovarica attesa come ridotta, in quanto l'età e i valori di ORT costituiscono indicatori indiretti ma attendibili della potenziale risposta a un ciclo stimolato. (17)

1.2.3.3 ICSI E FIVET: PRINCIPI E DIFFERENZE

La scelta tra inseminazione convenzionale (definita come IVF/FIVET) e ICSI dipende dalla concentrazione finale di spermatozoi mobili post-processamento. In caso di IVF convenzionale, l'inseminazione avviene 4–6 ore dopo il prelievo; ogni ovocita maturo viene incubato con 50.000–100.000 spermatozoi/mL per 12–18 ore a 37 °C, in atmosfera controllata. La fecondazione è confermata dopo 18 ore attraverso l'identificazione di due pronuclei e l'espulsione del secondo globulo polare. I tassi di fecondazione con IVF classica variano tra il 50% e il 70%. Gli ovociti in metafase I possono essere posti in coltura per la maturazione in vitro (IVM), ma gli embrioni derivati da IVM mostrano tassi di successo inferiori.

La tecnica ICSI (Iniezione Intracitoplasmatica dello Spermatozoo) consente la fecondazione bypassando l'interazione naturale tra spermatozoo e zona pellucida (ZP), rappresentando una soluzione efficace nei casi di severa compromissione del fattore maschile.

ICSI viene eseguita su ovociti maturi in metafase II (MII). Prima della microiniezione, le cellule del cumulo sono rimosse tramite trattamento con ialuronidasi, sia per confermare la maturità ovocitaria che per migliorare la visibilità dell'ovocita durante la procedura. Lo spermatozoo selezionato deve essere morfologicamente normale e motile. (16)

1.2.3.4 QUALITÀ DEGLI OVOCITI

Per comprendere i parametri morfologici utilizzati nella valutazione degli ovociti, è utile descriverne brevemente la struttura e le caratteristiche funzionali. L'ovocita umano maturo ha un diametro di circa 150 µm ed è costituito da una cellula (circa 110–115 µm) circondata dalla zona pellucida, un involucro

glicoproteico di 15–20 μm , e dallo spazio perivitellino, dove può essere visibile il primo corpo polare, segno di maturità meiotica (metafase II). Il citoplasma, detto ooplasma, contiene mitocondri, reticolo endoplasmatico e apparato di Golgi, ed è essenziale per la fertilizzazione e lo sviluppo iniziale.

L'ovocita è inoltre circondato dal cumulus oophorus, un insieme di cellule follicolari che sostengono la maturazione e la comunicazione con l'ovocita tramite giunzioni cellulari. Durante l'ovulazione o la stimolazione con hCG, il cumulo si espande e si separa dalla zona pellucida, segnando la preparazione alla fecondazione. La morfologia delle cellule della granulosa raccolte durante il prelievo ovocitario può fornire ulteriori indizi sullo stadio di maturazione follicolare.

L'analisi morfologica dell'ovocita, sebbene comunemente utilizzata, non è sempre precisa nel predire la qualità dell'ovocita. In particolare, nella fecondazione convenzionale in vitro, la presenza del complesso cumulo-corona può ostacolare una valutazione accurata al momento del prelievo ovocitario.

La classificazione morfologica tradizionale si basa sull'espansione del cumulo: ovociti in metafase II mostrano una corona radiata ben evidente e una matrice cumulare espansa, quelli in metafase I presentano un'espansione intermedia, mentre l'assenza di espansione indica generalmente una fase di profase I. Tuttavia, nei casi in cui il processo maturativo del cumulo non coincide con quello dell'ovocita – ad esempio in seguito a un calo dei livelli di estradiolo durante la stimolazione – questa classificazione può risultare inaffidabile.

Attualmente, i principali parametri morfologici utilizzati per valutare la qualità ovocitaria includono:

1. **Complesso cumulo-ovocitario:** grado di compattezza e spessore del cumulo, luminosità del citoplasma.
2. **Citoplasma:** presenza di granuli (dimensione e distribuzione), colore, aggregati di organelli come vacuoli o reticolo endoplasmatico.
3. **Globulo polare:** forma, dimensione, integrità della membrana.
4. **Zona pellucida:** spessore e struttura.
5. **Spazio perivitellino:** ampiezza e presenza di granuli.
6. **Fuso meiotico:** localizzazione e riflettività.

L'impiego dell'ICSI consente una valutazione più dettagliata della morfologia ovocitaria, poiché prevede la rimozione delle cellule del cumulo e della corona radiata. Solo gli ovociti in metafase II sono considerati idonei per questa tecnica; quelli in metafase I, a causa dei bassi tassi di fecondazione, vengono utilizzati solo in assenza di MII disponibili, mentre gli ovociti in profase I e quelli di dimensioni eccessive (spesso associati a triploidia diginica) dovrebbero essere scartati.

Gli ovociti morfologicamente adeguati in metafase II si distinguono per un citoplasma chiaro, leggermente granuloso, uno spazio perivitellino di dimensioni contenute, un globulo polare integro e una zona pellucida trasparente e priva di colorazione. (16)

1.2.3.5 QUALITÀ DEGLI EMBRIONI

Non appena lo spermatozoo ha penetrato l'ovocita, quest'ultimo completa la seconda divisione meiotica e forma il pronucleo femminile. Contemporaneamente, la zona pellucida si modifica diventando impenetrabile ad altri spermatozoi, impedendo così la polispermia.

Intanto, la testa dello spermatozoo si separa dalla coda, si rigonfia e si trasforma nel pronucleo maschile. Una volta che entrambi i pronuclei hanno replicato il proprio DNA, il materiale genetico materno e paterno si mescola, i cromosomi si duplicano e si dividono mitoticamente, portando alla formazione del primo stadio a due cellule.

Dopo la fecondazione, lo zigote compie la prima divisione mitotica entro 24–30 ore, generando due blastomeri. Segue una serie di segmentazioni non sincrone, che portano a stadi con 3, 4 o 5 cellule. Entro il terzo giorno, l'embrione raggiunge lo stadio di morula (8–16 cellule), dove le cellule iniziano a compattarsi grazie all'Ecaderina.

Al quarto giorno, l'embrione raggiunge le 32–64 cellule. Le cellule esterne si differenziano in trofoblasto, quelle interne in massa cellulare interna (ICM). Il trofoblasto forma giunzioni strette e richiama acqua formando il blastocele, portando alla formazione della blastocisti (giorno 4–5), che è polarizzata tra polo embrionale (ICM) e polo abembrionale (blastocele). Il trofoblasto si divide in polare e murale. (16)

Le modificazioni morfologiche e funzionali che si verificano nello zigote post-fecondazione sono oggetto di rigorosa osservazione nei laboratori di procreazione medicalmente assistita (PMA), al fine di valutare il potenziale di sviluppo embrionale. La qualità dell'embrione viene determinata mediante un insieme integrato di parametri morfologici, cinetici, genetici e metabolici. Tra questi si annoverano: la tempistica della segmentazione, la sincronia e regolarità delle divisioni cellulari, il numero e la disposizione spaziale delle blastomere, la simmetria cellulare, l'estensione della frammentazione citoplasmatica, l'eventuale presenza di blastomeri multinucleati, il grado di compattazione, la qualità del citoplasma (trasparenza, granularità omogenea), l'assenza di vacuolizzazioni e la distribuzione ordinata degli organelli intracellulari.

Questi indicatori vengono utilizzati per assegnare un punteggio di qualità embrionale, parametro determinante nella scelta del numero di embrioni da trasferire in utero o sottoporre a crioconservazione. Sebbene l'embrione possa essere monitorato anche in altre fasi, nella pratica clinica la valutazione più rilevante ai fini del transfer o della crioconservazione avviene generalmente al terzo o al quinto giorno di sviluppo. Il trasferimento allo stadio di blastocisti (giorno 5) è associato a tassi di impianto superiori, in virtù di una maggiore sincronizzazione tra lo sviluppo dell'embrione e la finestra di recettività endometriale. Le blastocisti, infatti, sembrano possedere un potenziale impiantativo più elevato rispetto agli embrioni in fase di clivaggio precoce (giorni 2–3). Secondo la letteratura, un embrione di ottima qualità è definito dall'assenza di blastomeri multinucleati, dalla presenza di $\leq 20\%$ di frammenti anucleati e da una segmentazione completa con 4–5 blastomeri al giorno 2 oppure ≥ 7 al giorno 3. (16)

Più nel dettaglio, la valutazione morfologica degli embrioni al **terzo giorno** di sviluppo post-fecondazione rappresenta un elemento prognostico rilevante per il potenziale di sviluppo e per il successo dell'impianto. I parametri comunemente considerati includono il numero di blastomeri (che riflette il tasso di clivaggio), la morfologia cellulare e il grado di frammentazione citoplasmatica. Diversi studi hanno dimostrato che una conta cellulare compresa tra sette e nove blastomeri, e in particolare la presenza di otto cellule al day 3, si associa ai più alti tassi di formazione di blastocisti, impianto e gravidanza clinica. Embrioni con meno di sette o più di nove cellule mostrano, invece, una riduzione significativa di tali esiti

favorevoli, probabilmente per un'aumentata incidenza di anomalie cromosomiche, come le aneuploidie.

Anche la percentuale di frammentazione gioca un ruolo fondamentale: livelli superiori al 50% sono associati a scarsa evolutività e a ridotte probabilità di impianto. Van Royen et al. hanno proposto criteri stringenti per definire un “embrione di alta qualità” al day 3, includendo la presenza di 4-5 blastomeri al secondo giorno, almeno 7 al terzo, l'assenza di blastomeri multinucleati e una frammentazione inferiore al 20%. Tali criteri sono stati impiegati in studi clinici prospettici che hanno dimostrato tassi di impianto e di gravidanza significativamente più elevati nei casi in cui veniva trasferito un singolo embrione di alta qualità, rispetto a trasferimenti doppi, pur mantenendo un buon bilancio tra efficacia riproduttiva e riduzione delle gravidanze multiple. (16)

Per quanto riguarda la valutazione morfologica delle **blastocisti (day 5–6)**, il sistema di classificazione di Gardner e Schoolcraft è uno dei più diffusi e accreditati. Esso prevede una prima numerazione da 1 a 6, in base al grado di espansione del blastocele e allo stato di “hatching” (fuoriuscita dalla zona pellucida). A partire dallo stadio 3 (blastocisti pienamente espansa), si procede alla valutazione della massa cellulare interna (ICM) e del trofoectoderma (TE), secondo un sistema alfabetico qualitativo: grado A indica strutture compatte e ben organizzate, B evidenzia una coesione intermedia, mentre C è indice di scarsa organizzazione e minor numero cellulare. Questa classificazione multidimensionale consente una selezione più accurata degli embrioni da trasferire, ottimizzando i tassi di impianto e riducendo i rischi associati a trasferimenti multipli. (16)

1.3 TIROIDE, IODIO E APPARATO RIPRODUTTIVO

1.3.1 ASSE TIROIDE-OVAIO: FISIOLOGIA

I livelli plasmatici di ormoni tiroidei influenzano numerosi meccanismi coinvolti nel corretto funzionamento dell'asse gonadico, dalla maturazione sessuale, alla regolarità mestruale, alla fertilità e al mantenimento della gravidanza, crescita fetale e fase postnatale.

In ogni fase dello sviluppo follicolare, segnali di tipo autocrino, paracrino ed endocrino regolano il destino dei follicoli verso la crescita o l'atrofia.

Tra questi segnali figurano gli ormoni tiroidei, T3 e T4, presenti anche nel fluido follicolare umano. (18)

Lo sviluppo dei follicoli ovarici infatti, attraversa diverse tappe, che comprendono: follicolo primordiale, follicolo primario, follicolo secondario, follicolo preantrale e follicolo antrale. L'ovocita, durante questo processo, è circondato da strati di cellule della granulosa, che svolgono un ruolo fondamentale nel garantire un adeguato supporto allo sviluppo ovcitario. L'importanza degli ormoni tiroidei nel controllo delle funzioni riproduttive femminili è evidenziata dalla presenza del recettore per il TSH e dei recettori per gli ormoni tiroidei (TR α 1, TR α 2 e TR β 1) sia sulla superficie delle cellule epiteliali ovariche che all'interno degli ovociti e delle cellule della granulosa, con espressioni differenti a seconda delle fasi dello sviluppo follicolare. Anche l'endometrio mostra un'espressione modulata di queste proteine, che varia durante le diverse fasi del ciclo mestruale.

Gli ormoni tiroidei, inoltre, potenziano l'azione dell'FSH nell'attivazione delle cellule della granulosa, favorendo così il processo di differenziazione cellulare, riducendo l'apoptosi, aumentando l'espressione dei recettori per l'LH e stimolando l'attività di enzimi come la 3 β -idrossisteroidodeidrogenasi (3 β -HSD) e l'aromatasi, con un conseguente incremento dei livelli di estrogeni circolanti.

