

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA
DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

Direttore: Prof. Giorgio Perilongo

TESI DI LAUREA

Valutazione della correlazione tra funzionalità tiroidea e parametri della fertilità
femminile: uno studio osservazionale

Relatrice: Prof.ssa Alessandra Andrisani

Correlatore: Dott. Loris Marin

Laureanda: Veronica Pasco

Anno Accademico 2023-2024

INDICE

1. Introduzione.....	1
1.1 Uno sguardo sull'infertilità.....	1
1.1.1 Cause di infertilità: fattori femminili e maschili.....	3
1.1.2 L'infertilità idiopatica	6
1.2 Studio della fertilità femminile	7
1.2.1 Valutazione della riserva ovarica	8
1.2.2 L'Ormone Anti-Mülleriano (AMH)	10
1.2.3 La conta ecografica dei follicoli antrali (AFC)	12
1.3 La procreazione medicalmente assistita (PMA).....	14
1.3.1 Definizione ed epidemiologia	14
1.3.2 Tecniche di PMA	16
1.4 Il complesso ruolo della tiroide nella fertilità	18
1.4.1 La tiroide nella fisiologia della riproduzione femminile	18
1.4.2 L' impatto delle disfunzioni tiroidee sulla fertilità femminile	19
1.4.3 Lo Iodio	20
1.4.3.1 Stima dello status iodico mediante UIC.....	22
1.4.4 Iodio e funzionalità ovarica.....	23
1.4.5 Iodio e infertilità idiopatica.....	24
1.4.6 Alterazioni della funzionalità tiroidea in corso di stimolazione ovarica.....	25
1.4.7 Iodio in gravidanza.....	25
1.5 Nuove prospettive in ambito di infertilità e PMA.....	26
1.5.1 La valutazione della qualità ovocitaria	26
2. Scopo dello studio.....	27
3. Materiali e metodi.....	27
3.1 Raccolta dei dati.....	28
3.2 Endpoint.....	29

3.3 Analisi dei dati	29
4. Risultati	30
5. Discussione	33
6. Conclusioni.....	37
7. Bibliografia.....	39

Riassunto

Presupposti dello studio: la relazione tra stato tiroideo e fertilità femminile è un'area di ricerca di particolare interesse in tutto il mondo. In parte questo è dovuto alla crescente prevalenza dell'infertilità e alla necessità di approfondire la comprensione delle sue complesse e multifattoriali cause. I progressivi studi condotti sull'infertilità femminile insieme al crescente ricorso alle tecniche di riproduzione assistita (ART) hanno contribuito a scoprire il ruolo potenziale delle disfunzioni tiroidee in relazione alla funzionalità ovarica e quindi alla fertilità.

Scopo dello studio: questo lavoro si propone di valutare, sebbene in maniera preliminare, la possibilità che la ioduria basale e quindi lo status iodico della donna insieme alla sua funzionalità tiroidea possano essere coinvolti nella determinazione del quadro dell'infertilità femminile, mettendoli in relazione con i principali indicatori di riserva ovarica.

Materiale e metodi: si tratta di uno studio osservazionale monocentrico condotto presso l'UOSD PMA dell'Azienda Ospedaliera di Padova in cui sono stati raccolti i dati di 24 pazienti donne seguite dal centro per problemi legati alla fertilità, di età compresa tra i 31 e i 42 anni, tra i mesi di Febbraio e Aprile 2024. La funzionalità tiroidea è stata analizzata tramite i seguenti parametri, in aggiunta ad eventuali cenni anamnestici: TSH (mU/L), anticorpi Anti-Tg e Anti-TPO (positivi/negativi) e ioduria spot ($\mu\text{g/L}$), quest'ultima utilizzata in qualità di indicatore dello status iodico di un soggetto. Per stimare la funzionalità ovarica e quindi lo stato di fertilità, invece, sono stati valutati FSH (U/L), AMH (pmol/L) e AFC totale (somma dei follicoli per ciascun ovaio). Per l'analisi statistica sono state utilizzate le tecniche ANOVA e PCA (Principal Component Analysis).