Agiscono anche indirettamente sulla funzione dell'asse gonadotropo, regolando la secrezione di prolattina (PRL), gonadotropin-releasing hormone (GnRH), proteine di trasporto degli ormoni sessuali come la Sex Hormone Binding Globulin (SHBG), e alcuni specifici fattori della cascata coagulativa.

Gli ormoni tiroidei sono poi essenziali per l'impianto embrionale e per le prime fasi di sviluppo fetale, esercitando le loro azioni sulla placenta e sull'endometrio, inclusa la modulazione dell'invasività dei trofoblasti extravillosi. (19)

Oltre all'azione sistemica degli ormoni tiroidei sulla funzione ovarica, è stato ipotizzato un ruolo diretto a livello follicolare.

Recenti evidenze hanno documentato, in diverse specie animali (conigli, cavalle, scrofe), la presenza nel liquido follicolare di un'attività di 5'-monodeiodinasi (5'MD), un enzima in grado di convertire T4 in T3 mediante la deiodinazione dell'anello esterno. Questa attività consente una produzione locale di T3 a livello ovarico — definita “ovarian-born” — indipendente dai livelli circolanti di ormoni tiroidei.

Il T3 prodotto localmente sembra svolgere un ruolo importante nella maturazione follicolare e nell'amplificare la risposta delle cellule della granulosa all'FSH. Sebbene questo meccanismo non sia ancora stato confermato con certezza nell'essere umano, suggerisce l'esistenza di una possibile regolazione intraovarica mediata dagli ormoni tiroidei. (20)

1.3.2 DISFUNZIONI TIROIDEE E INFERTILITÀ

Nelle donne in età fertile, l'eziologia più frequente di **ipertiroidismo** è rappresentata dalla malattia di Graves (GD), una condizione autoimmune che interessa circa lo 0,4–1,0% prima della gravidanza e lo 0,2% durante la gestazione. L'eccesso di ormoni tiroidei altera significativamente l'assetto endocrino femminile. In particolare, stimolano la sintesi epatica della globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG) attraverso meccanismi mediati dal fattore nucleare epatico HNF-4 α , sensibile allo stato metabolico dell'organismo; un aumento della SHBG è secondario anche a un incremento dei livelli di estradiolo e a una ridotta clearance metabolica dell'estradiolo stesso. L'ipertiroidismo determina inoltre un aumento della produzione di androgeni, quali testosterone e androstenedione, favorendo la loro conversione periferica rispettivamente in estradiolo ed estrone. Questi squilibri ormonali sono responsabili di un'incidenza di irregolarità mestruali significativamente più alta, stimata fino a 2,5 volte rispetto alla popolazione generale.

Anche altre proteine di trasporto come la corticosteroid-binding globulin (CBG) e la thyroxine-binding globulin (TBG) risultano influenzate dalla condizione tiroidea. Infine, nelle pazienti affette da malattia di Graves è stata osservata una secrezione aumentata dell'ormone luteinizzante (LH) rispetto ai soggetti eutiroidei, suggerendo un'ulteriore interferenza della disfunzione tiroidea sull'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi.

Durante la gravidanza, la prevalenza dell'**ipotiroidismo** clinico e subclinico è riportata rispettivamente nello 0,3–0,5% e nel 2–5% dei casi. Le eziologie differiscono in base allo stato iodico della popolazione: nelle aree a sufficienza iodica prevalgono le forme autoimmuni, mentre nelle regioni con carenza iodica persistente, la deficienza nutrizionale rappresenta la causa più rilevante. (21)

A livello endocrino, l'ipotiroidismo interferisce con l'equilibrio del sistema riproduttivo femminile attraverso molteplici meccanismi. Una ridotta concentrazione degli ormoni tiroidei induce un incremento compensatorio della TRH ipotalamica, che a sua volta stimola il rilascio di prolattina. L'iperprolattinemia conseguente può alterare la pulsatilità del GnRH e inibire la secrezione di FSH e LH, compromettendo l'ovulazione. (22)

Parallelamente, si osservano alterazioni del metabolismo degli steroidi sessuali: la clearance metabolica di androstenedione ed estrone risulta ridotta, mentre l'aumentata aromatizzazione periferica eleva le frazioni libere di testosterone ed estradiolo. Tuttavia, le concentrazioni totali di questi ormoni sono spesso ridotte, in relazione alla diminuzione della SHBG. Queste alterazioni sono clinicamente rilevanti, in quanto associate a disturbi mestruali in circa l'80% delle donne ipotiroidee. (21)

Un'ulteriore implicazione dell'ipotiroidismo nella fertilità riguarda la riserva ovarica. Diversi studi hanno evidenziato come un aumento dei livelli di TSH possa essere correlato a una riduzione della funzionalità ovarica, testimoniata da valori elevati di FSH al terzo giorno del ciclo (>14 IU/L), ridotto antral follicle count (AFC <5) e bassa risposta a stimolazione ovarica controllata. In una coorte di 239 donne infertili, quelle con diagnosi di infertilità idiopatica presentavano livelli di TSH significativamente più elevati rispetto a quelle con fattore maschile, con una proporzione doppia di soggetti con TSH $>2,5$ mIU/L nel primo gruppo. (21)

Un'ampia indagine retrospettiva condotta su 2.568 donne cinesi sottoposte a PMA ha confermato che le pazienti con ipotiroidismo subclinico e età ≥ 35 anni presentavano livelli più elevati di FSH, un minor numero di follicoli antrali e valori di AMH significativamente ridotti rispetto ai controlli eutiroidei. (23)

In uno studio non controllato, il trattamento con levotiroxina (25–150 $\mu\text{g}/\text{die}$) ha portato al concepimento spontaneo nel 77% di 94 donne infertili con TSH $> 4,2$ mU/L entro un anno. Analogamente, un'analisi retrospettiva ha riportato un tasso di concepimento dell'84,1% in donne con ipotiroidismo subclinico (TSH $> 3,0$ mU/L) trattate con LT4, associato a una riduzione della durata dell'infertilità.

Oltre a migliorare il tasso di gravidanza clinica, si ha anche una riduzione del rischio di aborto e un incremento del tasso di nati vivi.

Alla luce della variabilità fisiologica del TSH e delle attuali evidenze, appare prudente considerare la somministrazione di LT4 nelle pazienti con TSH > 2,5 mU/L che si sottopongono a tecniche di PMA. (5)

In questo contesto si inserisce anche il ruolo della tiroidite autoimmune (TAI), la più frequente causa di ipotiroidismo nelle aree iodio-sufficienti. È stata documentata l'espressione della tiroperossidasi (TPO) nelle cellule della granulosa mature, suggerendo un possibile coinvolgimento diretto della TAI nella fisiologia e patologia ovarica. Le ipotesi patogenetiche principali includono:

1. Un'espressione di autoimmunità sistemica, con attivazione delle cellule natural killer;
2. Un effetto diretto degli autoanticorpi tiroidei sul tessuto ovarico;
3. Una compromissione della fertilità secondaria al deterioramento progressivo della funzione tiroidea. (21)

A supporto di queste ipotesi, una meta-analisi condotta su quattro studi ha evidenziato una maggiore prevalenza di subfertilità nelle donne positive agli autoanticorpi tiroidei rispetto ai controlli, con un odds ratio pari a 1,5 (IC 95%: 1,1–2,0). Questo dato rafforza il sospetto di un'associazione tra TAI e infertilità idiopatica, sottolineando l'importanza della valutazione della funzionalità tiroidea e della presenza di autoimmunità anche in assenza di segni clinici conclamati. (24)

1.3.3 IMPATTO DELLO IODIO SULLA FUNZIONE RIPRODUTTIVA

In uno studio, è emerso che le donne con livelli urinari di iodio indicativi di una carenza da moderata a severa presentavano tempi significativamente più lunghi per ottenere una gravidanza, con una riduzione del 46% della probabilità di concepimento per ciclo rispetto alle donne con un adeguato stato iodico. (22)

In un altro studio sperimentale condotto su modelli animali, è stato osservato che la supplementazione iodica ha determinato un netto miglioramento della fertilità: nei soggetti ovini trattati, il tasso di fertilità è passato dal 37% (gruppo di controllo) al 100% (gruppo supplementato). (25)

Alcuni meccanismi biologici possono spiegare questi risultati. L'organismo umano non è in grado di sintetizzare lo iodio, un micronutriente essenziale per la sintesi

degli ormoni tiroidei, e deve pertanto assumerlo attraverso la dieta. Un apporto insufficiente di iodio determina ipotiroidismo, condizione che, come è stato sopra trattato, può influire negativamente su vari aspetti della funzione ovarica, tra cui la follicologenesi, l'ovulazione e la maturazione del corpo luteo, compromettendo in ultima analisi la fertilità. (26)

Il ruolo diretto dello iodio a livello ovarico emerge dall'osservazione che la sua concentrazione varia in funzione dello stato riproduttivo: è minore nei periodi prepuberale e postmenopausale, mentre aumenta durante la fase di sviluppo follicolare e si riduce nel corso della gravidanza. Le analisi condotte su diverse specie animali evidenziano differenze significative, influenzate anche dal momento in cui viene prelevato il tessuto ovarico. L'accumulo iniziale di iodio si verifica a livello delle pareti dei follicoli di Graaf e, con il tempo, si concentra progressivamente nel liquido follicolare, raggiungendo un picco alcune ore dopo. La captazione dello iodio da parte dell'ovaio sembra essere mediata dall'espressione del simportatore sodio-ioduro (NIS), un trasportatore già noto per il suo ruolo chiave nella tiroide. Sebbene la quantità di NIS nell'ovaio sia inferiore rispetto ad altri organi, la sua presenza suggerisce una funzione specifica nella modulazione dell'ambiente follicolare. Come nel tessuto tiroideo, anche a livello ovarico la captazione dello iodio può essere bloccata da sostanze inibitrici come tiocianato, perclorato o alte concentrazioni di ioduro. (20)

Alla luce di queste evidenze, è plausibile che una condizione di carenza iodica possa compromettere la fertilità anche indipendentemente dallo sviluppo di ipotiroidismo, agendo direttamente a livello ovarico. Ciò rafforza l'importanza di garantire uno stato iodico adeguato nelle donne in età fertile, soprattutto in contesti di ricerca di gravidanza o accesso alla PMA.

1.3.4 STIMOLAZIONE OVARICA E TIROIDE

L'iperstimolazione ovarica controllata, è stata associata a una riduzione dei livelli di FT4 e a un aumento del TSH, indicando una minore disponibilità di ormoni tiroidei a livello tissutale.

Il meccanismo ipotizzato alla base di tali variazioni coinvolge un rapido aumento degli estrogeni indotto dalla stimolazione ovarica, che stimola la produzione e la glicolizzazione della globulina legante la tiroxina (TBG), prolungandone l'emivita.

L'incremento di TBG porta a un aumento della T4 totale e a una riduzione della frazione libera (FT4), determinando un incremento compensatorio del TSH tramite il normale meccanismo di feedback endocrino. (27)

La variazione dei livelli di TSH è risultata particolarmente evidente nelle donne che hanno poi ottenuto una gravidanza e nelle pazienti sottoposte a trattamento per ipotiroidismo. (28)

È stato poi osservato anche un incremento significativo della FT4; infatti, l'hCG utilizzato per il trigger ovulatorio potrebbe stimolare direttamente la ghiandola tiroidea, attenuando la riduzione della FT4.

Un'origine centrale di tali modificazioni di TSH e FT4 è considerata improbabile, in quanto non esistono evidenze di un'azione diretta di estrogeni o hCG sull'asse ipotalamo-ipofisario.

Le variazioni nei livelli di TSH e FT4 riscontrate nella fase iniziale della gravidanza ottenuta tramite PMA risultano analoghe a quelle osservate nelle gravidanze spontanee, con un picco iniziale del TSH seguito da una sua progressiva riduzione e da un incremento ritardato della FT4, mediato dall'aumento graduale dei livelli di hCG. (29)

Sebbene non vi sia ancora raccomandazione per l'introduzione di uno screening universale del TSH sierico nelle donne eutiroidee sottoposte a stimolazione ovarica controllata (COH) per fecondazione in vitro (FIVET), i dati attualmente disponibili forniscono un'indicazione attendibile sull'incremento atteso dei livelli di TSH. Questo consente un approccio più individualizzato al monitoraggio della funzione tiroidea, integrando il valore basale di TSH, lo stato autoanticorpale tiroideo e l'esito del test di gravidanza, al fine di identificare le pazienti che potrebbero beneficiare di una rivalutazione del TSH a 2–3 settimane dalla COH.