Risultati: suddividendo il campione sulla base di tre classi di ioduria (deficit grave, deficit lieve, iodosufficienza), non risulta alcuna differenza statisticamente significativa fra i tre gruppi, ben distribuiti, per quanto concerne FSH, AMH e AFC. La correlazione parametrica e non-parametrica non mostra valori significativi tra TSH-AMH (con correzione per età), né tra TSH e AFC. Una correlazione non-parametrica significativa si osserva invece fra AMH e AFC. Suddividendo i soggetti in base ad un valore di cut-off del TSH a livello del 75° percentile e analizzando i parametri AMH, AFC, ioduria nessuna differenza significativa è emersa.

Tuttavia, il biplot da PCA che prende in considerazione tutte le variabili insieme mostra una modesta correlazione inversa tra AMH e TSH e una stretta correlazione diretta tra AFC e ioduria. È doveroso sottolineare che, all'interno del campione, solo il 37,5% delle pazienti è risultato trovarsi in uno stato di iodosufficienza.

Conclusioni: Le relazioni individuate tra le variabili meritano sicuramente un approfondimento. I presupposti iniziali dello studio rimangono validi ma la presenza di alcuni bias suggerisce la necessità di ulteriori ricerche con campioni più ampi e disegni di studio più rigorosi al fine di migliorare la comprensione della complessa interazione tra status iodico, funzionalità tiroidea e salute riproduttiva femminile. Resta fondamentale porre un accento sull'importanza di raggiungere uno status iodico adeguato, in particolare per le donne fertili alla ricerca di una gravidanza.

Abstract

Background: the relationship between thyroid status and female fertility is an area of research of particular interest worldwide. This is partly due to the increasing prevalence of infertility and the need to deepen our knowledge of its complex and multifactorial causes. Progressive studies conducted on female infertility, along with the growing use of assisted reproductive technologies (ART), have contributed to the discovery of the potential role of thyroid dysfunctions in relation to ovarian function and, consequently, fertility.

Aim of the study: this study aims to evaluate, albeit preliminarily, the possibility that basal ioduria, and thus the iodine status of the woman along with her thyroid function, may be involved in determining the picture of female infertility, relating them to the main indicators of ovarian reserve.

Material and methods: an observational monocentric study was conducted at the UOSD PMA of the Padua Hospital, where data from 24 female patients dealing with infertility aged between 31 and 42 years were collected between February and April 2024.

Thyroid function was assessed using the following parameters, in addition to any anamnesis detail: TSH (mU/L), Anti-Tg and Anti-TPO antibodies (positive/negative) and spot ioduria ($\mu\text{g/L}$), which is used as an indicator of an individual's iodine status. In order to estimate the ovarian function and thus the fertility status, FSH (U/L), AMH (pmol/L), and total AFC (sum of follicles per ovary) were considered.

Results: when dividing the sample according to ioduria (severe deficiency, mild deficiency, iodine sufficiency), no statistically significant difference was found among the three groups considering FSH, AMH, and AFC. The parametric and non-parametric correlation did not show significant values between TSH and AMH (age-adjusted), nor between TSH and AFC. A significant non-parametric correlation was observed between AMH and AFC. When subjects were divided based on a TSH cut-off value at the 75th percentile and the parameters AMH, AFC, and ioduria were analyzed, no significant difference emerged. However, the PCA biplot that analyzes all the variables together shows a modest inverse correlation between AMH and TSH and a direct correlation between AFC and ioduria. It is

important to highlight that, within the sample, only 37.5% of the patients were found to be in a state of iodine sufficiency.

Conclusions: The identified connections between the variables definitely warrant further investigation. The initial assumptions of the study remain valid, but the presence of some biases suggests the need for additional research with larger samples and more rigorous study designs to enhance the understanding of the complex interaction between iodine status, thyroid function, and female reproductive health. It is crucial to emphasize the importance of achieving an adequate iodine status, particularly for fertile women seeking pregnancy.

1. Introduzione

1.1 Uno sguardo sull'infertilità

Prima di entrare nello specifico del tema è utile dare delle definizioni, in particolare quelle di subfertilità e infertilità. Per subfertilità si intende in generale qualsiasi forma di ridotta fertilità che si riconosce dopo un lungo periodo di mancato concepimento non voluto. Il principale fattore che permette di stabilire il grado di subfertilità è il tempo effettivo che la coppia spende alla ricerca di prole senza risultato. La maggior parte delle gravidanze si ottiene nell'arco di sei cicli mestruali in cui si abbiano rapporti non protetti nella fase fertile (1).