Particolare attenzione clinica deve essere riservata alle donne con ipotiroidismo in trattamento sostitutivo, nelle quali l'incremento dei livelli di TSH risulta particolarmente marcato. In tali casi, appare indicato un monitoraggio rigoroso della funzione tiroidea dopo COH, con tempestiva rimodulazione della terapia con levotiroxina (LT4), se necessario.

Infine, secondo le attuali raccomandazioni della American Thyroid Association, la valutazione della funzione tiroidea dovrebbe essere idealmente effettuata prima o

entro 1–2 settimane dalla COH, poiché i risultati ottenuti durante la stimolazione ovarica possono risultare di complessa interpretazione. (28)

Uno studio recente ha valutato l'effetto della supplementazione iodica sulla funzione tiroidea in donne eutiroidee sottoposte a stimolazione ovarica controllata (COH). È emersa una marcata variabilità nell'assunzione di iodio, con dosaggi che andavano dall'assenza di integrazione fino a circa tre volte la dose raccomandata. La supplementazione cronica (≥ 150 mcg/die per oltre sei mesi) si associava a un aumento progressivo del TSH durante la COH, in particolare nella fase peri-impianto, suggerendo una risposta simile all'ipotiroidismo subclinico. Questa alterazione non era presente nelle pazienti con assunzione dietetica o integrazione inferiore ai sei mesi.

L'esposizione iodica prolungata sembrerebbe compromettere l'adattamento della tiroide alle aumentate richieste ormonali della COH, probabilmente a causa di un mancato escape dall'effetto di Wolff–Chaikoff. Dopo il prelievo ovocitario, si osservava un calo della tireoglobulina (Tg) e un ulteriore incremento del TSH, indicativi di una temporanea deplezione funzionale. Inoltre, la maggior parte delle pazienti con β -hCG positivo non mostrava il consueto incremento della Tg in gravidanza precoce.

Nonostante l'assenza di differenze nei parametri embriologici, le pazienti con supplementazione prolungata mostravano un trend verso maggiori perdite precoci di gravidanza, mentre quelle con integrazione più breve avevano tassi di parto vivo più alti. (30)

1.3.5 TIROIDE E QUALITÀ EMBRIONARIA NEI CICLI DI PMA

Negli ultimi anni, il legame tra funzionalità tiroidea e risultati delle tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA) ha suscitato grande interesse e acceso numerosi dibattiti. Tale attenzione è giustificata, in particolare dal punto di vista epidemiologico, poiché l'impiego delle tecniche di PMA è in costante aumento e i disturbi della tiroide sono molto comuni tra le donne in età fertile. A conferma di ciò, la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) ha recentemente riportato che una percentuale compresa tra lo 0,8% e il 4,1% dei nati in Europa è concepita attraverso fecondazione in vitro (IVF). (31)

I dati disponibili indicano che, nelle donne con ridotta riserva ovarica (LFOR), la qualità embrionaria risulta simile sia nei soggetti con livelli di TSH nel range basso-normale che in quelli con valori nel range alto-normale.

Tuttavia, nei casi con TSH ≤ 2.5 $\mu\text{IU/mL}$, la presenza di anticorpi anti-tireoperossidasi (TPO) sembra influire negativamente sulla qualità embrionaria. Nei soggetti con TSH nel range alto-normale, un ulteriore aumento dei valori di TSH, e potenzialmente anche la positività agli anticorpi TPO, sembrano compromettere la qualità embrionaria. (32)

Altri studi hanno dimostrato che il trattamento con levotiroxina (LT4) nelle pazienti con ipotiroidismo subclinico sottoposte a IVF/ICSI migliora la qualità degli embrioni e favorisce l'impianto embrionario. Tali osservazioni suggeriscono che l'ipotiroidismo subclinico può avere un effetto dannoso su questi parametri, effetto che può essere corretto mediante la somministrazione di LT4 già a partire dal primo giorno di stimolazione ovarica controllata (COS). La qualità embrionaria inferiore e il tasso di impianto ridotto osservati nel gruppo non trattato potrebbero essere attribuiti sia all'elevazione del TSH che alla riduzione dei livelli di FT4. (33)

Nonostante l'evidente ruolo della funzione tiroidea, ad oggi non sono disponibili evidenze dirette sul possibile impatto dello stato iodico — elemento essenziale per la sintesi ormonale — sulla qualità embrionaria. Tale carenza conoscitiva assume particolare rilevanza nell'ambito della procreazione medicalmente assistita (PMA), dove l'ottimizzazione di ogni parametro endocrino e metabolico può influenzare significativamente gli esiti riproduttivi.

Lo iodio, come riportato nei paragrafi precedenti, è un micronutriente essenziale per la sintesi sistemica degli ormoni tiroidei, da cui dipendono numerosi processi fisiologici, tra cui la regolazione della funzione ovarica.

Oltre a questa funzione sistemica, vi sono crescenti evidenze che suggeriscono un possibile ruolo diretto dello iodio a livello ovarico: come discusso nei paragrafi 1.3.1 e 1.3.3, l'ovaio non è solo un organo bersaglio degli ormoni tiroidei, ma esprime anche enzimi coinvolti nella loro attivazione locale, nonché il simporto sodio-ioduro (NIS), implicato nella captazione dello iodio, suggerendo un possibile coinvolgimento diretto di questo elemento nella regolazione del microambiente follicolare.

Alla luce di queste premesse, il presente studio si propone di contribuire a colmare questa lacuna, esplorando per la prima volta l'eventuale associazione tra ioduria e qualità embrionaria in un campione di donne sottoposte a PMA.

1.3.6 DISFUNZIONI TIROIDEE E GRAVIDANZA

Sebbene il presente lavoro si concentri principalmente sulla fase pre-concezionale e sul rapporto tra iodio, funzione ovarica e qualità ovocitaria ed embrionaria nei cicli di PMA, è opportuno ricordare che la funzione tiroidea e lo stato iodico assumono un ruolo critico anche nel corso della gravidanza. Alterazioni della funzione tiroidea, in particolare ipotiroidismo e carenza iodica, sono associate a un aumentato rischio di aborto spontaneo, parto pretermine, ritardo della crescita intrauterina e, nei casi più gravi, danno neurocognitivo fetale. Questa prospettiva rafforza ulteriormente l'importanza di un adeguato compenso tiroideo sin dalla fase preconcezionale.

La gravidanza determina importanti modificazioni fisiologiche che influenzano la funzione tiroidea, tra cui l'aumento dell'escrezione renale di iodio, della produzione di ormoni tiroidei e delle proteine leganti la tiroxina, oltre all'azione stimolante dell'hCG sui recettori del TSH. In risposta, il sistema tiroideo si adatta modulando il metabolismo ormonale, l'assorbimento dello iodio e l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide.

Questi cambiamenti rendono necessari intervalli di riferimento specifici per TSH e FT4 nelle donne in gravidanza. Già dalla settima settimana, si osserva un aumento progressivo di TBG e tiroxina totale, con un picco alla sedicesima settimana e valori elevati fino al termine della gestazione. Nel primo trimestre, l'hCG stimola la tiroide, inducendo un incremento degli ormoni tiroidei e una conseguente riduzione del TSH. Di conseguenza, fino al 15% delle gestanti presenta un TSH <0,4 mU/L nel primo trimestre, percentuale che diminuisce nel secondo (10%) e terzo trimestre (5%).

L'ipotiroidismo materno in gravidanza si distingue in forma manifesta (TSH elevato e FT4 ridotto) e subclinica (TSH elevato con FT4 normale). L'ipotiroidismo manifesto è associato a un aumento del rischio di complicanze ostetriche (aborto, parto prematuro, basso peso, ipertensione) e a effetti negativi sullo sviluppo neurocognitivo del feto, soprattutto in assenza di trattamento.

L'ipotiroidismo subclinico ha un'associazione più controversa con esiti avversi: alcuni studi mostrano un aumento del rischio di aborto e parto prematuro, soprattutto con TSH >4.0 mU/L o in presenza di anticorpi anti-TPO, ma i dati sono discordanti. I grandi trial randomizzati non hanno evidenziato benefici chiari del trattamento sullo sviluppo cognitivo dei figli, probabilmente per l'avvio tardivo della terapia.

L'ipotiroidemia isolata (FT4 basso con TSH normale) è stata associata a possibili effetti negativi sullo sviluppo neurologico del bambino, ma le implicazioni ostetriche restano incerte. Il trattamento con LT4 non ha mostrato benefici sul QI e può comportare rischi se induce ipertiroidismo, sottolineando l'importanza di un equilibrio ormonale adeguato in gravidanza.

Nelle donne in età fertile, l'eziologia più comune dell'ipertiroidismo è la malattia di Basedow-Graves (GD), con una prevalenza stimata tra lo 0,4% e l'1,0% nel periodo pregravidico, e pari a circa lo 0,2% durante la gravidanza.

Altre cause includono adenoma tossico, gozzo multinodulare tossico, tiroiditi subacute, forme rare come adenomi ipofisari TSH-secernenti, struma ovarii e assunzione esogena di ormoni tiroidei.

In gravidanza, la forma più frequente è la tireotossicosi transitoria gestazionale, limitata al primo trimestre, causata dall'effetto stimolante dell'hCG sulla tiroide. Colpisce l'1-3% delle gravidanze e si associa spesso a iperemesi gravidica, una condizione caratterizzata da vomito severo, perdita di peso, disidratazione e chetonuria. Altre condizioni associate a tireotossicosi hCG-mediata includono gravidanza multipla, mola idatiforme e corioncarcinoma.

In rari casi, è stata descritta una mutazione attivante del recettore del TSH che determina un'aumentata sensibilità funzionale all'hCG, configurando una forma rara di ipertiroidismo gravidico.

Durante il primo trimestre è fisiologico osservare un TSH ridotto per l'azione tireostimolante dell'hCG, soprattutto tra la 7^a e l'11^a settimana. In circa il 5% delle gravidanze, il TSH può risultare <0,1 mU/L. In presenza di TSH soppresso, è necessario valutare FT4 e FT3 per distinguere la tireotossicosi fisiologica da quella patologica.

1.3.6.1 DEFICIT IODICO E GRAVIDANZA

La carenza alimentare di iodio nella madre compromette la sintesi degli ormoni tiroidei sia materni che fetali. Tale deficienza induce un incremento compensatorio della secrezione ipofisaria di TSH, che stimola l'iperplasia tiroidea e può comportare lo sviluppo di gozzo materno e fetale. In regioni affette da grave iodocarenza, fino al 30% delle gestanti può presentare noduli tiroidei.

La carenza iodica severa è stata correlata a un aumentato rischio di aborto spontaneo, morte endouterina, e incremento della mortalità neonatale e infantile.

Gli ormoni tiroidei svolgono un ruolo critico nello sviluppo del sistema nervoso centrale fetale, inclusi processi come la migrazione neuronale e la mielinizzazione. La carenza di iodio compromette tali funzioni, incidendo negativamente sulla sintesi ormonale materno-fetale e determinando effetti avversi sul neuro-sviluppo. In casi estremi, la deficienza iodica può causare cretinismo, sindrome neurologica severa caratterizzata da deficit intellettivo profondo, sordomutismo e rigidità motoria. Attualmente, la carenza iodica rappresenta la principale causa prevenibile di disabilità intellettiva a livello globale.

La carenza iodica materna lieve o moderata è stata anche associata a deficit cognitivi e disturbi neurocomportamentali, tra cui disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) nei figli.

In contesti di carenza iodica severa, la supplementazione con iodio prima del concepimento o nelle prime fasi della gravidanza ha determinato un miglioramento della performance cognitiva nei figli e una riduzione dell'incidenza di cretinismo e anomalie neurologiche gravi. La tempistica dell'intervento supplementare risulta cruciale: benefici neurocognitivi sembrano svanire se l'integrazione viene avviata oltre le 10–20 settimane di gestazione.

Inoltre, ha contribuito a ridurre la mortalità neonatale e perinatale. L'assunzione orale di olio iodato si è rivelata efficace anche nell'aumentare il peso alla nascita.

Otto trial controllati condotti su donne gravide europee con carenza iodica da lieve a moderata hanno documentato una riduzione costante dei volumi tiroidei materni e neonatali e dei livelli di tireoglobulina (Tg) in risposta alla supplementazione iodica. Tuttavia, gli effetti sulla funzione tiroidea materna sono stati eterogenei: una riduzione significativa del TSH materno è stata riscontrata in quattro degli otto

studi, mentre l'aumento del T4/FT4 materno è stato riportato solo in due. Inoltre, la riduzione del TSH cordonale è considerata un indicatore di miglioramento dello stato iodico gestazionale. (5)

2. SCOPO DELLO STUDIO

Questo studio si propone di esplorare il possibile coinvolgimento dello stato iodico nella fisiopatologia dell'infertilità femminile, con particolare attenzione ai casi idiopatici, e di valutarne l'impatto sugli esiti della PMA.

Si intende quindi verificare se la ioduria basale — utilizzata come indicatore dello stato nutrizionale iodico — sia associata sia ai principali parametri riproduttivi, sia alla funzione tiroidea. L'attenzione si focalizza in particolare sulla correlazione tra ioduria e riserva ovarica, stimata tramite i livelli sierici di ormone antimülleriano (AMH) e la conta ecografica dei follicoli antrali (AFC), considerati marcatori chiave della fertilità femminile.

Viene inoltre analizzata l'eventuale associazione tra lo stato iodico e gli outcomes della PMA, tra cui il numero e la maturità degli ovociti recuperati, nonché la qualità e lo sviluppo degli embrioni osservati in laboratorio.

Nel complesso, lo studio mira a contribuire alla comprensione delle interazioni tra funzione tiroidea, metabolismo iodico e funzione riproduttiva, con particolare riferimento ai meccanismi che potrebbero influenzare la riserva ovarica e la qualità gametica anche in assenza di patologie tiroidee manifeste.

3. MATERIALI E METODI

Si tratta di uno studio osservazionale monocentrico, svolto presso l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale (UOSD) di Procreazione Medicalmente Assistita dell'Azienda Ospedale-Università di Padova. La raccolta dati ha interessato 205 pazienti di sesso femminile, valutate tra febbraio 2024 e maggio 2025 per problematiche di infertilità, previa acquisizione di consenso informato (studio approvato dal comitato etico locale).

Sono state incluse nello studio pazienti con funzionalità tiroidea nella norma, definita da valori di TSH entro i range di riferimento. Il campione comprendeva sia pazienti eutiroidee non in trattamento, sia pazienti in terapia sostitutiva stabile con levotiroxina, mantenenti uno stato di eutiroidismo.

Per quanto riguarda la distribuzione etnica, il campione era costituito in larga maggioranza da donne di etnia caucasica (84,9%).

3.1 RACCOLTA DEI DATI

Dei 205 casi totali:

- 198 pazienti presentavano un valore disponibile di ioduria basale. Per queste pazienti, è stata analizzata la funzionalità tiroidea basale e lo stato di fertilità.
- 49 di queste 198 pazienti sono state sottoposte a stimolazione ovarica controllata nell'ambito di un percorso di procreazione medicalmente assistita (PMA), per le quali è stato raccolto un set completo di dati relativi agli outcomes della stimolazione e della successiva fecondazione in vitro. Tutte le pazienti sottoposte a stimolazione ovarica sono state trattate con il "protocollo corto" con antagonisti del GnRH, secondo la pratica clinica adottata dal centro.
- In 48 di queste 49 pazienti era disponibile anche un valore di TSH al momento della stimolazione ovarica, permettendo un'analisi dinamica della funzione tiroidea.
- 14 pazienti tra le 49 sottoposte a stimolazione presentavano anche un valore di ioduria al momento della stimolazione, consentendo l'analisi della variazione della ioduria e la sua possibile associazione con gli esiti della PMA.
- 7 pazienti aggiuntive, non appartenenti al gruppo delle 198 con ioduria basale, presentavano unicamente il valore di ioduria alla stimolazione ovarica e i relativi outcomes della PMA.

I dati sono stati raccolti tramite le piattaforme Galileo e FertiLab.

La funzionalità tiroidea delle pazienti in esame è stata valutata mediante diversi parametri:

- TSH sierico: viene considerato in range nella popolazione generale per valori < 4 mU/L (34); tuttavia, le linee guida internazionali suggeriscono di tenerlo inferiore a 2,5 mU/L nella fase di concepimento viste le implicazioni che un ipotiroidismo, anche subclinico, può avere sull'outcome della gravidanza. (35) Il TSH è stato misurato nella fase basale; inoltre, in un sottogruppo, è stato eseguito un ulteriore dosaggio durante la stimolazione ovarica, al fine di valutarne eventuali variazioni correlate al trattamento.
- FT3: i risultati sono stati valutati secondo i range di normalità stabiliti dal laboratorio analisi di AOPD, che sono compresi tra 3,9 e 6,8 pmol/L.
- Anti-Tg e Anti-TPO sierici (autoimmunità tiroidea): presi poi in analisi come “positivi o negativi”.
- Ioduria spot (stima dello status iodico): deficit iodico severo per valori di UIC < 50 $\mu\text{g/L}$, deficit lieve per valori compresi tra 50-100 $\mu\text{g/L}$, adeguato introito per valori di UIC > 100 $\mu\text{g/L}$. La ioduria è stata valutata nella fase basale; in un sottogruppo selezionato, è stata inoltre analizzata anche durante la stimolazione ovarica, per identificare eventuali modificazioni dello stato iodico in risposta al trattamento ormonale.

Lo stato di fertilità delle pazienti è stato valutato attraverso due parametri utili alla stima della riserva ovarica di partenza: l'ormone antimulleriano (AMH) e la conta dei follicoli antrali (AFC). Valori di AMH inferiori a 0,5–1,1 ng/ml e/o una AFC inferiore a 5–7 follicoli sono indicativi di una condizione di bassa risposta ovarica (poor ovarian response, POR), qualora sia presente almeno uno degli altri due criteri definiti dal consenso di Bologna, come trattato nel paragrafo 1.2.3.2. (17)

Nelle pazienti sottoposte a stimolazione ovarica controllata sono stati analizzati diversi parametri chiave per valutare l'efficacia e la qualità del trattamento di PMA. In particolare, sono stati considerati i seguenti outcomes:

- Numero totale di ovociti recuperati al pick-up: rappresenta la quantità di ovociti prelevati tramite aspirazione follicolare durante la procedura di pick-up.

- Numero di ovociti maturi (Metafase II): indica quanti ovociti erano in uno stato di maturazione adeguato per essere utilizzati nella fecondazione, come descritto nel paragrafo 1.2.3.4.
- Tecnica di fecondazione utilizzata: è stata registrata l'applicazione di tecniche differenti, ovvero la fecondazione in vitro classica (FIVET) o la microiniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI), come descritto nel paragrafo 1.2.3.3.
- Numero totale di embrioni ottenuti: conta gli embrioni generati dopo il processo di fecondazione.
- Giornate di vita degli embrioni: fa riferimento al numero di giorni di sviluppo in vitro degli embrioni (day 3 o day 5) prima del trasferimento o della crioconservazione, parametro utile per valutare la tempistica della coltura embrionale, come descritto nel paragrafo 1.2.3.5.
- Qualità degli embrioni: vengono definiti “top quality” gli embrioni allo stadio di blastocisti (day 5) quando, secondo il sistema di classificazione Gardner–Schoolcraft, presentano un grado 4AA o 5AA, ovvero un'espansione completa o in fase di hatching, con inner cell mass (ICM) e trophectoderm (TE) di massima qualità. Allo stadio di clivaggio (day 3), “top quality” corrisponde allo stadio 1, ovvero embrioni caratterizzati da cellule simmetriche, frammentazione <10% e assenza di anomalie morfologiche visibili. Tutti questi criteri sono descritti nel paragrafo 1.2.3.5.

3.2 ENDPOINT

Questo lavoro si pone i seguenti obiettivi operativi:

- descrivere la distribuzione dello stato iodico basale nella popolazione di donne infertili che accede a trattamenti di PMA, suddividendo le pazienti in tre gruppi in base ai valori di ioduria (deficit severo, deficit lieve, iodosufficienza);
- suddividere le pazienti in tre gruppi in base alla ioduria basale (deficit grave, deficit lieve, iodosufficienza) e valutare la correlazione tra lo stato iodico e alcuni parametri basali, tra cui la funzione tiroidea (TSH, FT3) e gli indicatori di riserva ovarica, rappresentati dai livelli sierici di ormone antimülleriano (AMH) e dalla conta ecografica dei follicoli antrali (AFC), includendo anche la classificazione delle pazienti secondo i criteri di Bologna come poor ovarian responder (POR) o normoresponder

(NOR);

- analizzare l'eventuale associazione tra ioduria basale e alcuni outcomes riproduttivi, tra cui il numero totale di ovociti recuperati al pick-up, la percentuale di ovociti maturi (MII), il numero di embrioni ottenuti, il giorno di sviluppo embrionario e la qualità morfologica dell'embrione;
- valutare, negli stessi termini, la correlazione tra ioduria misurata durante la stimolazione ovarica e i suddetti outcomes riproduttivi (ovocitari ed embrionali), al fine di indagare eventuali variazioni nello stato iodico che possano influenzare la risposta al trattamento.

3.3 ANALISI DEI DATI

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando software dedicati per l'elaborazione dei dati raccolti dalle piattaforme Galileo e FertiLab. In particolare i dati sono stati analizzati con il software JMP® Versione Pro 17 per Windows (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA), il software JASP (Versione 0.18.3, JASP Team, 2024) e il software jamovi (Versione 2.5, The jamovi project, 2024), questi ultimi utilizzando il linguaggio R (Versione 4.3, R Core Team, 2023). I dati sono stati preliminarmente sottoposti a una verifica di qualità, con esclusione dei casi con dati mancanti non recuperabili per le variabili chiave.

Per tutte le variabili continue (età, BMI, ioduria, TSH, FT3, AMH, conta dei follicoli antrali e parametri relativi agli outcomes della PMA) sono state calcolate le statistiche descrittive di base: media, deviazione standard, minimo, massimo e numerosità del campione.

I confronti tra gruppi sono stati effettuati sulla base della suddivisione in tre categorie di ioduria basale (<50 , $50-99$, ≥ 100 $\mu\text{g/L}$), come indicatore dello stato iodico. Il confronto dei parametri clinici e riproduttivi tra questi gruppi è stato svolto mediante analisi della varianza (ANOVA). In presenza di varianze disomogenee, rilevate tramite il test di Levene, è stato adottato il test ANOVA robusto di Welch. Poiché non sono emerse differenze statisticamente significative tra i gruppi, non sono stati eseguiti test post-hoc.

I valori di ioduria basale e sotto stimolazione sono stati valutati in base alle variabili riserva ovarica e qualità degli embrioni, utilizzando il test t di Student e il test di Welch (in caso di varianze diseguali).

In presenza di distribuzioni non gaussiane o varianze diseguali, sono stati inoltre utilizzati test non parametrici, quali il Mann-Whitney U e il Kruskal-Wallis, per confronti tra gruppi su variabili ordinali o non normalmente distribuite.

La riserva ovarica è stata inoltre classificata in due gruppi, NOR (normal ovarian responder) e POR (poor ovarian responder), e tale classificazione è stata utilizzata per confronti statistici con i livelli di ioduria e altri parametri riproduttivi.

Sono state inoltre calcolate correlazioni bivariate di Pearson tra le principali variabili di interesse, con particolare attenzione all'associazione tra ioduria, funzionalità tiroidea (TSH e FT3), riserva ovarica (AMH e AFC) e gli outcomes della PMA (ovociti totali, ovociti maturi, numero di embrioni ottenuti, qualità embrionaria). In particolare, è stata condotta anche una regressione lineare semplice per valutare la relazione tra ioduria e AMH, considerando entrambe come variabili continue. Le correlazioni sono state valutate sulla base del coefficiente di correlazione (r di Pearson) e dell'intervallo di confidenza al 95%; la significatività delle correlazioni è stata valutata mediante il t-test, considerando significative le associazioni con $p < 0.05$.

Per tenere conto di possibili fattori confondenti, è stata svolta un'analisi della covarianza (ANCOVA), inserendo la presenza di autoimmunità tiroidea (positività per anti-TPO e anti-TG) come covariate. L'ANCOVA è stata applicata a ciascun parametro in modo separato, al fine di valutare eventuali differenze tra gruppi di ioduria controllando per la presenza di autoimmunità.

In un sottogruppo selezionato di 21 pazienti, per le quali erano disponibili sia i valori basali che quelli relativi alla fase di stimolazione ovarica, è stata eseguita una valutazione delle variazioni intraindividuali della ioduria e del TSH mediante t-test per dati appaiati.

Infine, per una rappresentazione visiva efficace dei dati, sono stati utilizzati Raincloud plots, che integrano la distribuzione delle osservazioni, il box-plot con la mediana e la visualizzazione di ogni singolo dato.

4. RISULTATI

Nel campione complessivo di 205 pazienti arruolate, l'età media era di $36,3 \pm 5,1$ anni e il BMI medio di $23,7 \pm 4,1$ kg/m².

La maggior parte delle pazienti era di etnia caucasica (84,9%).

La Tabella III riporta i principali parametri antropometrici, tiroidei e riproduttivi per l'intero campione e nei tre sottogruppi iodici.