L'infertilità è stata definita dall'American Society of Reproductive Medicine come una malattia, condizione o stato caratterizzato da una delle seguenti caratteristiche:

- L'incapacità di ottenere una gravidanza di successo sulla base dell'anamnesi medica, sessuale e riproduttiva di un paziente, dell'età, dei reperti fisici, dei test diagnostici o di qualsiasi combinazione di questi fattori.
- La necessità di un intervento medico, compreso, ma non limitato a, l'uso di gameti o embrioni di donatori al fine di ottenere una gravidanza di successo sia come individuo che con un partner.

Nei pazienti che hanno rapporti sessuali regolari, non protetti e senza alcuna eziologia nota per entrambi i partner suggestiva di ridotta capacità riproduttiva, la valutazione deve essere iniziata a 12 mesi quando la donna ha < 35 anni e a 6 mesi quando la donna ha ≥ 35 anni (2).

Una diagnosi di infertilità può impattare molto sul benessere psicofisico di una coppia, e si è osservato come questa comporti l'insorgere di sensazioni di inadeguatezza, sensi di colpa nei confronti del partner, talvolta fino a sfociare in vere e proprie sindromi depressive.

Si stima che 1 coppia su 8 abbia difficoltà a concepire e a portare avanti una gravidanza; pazienti che si sottopongono a tecniche di procreazione assistita sono ad elevato rischio di sviluppare di disordini di tipo psichiatrico e per questo è importante il supporto psicologico nella gestione di una diagnosi di infertilità. Inoltre, se da una parte è stato provato che l'infertilità rappresenta una causa importante di stress, dall'altro lato sembrano esserci i presupposti per poter affermare che lo stress stesso impatti in un certo modo sulla probabilità di concepire, sia naturalmente che tramite PMA. Questo discorso vale tanto più per le coppie in cui non si riesce ad individuare una causa vera e propria in grado di

spiegare la difficoltà nel concepimento (3). Approssimativamente nell'85% delle coppie si riesce ad individuare una causa di infertilità, mentre per il restante 15% rimane di origine sconosciuta. Lo stile di vita e i fattori ambientali, basti pensare a fumo e obesità, possono impattare negativamente sulla fertilità. L'infertilità può essere inoltre una spia di sottostanti patologie croniche associate (4).

Una valutazione dello stato di fertilità può essere offerta a qualsiasi paziente che, per definizione, ha problemi di infertilità o è a rischio elevato di infertilità. Le donne di età superiore ai 35 anni dovrebbero ricevere una valutazione accelerata e sottoporsi a trattamento dopo 6 mesi di tentativi falliti di concepimento, o prima se clinicamente indicato. Si parte sempre dalla storia clinica delle pazienti, e da qui si aggiungono tutti i test ritenuti utili per l'inquadramento del problema. Per quanto riguarda la donna ci si concentra in prima battuta sulla valutazione della riserva ovarica, della funzione ovulatoria e sulla ricerca di eventuali anomalie strutturali. L'imaging degli organi riproduttivi fornisce informazioni preziose in ambito di studio dello stato di fertilità.

Anche la controparte maschile contribuisce nella determinazione dell'infertilità e, per questo, diventa essenziale prendere in considerazione anche la storia medica del partner maschile fin dall'inizio assieme all'analisi del liquido seminale, in grado di dare molte informazioni sulla qualità e la quantità degli spermatozoi (5). Nel complesso, dunque, l'infertilità può derivare da fattori femminili, maschili, da una combinazione delle due componenti oppure può essere di origine sconosciuta.

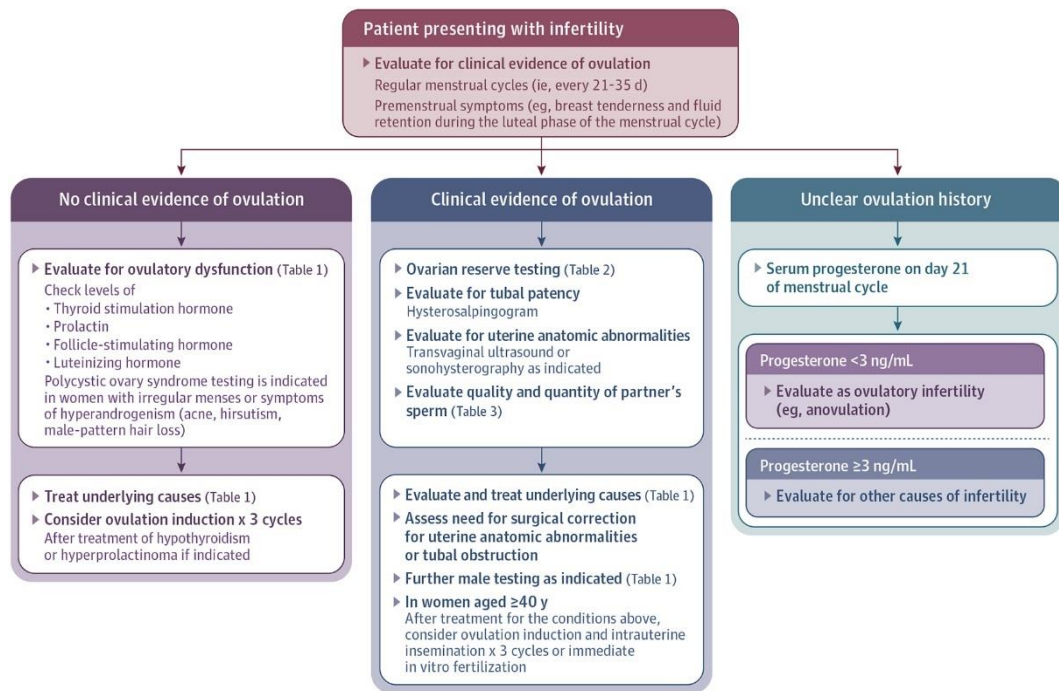


Figura 1: Indagini suggerite per pazienti con infertilità (4)

1.1.1 Cause di infertilità: fattori femminili e maschili

Nel corso degli anni, gli studi sull'infertilità hanno permesso di delineare un quadro complesso e variegato delle sue cause, rivelando una vasta gamma di fattori che possono influenzare la fertilità sia nelle donne che negli uomini. È importante sottolineare che l'infertilità non è semplicemente una condizione fisica isolata, ma piuttosto un fenomeno multidimensionale che può essere influenzato da molteplici variabili, inclusi fattori biologici, ambientali, comportamentali e psicologici. Nel periodo storico in cui viviamo stiamo avendo a che fare con un aumento importante della prevalenza dell'infertilità e di conseguenza con un incremento della richiesta in ambito di procreazione medicalmente assistita, costituendo tra le altre cose uno stimolo per la ricerca. La causa non è singola e alcuni fattori meritano sicuramente un'attenzione particolare: in primo luogo, sta aumentando l'età media a cui le coppie si trovano nelle condizioni di cercare una gravidanza. Questo diventa significativo se si considera che, per donne tra i 35 e i 39 anni la possibilità di concepire spontaneamente risulta circa dimezzata rispetto ad una donna di età compresa tra i 19 e i 26 anni solo considerando la naturale progressiva deplezione del patrimonio ovocitario a disposizione. Anche lo stile di vita non va trascurato: si è vista un'alterazione della fertilità in donne con BMI < 20 o > 30 motivo per cui, in caso di difficoltà nel concepimento, è importante per prima cosa impostare un

programma di dieta e attività fisica mirati a riequilibrare il peso e con esso l'assetto ormonale della donna. Oltre ai problemi nella fase del concepimento, da una parte l'essere sottopeso si associa ad un aumentato rischio di aborto spontaneo e di ritardo di crescita intrauterina e, dall'altra, l'obesità comporta un maggior rischio di complicanze gravidiche, tra cui ipertensione, diabete gestazionale, tromboembolismo e complicanze durante il parto (6).

Abitudini come fumo e alcol, invece, oltre ad essere un fattore di rischio per l'infertilità femminile, pare abbiano anche un certo impatto anche sulla qualità del liquido seminale.

È opportuno eseguire, sulle coppie che cercano assistenza per l'infertilità, uno studio metodico di tutte le possibili cause.

Si stima che nel 20% dei casi il problema sia di tipo endocrino-disovulatorio, con possibili alterazioni nelle fasi di sviluppo, maturazione e rottura del follicolo.