Parametro	Totale (n=205)	Gruppo 1 (<50 µg/L) (n=82)	Gruppo 2 (50–99 µg/L) (n=38)	Gruppo 3 (≥100 µg/L) (n=78)	p (Welch ANOVA)
Età (anni)	36,32 ± 5,12	37,1 ± 4,95	36,3 ± 5,03	35,4 ± 5,22	0,094
BMI (kg/m ²)	23,73 ± 4,08	23,4 ± 3,32	24,8 ± 5,28	23,7 ± 4,15	0,328
Etnia caucasica (%)	84,9%	—	—	—	—
Ioduria (µg/L)	106,44 ± 121,28	31,48 ± 4,13	72,61 ± 11,92	201,73 ± 147,65	—
TSH (mIU/L)	2,10 ± 0,99	2,06 ± 0,95	1,95 ± 0,93	2,25 ± 1,08	0,291
FT3 (pmol/L)	5,23 ± 1,66	5,26 ± 2,15	5,26 ± 0,80	5,22 ± 1,44	0,983
Anti-TPO positività (%)	29,6%	—	—	—	—
Anti-TG positività (%)	14,2%	—	—	—	—
AMH (pmol/L)	16,29 ± 17,76	15,7 ± 17,1	13,3 ± 13,1	18,8 ± 20,7	0,249
Conta follicoli basale	15,12 ± 13,23	13,6 ± 12,1	14,5 ± 11,5	17,1 ± 15,2	0,303

Tabella III. {Nota: valori espressi come media ± deviazione standard. Il p-value è riferito all'ANOVA di Welch, utilizzata per la maggiore robustezza in presenza di varianze disomogenee (test di Levene significativo).

Il valore totale è n = 205.}

Ai fini dell'analisi, come riportato in Tabella III, le pazienti con valore disponibile

di ioduria basale (n=198) sono state suddivise in tre gruppi, per la valutazione dello stato iodico nella popolazione:

Gruppo 1 – Severo deficit iodico: ioduria < 50 µg/L

Gruppo 2 – Deficit iodico lieve/moderato: ioduria compresa tra 50 e 99 µg/L

Gruppo 3 – Adeguato apporto iodico: ioduria ≥ 100 µg/L

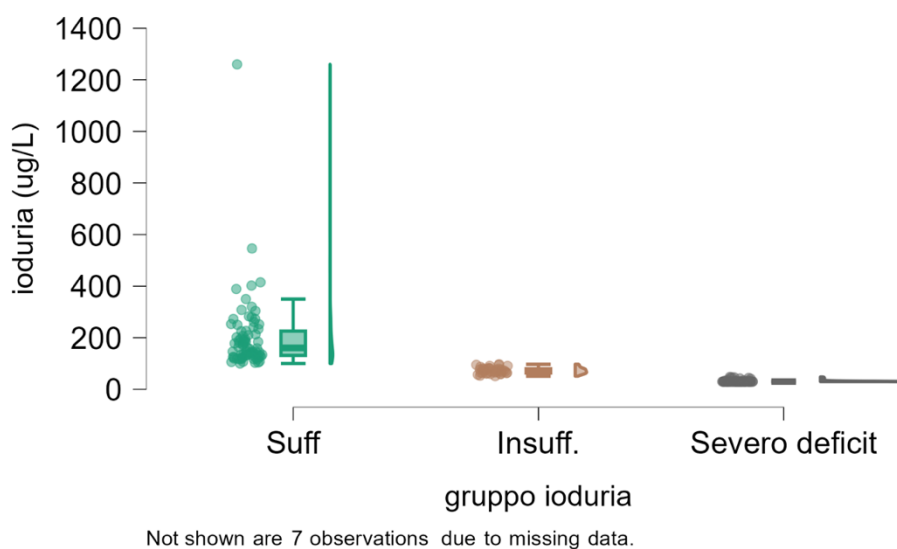


Figura 1. *Suddivisione del campione in tre gruppi sulla base del valore di ioduria spot in quanto indicatore dello status iodico della donna.*

Su un totale di 198 pazienti con dato disponibile, 82 soggetti (41,4%) presentavano un deficit iodico severo, 38 (19,2%) un deficit lieve, mentre 78 (39,4%) rientravano nella fascia di iodosufficienza.

Questi dati indicano che oltre il 60% delle pazienti che accedono a trattamenti di PMA mostra uno stato iodico insufficiente, suggerendo una carenza iodica diffusa anche in una popolazione clinicamente selezionata.

Dopo la suddivisione, è stato eseguito un confronto tra i principali parametri clinici e ormonali, al fine di valutare eventuali differenze associate allo stato iodico, come riportato nella Tabella III.

Prima dell'analisi della varianza, è stato applicato il test di Levene per verificare l'omogeneità delle varianze tra i gruppi. In presenza di varianze disomogenee, è stata adottata anche l'ANOVA di Welch, più robusta in caso di eterogeneità. L'analisi, condotta sia con l'ANOVA di Fisher che con quella di Welch, non ha

evidenziato differenze statisticamente significative per nessuno dei parametri considerati.

Ad esempio, l'età media variava lievemente tra i gruppi (37,1 anni nel gruppo con severo deficit iodico, 36,3 anni nel gruppo con deficit lieve, 35,4 anni nel gruppo con ioduria adeguata), ma la differenza non era significativa ($p = 0,089$). Lo stesso vale per il BMI ($p = 0,211$), il TSH ($p = 0,278$), il FT3 ($p = 0,990$), l'AMH ($p = 0,292$) e la conta dei follicoli antrali ($p = 0,266$).

Pur in assenza di significatività statistica (AMH $p = 0,249$; AFC $p = 0,303$), i valori medi di AMH (18,8 vs 15,7 e 13,3 pmol/l) e conta follicoli basale (17,1 vs 13,6 e 14,5) risultano più elevati nel gruppo con ioduria $\geq 100 \mu\text{g/L}$. Questo trend suggerisce una possibile relazione positiva tra stato iodico e riserva ovarica, ipotesi esplorata più nel dettaglio mediante analisi di correlazione bivariata tra ioduria e AMH/AFC come variabili continue.

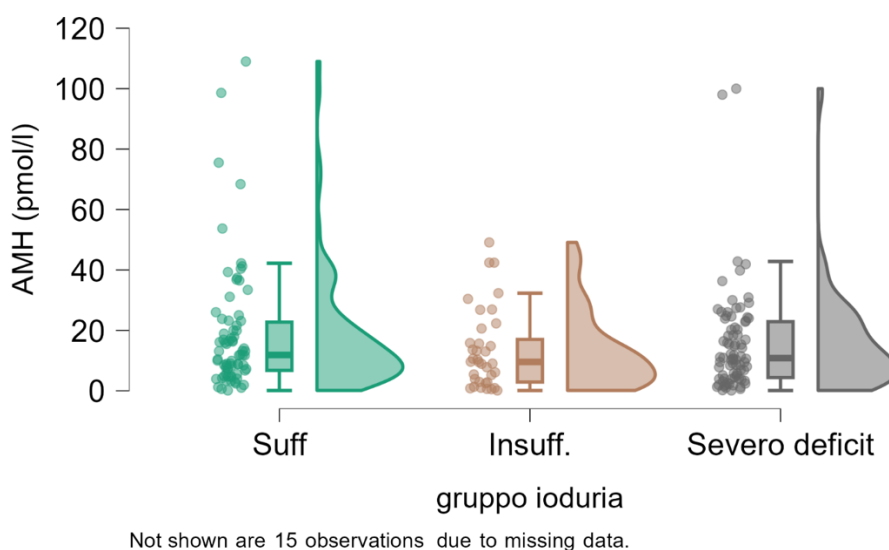


Figura 2. Distribuzione dei valori di AMH nei tre gruppi di ioduria basale.

L'analisi di correlazione bivariata tra ioduria e riserva ovarica ha evidenziato una correlazione significativamente positiva tra ioduria e AMH ($r = 0,15$; $p = 0,037$). La stima mediante regressione lineare ha confermato questo andamento, con un coefficiente $\beta = 0,0221$ e un $R^2 = 0,023$, a indicare che la ioduria spiega solo una minima parte della variabilità dell'AMH.

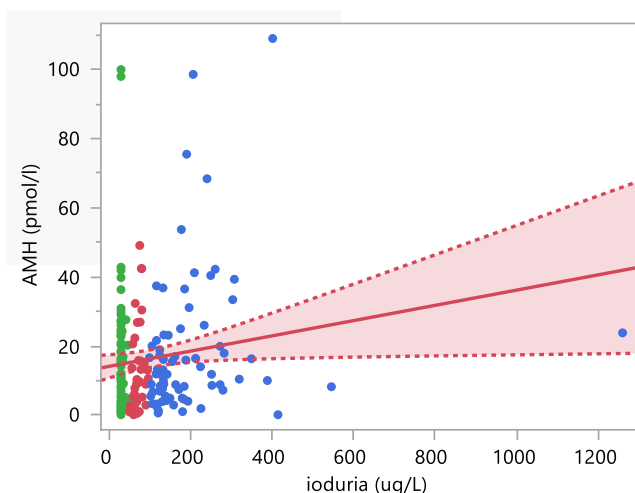
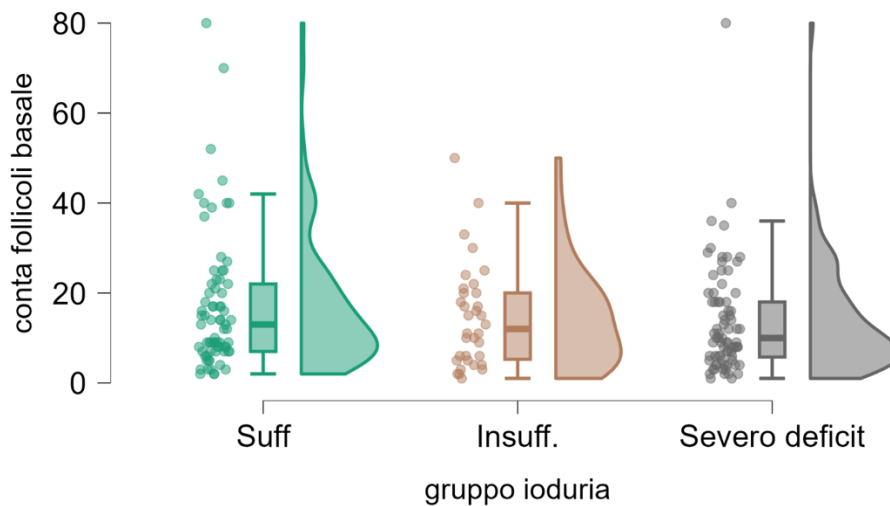


Figura 3. Scatter plot della correlazione bivariata tra ioduria basale e AMH. Verde: ioduria < 50 $\mu\text{g/L}$; Rosso: ioduria compresa tra 50 e 99 $\mu\text{g/L}$; Blu: ioduria $\geq 100 \mu\text{g/L}$.

Per quanto riguarda la conta dei follicoli antrali (AFC), si osserva un trend positivo ($r = 0,11$), ma non significativo ($p = 0,157$), a indicare che l'associazione con ioduria è meno marcata rispetto a quella con l'AMH.



Not shown are 23 observations due to missing data.

Figura 4. Distribuzione della conta dei follicoli antrali (AFC) nei tre gruppi di ioduria basale.

È stata inoltre esplorata la relazione tra ioduria basale e classificazione della riserva ovarica secondo i criteri di Bologna, descritti nel paragrafo 1.2.3.2, i quali suddividono le pazienti in NOR (normal ovarian responder) e POR (poor ovarian responder). Il confronto tra i due gruppi ha mostrato valori medi di ioduria più

elevati nelle donne NOR rispetto a quelle POR (115,6 $\mu\text{g/L}$ vs 77,0 $\mu\text{g/L}$). La differenza è risultata statisticamente significativa **sia con il test di Welch** ($p = 0,019$), sia con il test non parametrico di Mann-Whitney ($p = 0,025$), e confermata anche dal test di Kruskal-Wallis ($p = 0,024$). L'ANOVA a una via ha mostrato un risultato al limite della significatività ($p = 0,076$). Il Cohen's $d = -0,32$ suggerisce un effetto di piccola entità. Questi risultati supportano l'ipotesi di una possibile associazione positiva tra stato iodico e adeguata riserva ovarica, coerentemente con quanto osservato nelle analisi precedenti tra ioduria e AMH.