Fra questi disordini, la sindrome dell'ovaio policistico costituisce oltre l'80% dei casi, delineandosi come la principale causa di infertilità in una donna, con una prevalenza nella popolazione femminile dell'8% (7). Fra le altre cause di infertilità disovulatoria si riconosce anche l'iperprolattinemia, cui consegue una ridotta produzione di GnRH e conseguentemente di gonadotropine e LH in particolare, bloccando l'ovulazione (8). Esiste poi, ad esempio, l'amenorrea ipotalamica funzionale (FHA), che può essere secondaria ad eccessivo esercizio o disordini dell'alimentazione, in cui livelli eccessivi di cortisolo inibiscono la secrezione di GnRH (9). Va considerato che anche l'invecchiamento, di fatto, risulta essere collegato ad un'infertilità di tipo disovulatorio, caratterizzata sia da un minor reclutamento di follicoli per ciclo, che da una diminuita qualità degli ovociti (10,11).

Va preso poi in considerazione il fattore utero-tubarico-peritoneale, che comprende la valutazione dell'integrità e pervietà tubariche, lo studio della cavità uterina e l'analisi delle condizioni che si possono associare alla presenza di aderenze pelviche che possono compromettere l'anatomia del tratto genitale femminile, la cui eziologia è in genere da ricondurre a casi di malattia infiammatoria pelvica (PID), causata nella maggior parte dei casi da *Chlamydia trachomatis* (10). Alterazioni di questo genere sono presenti in circa il 30% delle coppie.

L'endometriosi è una patologia che merita di essere trattata separatamente in quanto sono molti, oltre che molto dibattuti, i meccanismi fisiopatologici che la legano alla

patogenesi dell'infertilità. Innanzitutto, viene definita come la presenza di tessuto endometriale al di fuori della cavità uterina e colpisce il 10-15% delle donne in età riproduttiva. Di queste, il 40-50% avrà a che fare con una diagnosi di infertilità. Si pensa che, nelle prime fasi della malattia, sia l'infiammazione a compromettere la funzionalità ovarica e tubarica portando problemi nelle fasi di sviluppo follicolare, fecondazione e impianto. Nelle fasi più avanzate si aggiunge poi una distorsione anatomica importante con aderenze e masse che possono fungere anche da ostacolo meccanico (8,10). Inoltre, studi condotti su donne con endometriosi in corso di trattamento di procreazione medicalmente assistita, si è notato un aumento dei livelli di IL-6 sia nel siero che nel liquido follicolare analizzato a seguito della procedura di pick-up ovocitario. Pare che tale citochina sia coinvolta nella modulazione ormonale sia locale che sistemica, interferendo tra le altre cose con la creazione di un microambiente sano, necessario all'impianto dell'embrione (12). Negli ultimi anni l'attenzione e le conoscenze riguardo questa malattia stanno aumentando sempre di più; sono stati istituiti centri specializzati nella gestione e nel trattamento di queste donne con il fine di migliorare la loro qualità di vita, con un occhio di riguardo sul tema della preservazione della loro fertilità.

Le ricerche in ambito di infertilità stanno mostrando sempre più come anche il fattore maschile non debba essere trascurato in quanto coinvolto in un'alta percentuale di casi. Diverse condizioni sono note per indurre alterazioni nella quantità e qualità del campione di sperma. Queste includono varicocele, infezioni genitali, traumi, interventi chirurgici, disfunzioni genetiche, sostanze tossiche, ecc. Alterazioni di questo tipo si riscontrano in circa il 25% delle coppie.

Nel 10% dei casi con evidenza di liquido seminale nella norma sussistono dei problemi nella migrazione dello sperma che possono essere identificati con lo studio della relazione tra il muco cervicale e gli spermatozoi, generalmente tramite un post-coital test, o test di Sims Huhner. Tale test ha l'obiettivo di verificare la qualità del muco cervicale da un lato e, dall'altro, la presenza di una quantità sufficiente di spermatozoi dotati di buona motilità. Queste condizioni sono necessarie affinché essi possano raggiungere l'ovulo nelle tube e fecondarlo con successo.

Circa nel 40% dei casi di infertilità si identificano, all'interno della coppia, alterazioni sia maschili che femminili ed è per questo che diventa di fondamentale importanza lo studio di entrambi i partner.

Esistono inoltre evidenze di infertilità associata ad alterazioni genetiche, anche se queste non hanno grande rilievo in termini percentuali nella popolazione generale. Talvolta si tratta di pattern specifici di mutazione che coinvolgono un singolo gene, in altri casi invece si può osservare un coinvolgimento multigenico. Le alterazioni che ne conseguono coinvolgono principalmente l'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi. Rimane tuttavia un 15% di coppie in cui, sebbene vengano condotte tutte le indagini necessarie, non si riesce ad individuare un'oggettiva alterazione che conduca ad una diagnosi definitiva: si parla in questi casi di infertilità idiopatica (8).

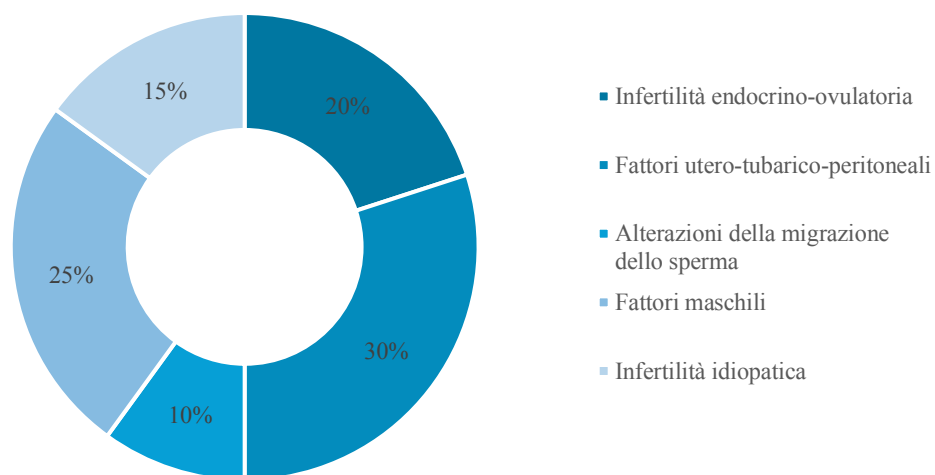


Figura 2: Distribuzione percentuale delle principali cause di infertilità (8)

1.1.2 L'infertilità idiopatica

Come anticipato in precedenza, si parla di infertilità idiopatica quando non è possibile individuare una causa specifica o evidente della difficoltà a concepire nonostante siano stati eseguiti tutti i test e le valutazioni appropriate in entrambi i partner della coppia.

Questo tipo di diagnosi può essere estremamente frustrante e stressante per le persone coinvolte, poiché rende impossibile identificare una causa precisa su cui concentrarsi per affrontare il problema. Spesso, le coppie con infertilità idiopatica possono sentirsi confuse e impotenti di fronte alla loro situazione.

Esistono diverse teorie che cercano di spiegare l'infertilità idiopatica. Alcuni esperti ritengono che possa essere legata ad alterazioni nella funzione riproduttiva che al momento non possono essere identificate o misurate tramite i test convenzionali.

Pare che fattori come l'ambiente, lo stress cronico, l'alimentazione e lo stile di vita possano influenzare la fertilità in modi complessi e non completamente compresi (13). Negli anni, con il progresso della ricerca scientifica, si stanno identificando sempre più frequentemente, nelle coppie con questa diagnosi, condizioni preesistenti che potrebbero avere delle implicazioni in ambito di fertilità come ad esempio alterazioni del sistema immunitario, disfunzioni tiroidee o coagulopatie (14). Le coppie con diagnosi di infertilità idiopatica possono comunque beneficiare di consulenza e supporto da parte di professionisti della salute riproduttiva, nonché valutare opzioni di trattamento come la fecondazione in vitro (IVF) o altre tecniche di riproduzione assistita.

1.2 Studio della fertilità femminile

La valutazione dello stato di fertilità della donna parte da una visita ginecologica nel corso della quale è necessario raccogliere l'anamnesi nel modo più accurato possibile. È importante indagare la storia familiare della paziente per poi passare ad un attento esame obiettivo generale e dei genitali. I dati anamnestici più importanti per il ginecologo sono i seguenti: le condizioni di salute generali, eventuali precedenti gravidanze e/o aborti, metodi contraccettivi utilizzati, abitudini sessuali, età del menarca, caratteristiche del flusso mestruale, presenza frequente di dolori pelvici o addominali o ancora di segni di malnutrizione. Non vanno dimenticate le eventuali malattie sistemiche come endocrinopatie, diabete mellito o patologie autoimmuni con le implicazioni che possono avere non solo nella fase di concepimento ma anche nel corso di un'eventuale gravidanza.