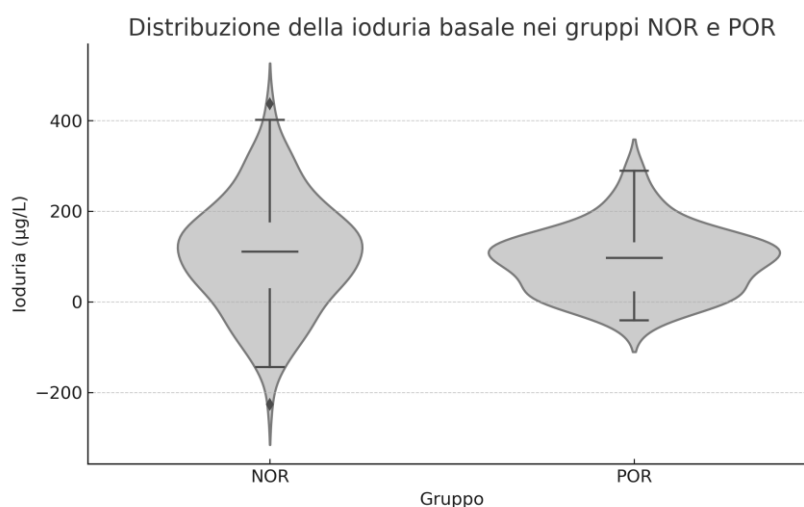


Figura 5. Distribuzione della ioduria basale nei gruppi NOR (normal ovarian responder) e POR (poor ovarian responder). I valori risultano significativamente più elevati nel gruppo NOR. Differenze statisticamente significative secondo test di Welch ($p = 0,019$), Mann-Whitney ($p = 0,025$) e Kruskal-Wallis ($p = 0,024$).

L'analisi delle correlazioni ha confermato inoltre la relazione inversa già ampiamente descritta in letteratura tra età e riserva ovarica. In particolare, è stata osservata una correlazione negativa statisticamente significativa tra età e AMH ($r = -0,41$, $p < 0,0001$), e tra età e conta dei follicoli antrali ($r = -0,43$, $p < 0,0001$), a indicare una riduzione della riserva ovarica con l'aumentare dell'età. Questi risultati rafforzano l'attendibilità interna del dataset e forniscono un confronto utile rispetto all'effetto dello stato iodico sulla riserva ovarica.

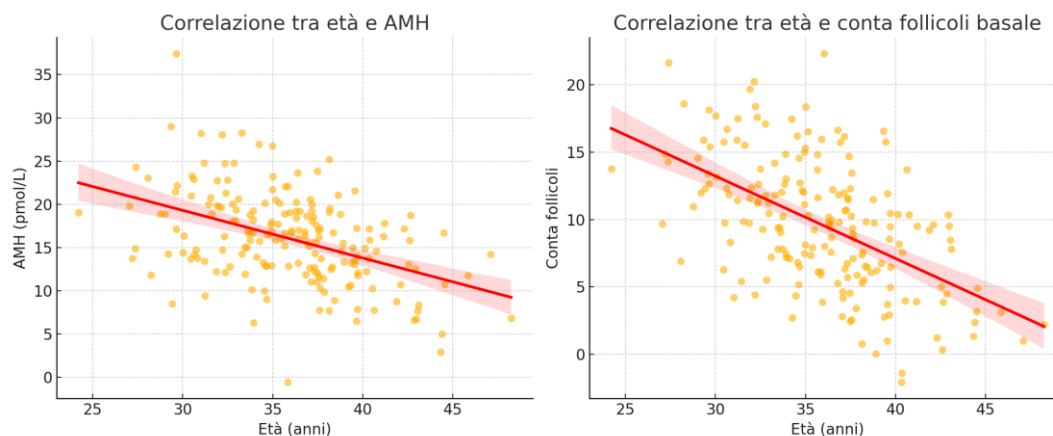


Figura 6. Correlazione tra età e riserva ovarica. A sinistra: correlazione tra età e AMH. A destra: correlazione tra età e conta dei follicoli antrali.

Per tenere conto di possibili fattori confondenti, è stata condotta un'analisi della covarianza (**ANCOVA**), inserendo la presenza di autoimmunità tiroidea (positività per anticorpi anti-TPO e/o anti-TG) come covariate nel modello. L'ANCOVA è stata applicata separatamente a ciascun parametro (età, BMI, AMH, conta follicolare), al fine di valutare se le differenze tra i gruppi di ioduria osservate nelle analisi precedenti potessero essere spiegate o attenuate dall'effetto dell'autoimmunità.

Non è stata invece applicata l'ANCOVA per la classificazione NOR/POR, in quanto si tratta di una variabile dicotomica, non compatibile con questo tipo di analisi, e per la quale il confronto tra gruppi è stato già effettuato mediante test parametrici e non parametrici specifici.

Anche dopo l'aggiustamento per la presenza di tiroidite autoimmune, non sono emerse differenze statisticamente significative tra i gruppi per nessuno dei parametri analizzati (es. AMH: $p = 0,143$; AFC: $p = 0,051$). Questi risultati indicano che l'associazione tra stato iodico e riserva ovarica, pur esistente, è di modesta entità e non risulta robusta ai controlli per fattori confondenti.

Complessivamente, i dati suggeriscono una possibile associazione positiva tra ioduria e riserva ovarica, più evidente per l'AMH e nella classificazione NOR/POR, ma non confermata in modo robusto dopo controllo per i principali fattori confondenti. Come atteso, l'età si conferma il principale determinante negativo della riserva ovarica.

È stata poi condotta un'analisi per valutare l'eventuale associazione tra ioduria basale e i principali esiti della stimolazione ovarica e della procreazione medicalmente assistita (PMA), tra cui:

- il numero totale di ovociti recuperati;
- gli ovociti maturi (MII);
- il numero totale di embrioni;
- le giornate di sviluppo embrionale;
- la qualità embrionale (espressa come numero di embrioni top quality).

L'analisi della varianza (ANOVA) e l'ANOVA robusta di Welch non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i gruppi per nessuno degli outcomes analizzati.

Anche l'analisi ANCOVA, con correzione per la presenza di anticorpi anti-TPO e anti-TG, ha confermato l'assenza di significatività per questi stessi parametri.

Di seguito i principali risultati:

Parametro	ANOVA (Fisher) p	ANOVA (Welch) p	ANCOVA p
Ovociti totali pick-up	0,661	0,589	0,779
Ovociti maturi (MII)	0,712	0,716	0,930
Embrioni totali	0,964	0,951	0,648
Giornate vita embrione	0,624	0,636	0,803

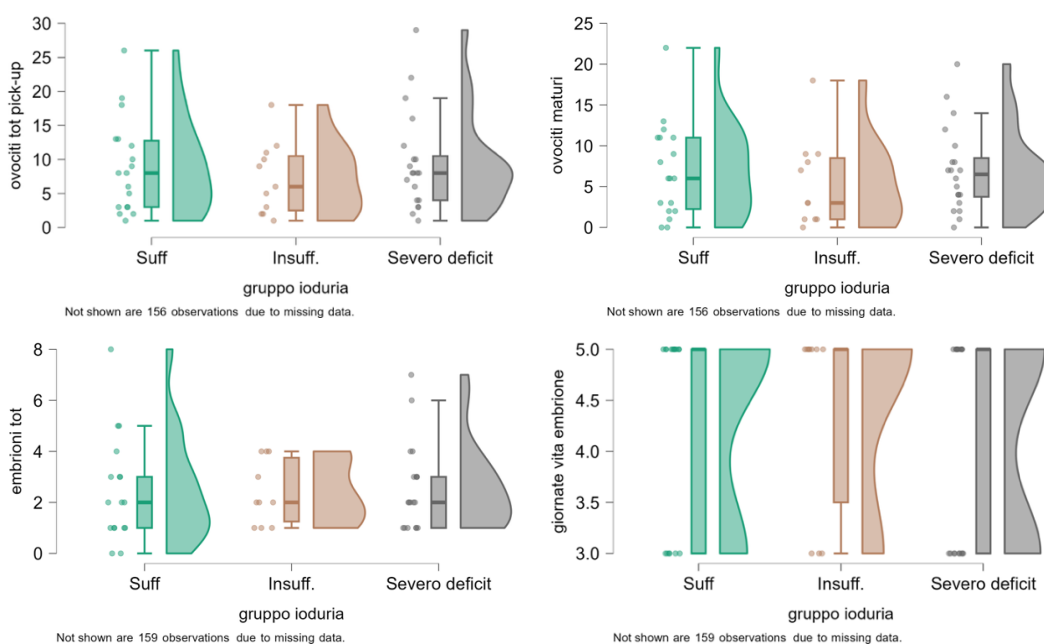


Figura 10. Associazione tra i 3 gruppi di ioduria basale e i parametri quantitativi del ciclo di PMA: numero totale di ovociti recuperati (ovociti totali al pick-up), ovociti maturi (MII), embrioni totali e giorni di vita embrionale.

In riferimento alla qualità embrionale (numero di embrioni top quality), i valori di ioduria sono stati confrontati tra il gruppo con almeno un embrione top quality e quello senza. Anche in questo caso, i test statistici non hanno evidenziato differenze significative:

Test	p-value
t di Student	0,347
t di Welch	0,209
Mann-Whitney U	0,334
ANOVA a una via	0,347
Kruskal-Wallis (χ^2)	0,327

Il valore medio di ioduria era più elevato nelle pazienti con embrioni top quality (88,5 $\mu\text{g/L}$) rispetto a quelle senza (66,0 $\mu\text{g/L}$), ma la differenza non ha raggiunto la significatività statistica.

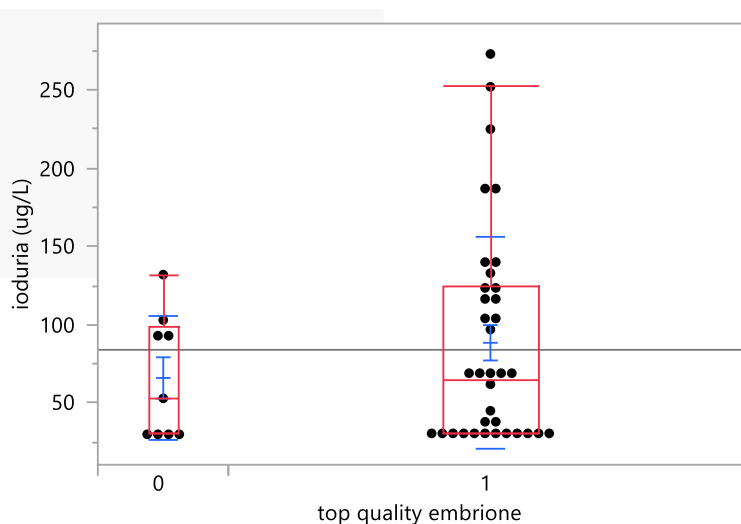


Figura 11. Distribuzione dei valori di ioduria basale in relazione alla presenza di almeno un embrione top quality. “0: NON top quality embryo”; “1: top quality embryo”

In un sottogruppo di 21 pazienti, per le quali era disponibile anche il valore di ioduria durante la stimolazione ovarica controllata, è stata condotta un’analisi

finalizzata a indagare l'eventuale associazione tra questo parametro e gli esiti riproduttivi, in particolare con la qualità embrionale espressa come presenza di almeno un embrione top quality.

Non sono state invece condotte analisi bivariate tra ioduria sotto stimolazione e gli altri principali outcomes della PMA (ovociti totali, ovociti maturi, embrioni totali, giornate vita embrione).

Risultati dei test statistici condotti:

Test	Statistica	p-value
t di Student	$t = 0,519$ (df = 17)	0,611
t di Welch	$t = 0,533$ (df = 2,87)	0,633
Mann-Whitney U	$U = 18,0$	0,532
ANOVA a una via	$F(1,17) = 0,269$	0,611
Kruskal-Wallis	$\chi^2(1) = 0,464$	0,496

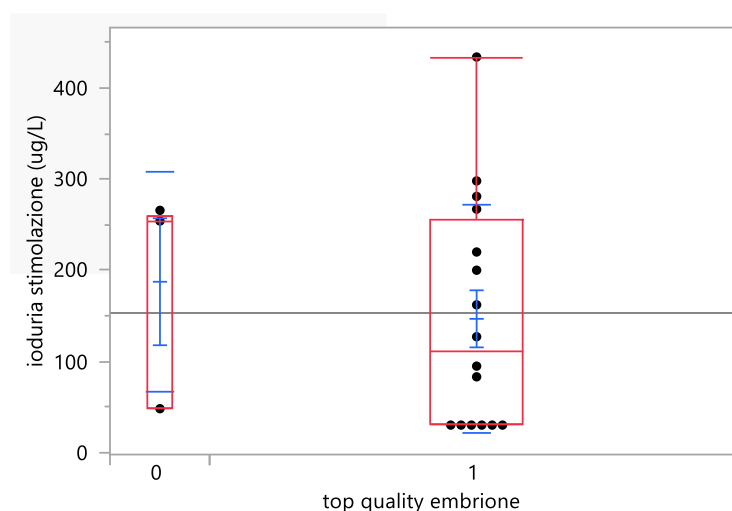


Figura 12. Distribuzione dei valori di ioduria durante la stimolazione ovarica in relazione alla presenza di almeno un embrione top quality. “0: NON top quality embryo”; “1: top quality embryo”

Anche il valore dell'effetto, calcolato mediante d di Cohen, risultava pari a $-0,33$, indicando un effetto di piccola entità. L'intervallo di confidenza al 95% per la differenza tra le medie era molto ampio (da $-206,27$ a $+124,85$ $\mu\text{g/L}$), a conferma della forte variabilità all'interno del campione e della limitata potenza statistica dell'analisi.

Nel complesso, questi risultati confermano l'assenza di un'associazione statisticamente significativa tra ioduria sotto stimolazione e qualità embrionale, almeno nel sottogruppo analizzato.

In questo sottogruppo di pazienti, poiché erano disponibili sia i valori basali che quelli sotto stimolazione, sono stati eseguiti confronti appaiati per valutare l'eventuale variazione della ioduria e del TSH nel corso della stimolazione ovarica controllata.

Il confronto tra ioduria basale e ioduria durante la stimolazione è stato effettuato su 19 pazienti. I valori medi osservati erano i seguenti:

- Ioduria basale: $110,0 \pm 88,7$ $\mu\text{g/L}$;
- Ioduria stimolazione: $161,1 \pm 116,9$ $\mu\text{g/L}$.

Il test t per dati appaiati ha mostrato un aumento non statisticamente significativo della ioduria durante la stimolazione ovarica ($t = -1,84$, $df = 18$, $p = 0,082$). L'intervallo di confidenza al 95% per la differenza tra i due momenti era compreso tra $-109,4$ e $6,6$ $\mu\text{g/L}$.

Per quanto riguarda il TSH, l'analisi è stata condotta su 16 pazienti. I valori medi erano:

- TSH basale: $1,86 \pm 0,86$ $\mu\text{U/mL}$;
- TSH in stimolazione: $1,73 \pm 0,91$ $\mu\text{U/mL}$.

Anche in questo caso il confronto tra i due tempi non ha mostrato variazioni statisticamente significative ($t = 0,87$, $df = 15$, $p = 0,398$), con un intervallo di confidenza al 95% compreso tra $-0,19$ e $0,45$ $\mu\text{U/mL}$.

Questi risultati indicano che, nel campione analizzato, né la ioduria né il TSH subiscono variazioni significative durante la stimolazione ovarica, suggerendo una relativa stabilità di questi parametri nel contesto del trattamento.

Anche dopo la stimolazione ovarica, l'età anagrafica si è confermata il parametro determinante chiave della risposta ovarica e degli esiti della PMA. L'analisi delle correlazioni bivariate ha evidenziato associazioni negative e statisticamente significative tra l'età e numerosi indicatori di riserva ovarica e di risposta al trattamento.

In particolare, l'età risultava inversamente correlata con il numero totale di ovociti recuperati ($r = -0,46$; $p = 0,0005$) e con il numero di ovociti maturi ($r = -0,44$; $p = 0,0008$).

Oltre agli effetti sulla risposta ovarica, l'età influenzava negativamente anche le fasi successive della PMA. Si osservava infatti una correlazione negativa con il numero totale di embrioni ottenuti ($r = -0,39$; $p = 0,0048$).

Al contrario, la correlazione tra età e il numero di giornate di vita embrionale – parametro che riflette indirettamente la progressione allo stadio di blastocisti – non risultava statisticamente significativa ($r = -0,18$; $p = 0,196$).

Questi risultati confermano che l'età della paziente rappresenta un fattore critico per la prognosi dei trattamenti di PMA, influenzando in modo significativo non solo la quantità e qualità degli ovociti, ma anche la capacità di ottenere embrioni. L'impatto sull'evoluzione embrionaria avanzata, sebbene tendenzialmente negativo, non ha raggiunto significatività statistica nel presente campione.

5. DISCUSSIONE

Nonostante la profilassi iodica attiva dal 2005, in Veneto persistono segni di insufficienza iodica, con il 26% della popolazione generale sotto la soglia di 50 $\mu\text{g/L}$. (7)

Nel nostro campione clinico la situazione appare ancora più critica: oltre il 60% delle donne infertili candidate alla PMA presentava uno stato iodico insufficiente, di cui il 41,4% con deficit severo. Questi dati indicano che la carenza iodica è diffusa anche in una popolazione selezionata e potenzialmente più informata, sottolineando la necessità di una maggiore attenzione clinica a questo fattore nei percorsi di PMA.

L'ipotiroidismo rappresenta una delle principali conseguenze cliniche della carenza iodica, in particolare quando il deficit è prolungato o severo. In condizioni di carenza, la tiroide attiva meccanismi compensatori — come l'incremento del TSH e l'aumentata espressione del trasportatore NIS — per ottimizzare la captazione di iodio e preservare la sintesi ormonale. (8)

Tuttavia, nel nostro campione, l'analisi statistica non ha evidenziato un'associazione significativa tra i livelli di ioduria e i principali parametri di funzione tiroidea, come il TSH e l'fT3.

Questi risultati suggeriscono che, nel nostro campione, lo stato iodico — pur presentando in molti casi valori indicativi di carenza — non si associa a segni di ipotiroidismo manifesto o subclinico in fase basale. Ciò potrebbe riflettere una condizione di compenso tiroideo funzionale, che consente il mantenimento dell'eutiroidismo clinico anche in presenza di un apporto iodico insufficiente. È noto infatti che la ghiandola tiroidea può adattarsi alla lieve-moderata carenza iodica mantenendo livelli ormonali nella norma. Tuttavia, non si possono escludere alterazioni più sottili o effetti a lungo termine non rilevabili con i soli dosaggi basali, soprattutto in contesti di aumentata richiesta metabolica come durante la stimolazione ovarica.

Diversi studi suggeriscono che la carenza iodica possa compromettere la fertilità. È stato osservato un prolungamento del tempo al concepimento e una riduzione della probabilità di gravidanza per ciclo nelle donne con ioduria bassa, mentre la supplementazione iodica ha migliorato nettamente i tassi di fertilità in modelli

animali. (22) (25)

Lo iodio è essenziale per la sintesi degli ormoni tiroidei, e un suo deficit può determinare ipotiroidismo, che influisce negativamente su follicologenesi, ovulazione e funzione luteinica. (26)

Tuttavia, lo iodio potrebbe agire anche direttamente a livello ovarico, indipendentemente dalla funzione tiroidea. Infatti, l'ovaio esprime il trasportatore NIS e presenta una captazione attiva di iodio, variabile nelle varie fasi riproduttive. (20)

Queste evidenze indicano che uno stato iodico adeguato è cruciale per la fertilità, soprattutto nelle donne che cercano una gravidanza o si sottopongono a tecniche di PMA.

In questo contesto si collocano i risultati del nostro studio.

In primo luogo, abbiamo valutato l'impatto dello status iodico sui parametri di riserva ovarica e quindi sulla fertilità; sebbene l'analisi della varianza non abbia evidenziato differenze statisticamente significative nei valori di AMH e AFC tra i gruppi suddivisi in base alla ioduria, si è osservato un trend positivo, con valori medi più elevati nel gruppo iodio sufficiente (ioduria ≥ 100 $\mu\text{g/L}$). Questa tendenza è stata ulteriormente indagata tramite analisi di correlazione bivariata, che ha evidenziato una correlazione positiva debole ma significativa tra ioduria e AMH ($r = 0,15$; $p = 0,037$). Per l'AFC si è invece osservato un trend non significativo, suggerendo un'associazione meno marcata.

Infine, l'associazione tra ioduria e riserva ovarica è stata valutata anche secondo i criteri di Bologna, che classificano le pazienti in normal ovarian responders (NOR) e poor ovarian responders (POR). Le donne NOR presentavano livelli mediani di ioduria significativamente più elevati rispetto alle POR.

Nel complesso, questi risultati supportano l'ipotesi di una possibile associazione positiva tra stato iodico e riserva ovarica, seppur modesta, in linea con quanto riportato in letteratura. Tuttavia, l'entità dell'effetto osservato è limitata, e ulteriori studi saranno necessari per confermarne la rilevanza clinica.

L'età materna avanzata al momento del concepimento è considerata il principale fattore prognostico negativo per la fertilità. (9)

Coerentemente con quanto ampiamente riportato in letteratura, nel nostro studio è stata osservata una significativa correlazione inversa tra età e riserva ovarica, sia in

termini di AMH che di AFC. Questo dato, pur non rappresentando un endpoint primario dello studio, conferma la coerenza interna del dataset e fornisce un utile riferimento per valutare l'effetto, più debole, dello stato iodico sui medesimi parametri.

Secondariamente, visto il nesso fisiopatologico sopra descritto tra iodio e fertilità, abbiamo voluto indagare un'eventuale interazione tra status iodico e outcomes della PMA; sebbene il ruolo della funzione tiroidea sugli esiti della PMA sia stato indagato in letteratura, come ad esempio il riscontro di quanto l'ipotiroidismo subclinico e la TAI possano impattare negativamente la qualità embrionaria, ad oggi non esistono evidenze dirette che correlino lo stato iodico agli outcomes della PMA, tra cui la qualità embrionale. (32) (33)

Nel nostro campione, non sono emerse differenze statisticamente significative tra i gruppi di ioduria per nessuno degli esiti analizzati (numero totale di ovociti, ovociti maturi, numero di embrioni, giorni di sviluppo embrionale, qualità embrionale). Un'ulteriore analisi sulla qualità embrionale — confrontando le pazienti con almeno un embrione top quality rispetto a quelle senza — ha mostrato una differenza media di ioduria leggermente più alta nelle prime, ma non significativa sul piano statistico, suggerendo al massimo un trend non confermato.

Per testare ulteriormente l'ipotesi che lo iodio possa influenzare direttamente il contesto ovarico in corso di stimolazione, abbiamo analizzato un sottogruppo di pazienti per cui era disponibile anche il valore di ioduria durante la stimolazione ovarica controllata. Anche in questo caso, non è emersa un'associazione significativa tra ioduria e qualità embrionale. L'effetto stimato indicava un impatto di piccola entità, con un ampio intervallo di confidenza, verosimilmente legato alla scarsa numerosità del sottogruppo e all'elevata variabilità intraindividuale.

In questo sottogruppo, poiché erano disponibili sia i valori basali che quelli sotto stimolazione, sono stati eseguiti confronti appaiati per valutare l'eventuale variazione della ioduria e del TSH nel corso della stimolazione ovarica controllata. L'analisi ha mostrato un aumento non significativo della ioduria e una sostanziale stabilità dei livelli di TSH. Tali risultati si discostano in parte da quanto riportato in letteratura, dove la stimolazione ovarica è stata associata a un incremento del TSH

e a una riduzione della frazione libera della tiroxina (FT4), mediata da un aumento della TBG indotto dagli estrogeni. (27)

Una possibile spiegazione è che le variazioni endocrino-metaboliche descritte in precedenza possano manifestarsi con maggiore evidenza in pazienti con disfunzioni tiroidee pregresse, o in fasi più avanzate del trattamento, come l'inizio della gravidanza. Inoltre, il limitato numero di soggetti e il timing dei prelievi potrebbero non aver permesso di rilevare variazioni transitorie o di lieve entità. Nel nostro campione, costituito da soggetti eutiroidei non trattati con levotiroxina, la funzione tiroidea appare dunque stabile anche durante la stimolazione, suggerendo una buona capacità di adattamento alla richiesta metabolica indotta dalla COH.

Anche dopo la stimolazione ovarica, l'età anagrafica si conferma il parametro chiave nella determinazione della risposta ovarica e degli esiti della PMA. Nel nostro studio sono state osservate correlazioni negative significative tra l'età e vari indicatori di riserva ovarica e di risposta al trattamento, tra cui il numero totale di ovociti recuperati, gli ovociti maturi e il numero di embrioni ottenuti. Al contrario, la correlazione tra età e progressione allo stadio di blastocisti, misurata in termini di giornate di sviluppo embrionale, non ha raggiunto la significatività statistica. Questi risultati, pur non essendo tra gli endpoint principali del nostro studio, confermano la solidità interna del dataset e forniscono un utile termine di confronto per valutare l'effetto, più debole, osservato in relazione allo stato iodico.