Le analisi di base per la diagnosi di infertilità femminile prevedono solitamente analisi ormonali e indagini strumentali. Gli ormoni che vengono dosati in prima battuta sono generalmente FSH, LH, estradiolo e prolattina da eseguire tra il 2° e il 3° giorno del ciclo mestruale (durante fase follicolare) e il progesterone tra la 18° e la 21° giornata (fase luteale); si aggiungono poi TSH, fT3 e AMH (Ormone Anti-Mülleriano) che possono essere eseguiti indipendentemente dalla fase del ciclo.

Tra le indagini strumentali invece, le più eseguite sono le seguenti:

- ecografia pelvica: rappresenta l'esame cardine nella valutazione diagnostica primaria ed è indispensabile nella valutazione della fertilità della donna in quanto permette di osservare la morfologia di utero e annessi, di valutare la rima endometriale in relazione alla fase del ciclo mestruale e di identificare eventuali

formazioni come cisti ovariche o lesioni di altra natura. Inoltre, questa tecnica di imaging permette di effettuare il test di riserva ovarica (TRO) con la conta dei follicoli antrali e di monitorare l'ovulazione. Per queste ultime due funzioni in particolare, l'ecografia pelvica rappresenta uno strumento essenziale in ambito di procreazione medicalmente assistita.

- isterosalpingografia: si tratta di un esame radiologico scarsamente invasivo che permette una buona valutazione della morfologia uterina e della pervietà tubarica attraverso l'infusione di mezzo di contrasto o di una soluzione salina sterile mista ad aria cui segue una valutazione delle scansioni radiologiche ottenute.
- isterosono/salpingografia: è un'ecografia transvaginale che prevede l'introduzione, in cavità uterina, di soluzione fisiologica sterile alternata ad aria attraverso un sottile catetere in modo da visualizzarne il passaggio attraverso le salpingi valutandone così la pervietà. La dilatazione della cavità uterina consente anche una migliore definizione dei margini endometriali e delle caratteristiche della cavità stessa.
- isteroscopia: si tratta di una tecnica endoscopica minimamente invasiva che permette di valutare la cavità uterina e l'endometrio, con la possibilità di ottenere biopsie, utili ad esempio per fare diagnosi di endometrite. Tramite questo esame è possibile individuare lesioni endocavitarie come polipi, fibromi, miomi ed, eventualmente, rimuoverli in seduta di isteroscopia operativa (15).

1.2.1 Valutazione della riserva ovarica

I marker di riserva ovarica sono associati all'invecchiamento ovarico e tendono ad alterarsi con l'avanzare dell'età, aiutando a prevedere le fasi dell'invecchiamento riproduttivo, compresa la transizione verso la menopausa. Sono diversi i parametri da valutare per ottenere una stima per lo più attendibile della riserva ovarica di una donna, tra cui la misurazione dell'ormone follicolo-stimolante (FSH) sierico, dell'ormone anti-Mülleriano (AMH) e dell'inibina-B. Significativo è anche il conteggio ecografico dei follicoli antrali (AFC), con una particolare attenzione alla vascolarizzazione e al volume ovarici. Nelle donne che si presentano all'attenzione del medico per difficoltà nel concepimento e che, a seguito di tutte le indagini del caso per inquadrare la tipologia di infertilità, stanno seguendo un percorso di procreazione medicalmente assistita, i marker di riserva ovarica possono essere utili

per prevedere il rendimento degli ovociti e stimare le probabilità di successo dei trattamenti (16).

Sta nell'interesse della ricerca individuare dei marker a basso costo, utilizzabili su ampia scala, che permettano di inquadrare lo stato di fertilità della donna che si presenta all'attenzione del medico per difficoltà nel concepimento in modo da poter scegliere il trattamento più adeguato per ciascuna paziente.