La letteratura suggerisce un possibile legame tra tiroidite autoimmune (TAI) e infertilità, anche in assenza di disfunzione tiroidea clinicamente evidente. Diversi studi hanno ipotizzato che la TAI possa influire sulla fertilità attraverso meccanismi diretti, come un'azione degli autoanticorpi tiroidei sul tessuto ovarico, o indiretti, legati a una generale attivazione del sistema immunitario. (21) (24)

Inoltre, alcune evidenze indicano che la positività per anticorpi anti-TPO possa essere associata a una minore qualità embrionaria. (32)

Per verificare se la TAI potesse rappresentare un fattore confondente nella nostra analisi, abbiamo incluso la positività per anti-TPO e/o anti-TG in un modello ANCOVA. Dopo l'aggiustamento, l'associazione tra ioduria e AMH ha perso la significatività statistica ($p = 0,143$), pur mantenendo la stessa direzione e un effetto comparabile a quello osservato nell'analisi bivariata. Questo risultato suggerisce che la TAI non modifica sostanzialmente l'associazione tra stato iodico e riserva

ovarica, ma che l'effetto della ioduria, essendo di entità modesta, potrebbe non essere sufficientemente robusto rispetto a potenziali fattori confondenti in un campione di dimensioni limitate.

Anche l'analisi ANCOVA su numero totale di ovociti, ovociti maturi, numero di embrioni e giorni di sviluppo embrionale, con correzione per la presenza di autoimmunità tiroidea, ha confermato l'assenza di associazioni significative.

Tali dati sembrano indicare che, almeno nella nostra coorte, la TAI non ha avuto un impatto rilevabile sugli esiti riproduttivi.

Nel complesso, i nostri risultati suggeriscono un'associazione positiva, seppur di modesta entità, tra stato iodico basale e riserva ovarica. In particolare, è stata osservata una correlazione statisticamente significativa tra ioduria e livelli di AMH, oltre a una differenza significativa nei valori mediani di ioduria tra pazienti classificate come normal ovarian responders (NOR) e poor ovarian responders (POR). Tali dati supportano l'ipotesi di un possibile ruolo dello iodio nella modulazione della riserva ovarica, in linea con le basi fisiopatologiche già descritte e con le osservazioni sperimentali disponibili.

Al contrario, non è emersa un'associazione statisticamente significativa, ma solamente un trend, tra stato iodico e gli altri principali outcomes della PMA, come il numero di ovociti recuperati, la maturazione ovocitaria, il numero totale di embrioni o la qualità embrionale. Anche la ioduria misurata durante la stimolazione ovarica non ha mostrato correlazioni significative con questi parametri.

Studi futuri con campioni più ampi e disegni prospettici saranno necessari per chiarire se esista un impatto clinicamente rilevante del livello di iodio — basale e sotto stimolazione ovarica — sugli esiti riproduttivi.

E' tuttavia opportuno riconoscere alcune limitazioni metodologiche che potrebbero aver influenzato i risultati osservati.

In primo luogo, la dimensione del campione, seppur sufficiente per un'analisi esplorativa, è limitata per trarre conclusioni generalizzabili alla popolazione generale. Questo vale in particolare per le analisi effettuate su sottogruppi (es. ioduria sotto stimolazione), in cui la numerosità ridotta e l'elevata variabilità interindividuale possono aver compromesso la potenza statistica. In secondo luogo, trattandosi di uno studio monocentrico, i risultati potrebbero essere influenzati da

bias legati a pratiche cliniche locali o specificità del campione selezionato. Di conseguenza, l'applicabilità dei dati ad altri contesti geografici o a diverse popolazioni cliniche richiede cautela.

Un'ulteriore criticità riguarda la stima dello stato iodico: l'utilizzo di un singolo campione di ioduria spot rappresenta una misura indiretta e soggetta a variazioni giornaliere. Sebbene nel nostro studio sia stata effettuata una seconda misurazione della ioduria durante la stimolazione ovarica in un sottogruppo di pazienti, il numero limitato di soggetti non consente di trarre conclusioni definitive. Una caratterizzazione più sistematica dello stato iodico nel tempo, eventualmente integrata con strumenti dietetici (es. questionari specifici sull'apporto di alimenti iodati), permetterebbe una valutazione più accurata dell'apporto iodico individuale. Il campione inoltre, non è stato stratificato in base alla causa dell'infertilità, il che potrebbe aver mascherato effetti specifici in sottogruppi clinici (es. infertilità idiopatica, PCOS), che potrebbero presentare una maggiore sensibilità agli squilibri tiroidei o nutrizionali.

Infine, l'assenza di un gruppo di controllo costituito da donne fertili non affette da disfunzioni tiroidee limita la possibilità di interpretare il ruolo causale dello iodio nei meccanismi dell'infertilità.

Non si possono inoltre escludere variabili confondenti non considerate, come condizioni metaboliche, infiammatorie o autoimmuni non documentate, che potrebbero aver interferito con gli outcomes riproduttivi.

6. CONCLUSIONI

La carenza iodica rappresenta un fattore di rischio nutrizionale ed endocrino ancora poco considerato nel contesto dell'infertilità e di conseguenza nei percorsi di procreazione medicalmente assistita (PMA). Il presente studio ha evidenziato un'associazione positiva, seppur modesta, tra ioduria basale e riserva ovarica, documentata sia attraverso la correlazione con i livelli di AMH che tramite la classificazione NOR/POR secondo i criteri di Bologna.

Al contrario, non sono emerse associazioni statisticamente significative tra stato iodico e i principali outcomes della PMA, inclusi la risposta alla stimolazione ovarica e la qualità embrionale. Tuttavia, si è osservato un trend non significativo verso una minore qualità embrionale nelle pazienti con ioduria più bassa. Una possibile spiegazione fisiopatologica è che, in condizioni di carenza iodica lieve o moderata, la tiroide riesca a mantenere un apparente eutiroidismo mediante meccanismi compensatori, portando a uno stato subclinico che non si traduce immediatamente in un danno misurabile. Questo equilibrio potrebbe tuttavia essere instabile e, in contesti di aumentato stress metabolico come la stimolazione ovarica controllata, contribuire a un microambiente subottimale per lo sviluppo embrionale. Alla luce di queste osservazioni, è plausibile ipotizzare che un'adeguata assunzione di iodio possa contribuire positivamente al mantenimento della riserva ovarica e allo sviluppo embrionale, rappresentando un potenziale target di intervento preventivo o correttivo nei percorsi di PMA.

Sebbene i dati ottenuti non permettano di trarre conclusioni definitive sull'impatto dello iodio sulla qualità embrionale, rappresentano un primo contributo esplorativo su un tema ancora poco indagato. Studi futuri con campioni più ampi, disegni prospettici e follow-up clinici saranno necessari per chiarire se uno stato iodico insufficiente — anche in assenza di disfunzione tiroidea conclamata — possa influenzare in modo clinicamente rilevante gli esiti della PMA.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 21st ed. McGraw-Hill Education; 2022.
2. Rohner F, Zimmermann M, Jooste P, Pandav C, Caldwell K, Raghavan R, et al. Biomarkers of nutrition for development--iodine review. *J Nutr*. 2014 Aug;144(8):1322S-1342S.
3. Chung HR. Iodine and thyroid function. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2014 Mar;19(1):8–12.
4. World Health Organization. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination : a guide for programme managers. 3rd ed. 2007;1.
5. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, Chen H, Dosiou C, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. 2017 Mar;27(3):315–89.
6. World Health Organization. Urinary iodine concentrations for determining iodine status in populations [Internet]. 2013 p. 5. Report No.: WHO/NMH/NHD/EPG/13.1. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85972/WHO_NMH_NHD_EPG_13.1_eng.pdf
7. Censi S, Manso J, Barollo S, Mondin A, Bertazza L, De Marchi M, et al. Changing Dietary Habits in Veneto Region over Two Decades: Still a Long Road to Go to Reach an Iodine-Sufficient Status. *Nutrients*. 2020 Aug 11;12(8):2399.
8. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev*. 2009 Jun;30(4):376–408.
9. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018 Dec;62:2–10.
10. Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S. Definition and causes of infertility. *Reprod Biomed Online*. 2001;2(1):41–53.
11. Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Nov 1;105(11):3361–73.
12. Coelho Neto MA, Ludwin A, Borrell A, Benacerraf B, Dewailly D, da Silva Costa F, et al. Counting ovarian antral follicles by ultrasound: a practical guide. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jan;51(1):10–20.
13. Ministero della Salute. Linee guida in materia di procreazione medicalmente assistita [Internet]. DECRETO 11 aprile 2008. *Sect. Gazzetta Ufficiale Serie Generale Apr 11, 2008*. Available from: <https://www.normattiva.it/uri-res/N2Ls?urn:nir:ministero.salute:decreto:2008-04-11>

14. Jhon E. Hall, Arthur C. Guyton. *Fisiologia medica*. 13^a. EDRA; 2017.
15. Gallos ID, Eapen A, Price MJ, Sunkara SK, Macklon NS, Bhattacharya S, et al. Controlled ovarian stimulation protocols for assisted reproduction: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Mar 9;2017(3):CD012586.
16. Rosenwaks, Zev, Wassarman, Paul M. *Human Fertility: Methods and Protocols*. Humana Press; 2014. (Methods in Molecular Biology; vol. 1154).
17. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, et al. ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2011 Jul;26(7):1616–24.
18. Silva JF, Ocarino NM, Serakides R. Thyroid hormones and female reproduction†. *Biol Reprod*. 2018 Nov 1;99(5):907–21.
19. CG, EF, RP, RSA, AC, AG. Patologie tiroidee ed infertilità femminile. *Riv Ital Ostet E Ginecol*. 2021;2021(4).
20. Slebodziński AB. Ovarian iodide uptake and triiodothyronine generation in follicular fluid. The enigma of the thyroid ovary interaction. *Domest Anim Endocrinol*. 2005 Jul;29(1):97–103.
21. Mazzilli R, Medenica S, Di Tommaso AM, Fabozzi G, Zamponi V, Cimadomo D, et al. The role of thyroid function in female and male infertility: a narrative review. *J Endocrinol Invest*. 2023;46(1):15–26.
22. Mills JL, Buck Louis GM, Kannan K, Weck J, Wan Y, Maisog J, et al. Delayed conception in women with low-urinary iodine concentrations: a population-based prospective cohort study. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2018 Mar 1;33(3):426–33.
23. Rao M, Wang H, Zhao S, Liu J, Wen Y, Wu Z, et al. Subclinical Hypothyroidism Is Associated with Lower Ovarian Reserve in Women Aged 35 Years or Older. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. 2020 Jan;30(1):95–105.
24. van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, van Wely M, van der Post JAM, Goddijn M, et al. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2011;17(5):605–19.
25. Ferri N, Ulisse S, Aghini-Lombardi F, Graziano FM, Di Mattia T, Russo FP, et al. Iodine supplementation restores fertility of sheep exposed to iodine deficiency. *J Endocrinol Invest*. 2003 Nov;26(11):1081–7.
26. Xing M, Gu S, Wang X, Mao G, Mo Z, Lou X, et al. Low Iodine Intake May Decrease Women’s Fecundity: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2021 Aug 31;13(9):3056.
27. Muller AF, Verhoeff A, Mantel MJ, De Jong FH, Berghout A. Decrease of free thyroxine levels after controlled ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocrinol*

- Metab. 2000 Feb;85(2):545–8.
28. Busnelli A, Cirillo F, Levi-Setti PE. Thyroid function modifications in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2021 Jul 1;116(1):218–31.
 29. Poppe K, Glinoeer D, Tournaye H, Schiettecatte J, Devroey P, van Steirteghem A, et al. Impact of ovarian hyperstimulation on thyroid function in women with and without thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Aug;89(8):3808–12.
 30. Bradbury RA, Christie-David D, Smith HC, Byth K, Eastman CJ. Prior iodine exposure and impact on thyroid function during controlled ovarian hyperstimulation: A prospective study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2022 Feb;62(1):133–9.
 31. Zhao T, Chen BM, Zhao XM, Shan ZY. Meta-analysis of ART outcomes in women with different preconception TSH levels. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2018 Nov 5;16:111.
 32. Weghofer A, Himaya E, Kushnir VA, Barad DH, Gleicher N. The impact of thyroid function and thyroid autoimmunity on embryo quality in women with low functional ovarian reserve: a case-control study. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2015 May 15;13:43.
 33. Kim CH, Ahn JW, Kang SP, Kim SH, Chae HD, Kang BM. Effect of levothyroxine treatment on in vitro fertilization and pregnancy outcome in infertile women with subclinical hypothyroidism undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2011 Apr;95(5):1650–4.
 34. Thayakaran R, Adderley NJ, Sainsbury C, Torlinska B, Boelaert K, Šumilo D, et al. Thyroid replacement therapy, thyroid stimulating hormone concentrations, and long term health outcomes in patients with hypothyroidism: longitudinal study. *BMJ*. 2019 Sep 3;366:l4892.
 35. Yang Y, Guo T, Fu J, Kuang J, Wang Y, Zhang Y, et al. Preconception Thyrotropin Levels and Risk of Adverse Pregnancy Outcomes in Chinese Women Aged 20 to 49 Years. *JAMA Netw Open*. 2021 Apr 1;4(4):e215723.