L'ormone follicolo-stimolante (FSH o follitropina) è una gonadotropina che viene secreta dall'adenoipofisi su stimolo del GnRH ipotalamico. Nelle ovaie, l'FSH stimola la maturazione dei follicoli. Questi, crescendo, rilasciano inibina che esercita, insieme all'estradiolo, prodotto in quantità significative dal follicolo dominante quando raggiunge 8-10mm di diametro, un feedback negativo sull'ipofisi ostacolando il rilascio di FSH. Normalmente, ad ogni ciclo, solo un follicolo tra quelli inizialmente reclutati diventa dominante crescendo fino a 18-30 mm e sarà destinato all'ovulazione, gli altri invece vanno in atresia (17).

L'FSH, tuttavia, ha dei limiti importanti che non lo rendono l'indicatore più attendibile: presenta infatti una notevole variabilità all'interno del ciclo, tra i cicli, da soggetto a soggetto a cui si aggiunge la diversa sensibilità dei metodi di dosaggio dei diversi laboratori (18).

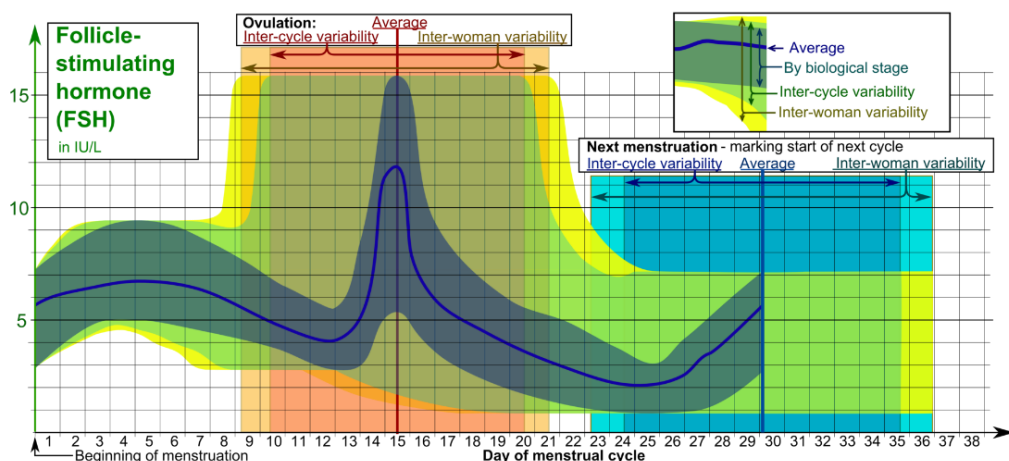


Figura 3. Andamento e variabilità dell'FSH nel corso del ciclo mestruale (18)

Man mano che il pool di follicoli antrali reclutabili ad ogni ciclo mestruale diminuisce con l'invecchiamento, i livelli di inibina B si riducono e si alzano quelli di FSH proprio per mancanza del feedback negativo. Studi hanno dimostrato che questa situazione si verifica anche in donne con ridotte riserva e qualità degli ovociti e di conseguenza con un ridotto potenziale di fertilità. Per questo motivo si è iniziato ad utilizzare l'inibina B come predittore della riserva ovarica. Tuttavia, il ritardo

nelle variazioni di questo marcatore durante la transizione menopausale ha portato a pensare che possa essere un indicatore più dell'attività ovarica che non della riserva ovarica vera e propria, in funzione del suo legame diretto con i follicoli in crescita (17).

1.2.2 L'Ormone Anti-Mülleriano (AMH)

L'ormone circolante anti-Mülleriano (AMH) è considerato il migliore biomarcatore per la valutazione della riserva ovarica, più affidabile di altri criteri come l'età, la conta dei follicoli antrali o i livelli di ormone follicolo-stimolante (FSH). È una glicoproteina prodotta dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici e riveste un ruolo fondamentale nella regolazione dello sviluppo del follicolo durante la vita fetale e adulta. I nuovi metodi di misurazione dell'ormone presentano elevati livelli di precisione, linearità delle determinazioni e, sebbene manchi uno standard internazionale di riferimento, un'ottima correlazione per concentrazioni al di sopra di 1 ng/ml (7,14 pmol/L). La maggiore sensibilità delle metodiche automatizzate consente di distinguere, nel gruppo di donne con una conta dei follicoli antrali compresa tra 0-7, coloro che hanno maggiori possibilità di procreare. Nel complesso, le caratteristiche descritte e i tempi ridotti di esecuzione, favoriscono l'uso della misurazione dell'AMH nei centri per la riproduzione medicalmente assistita e in donne giovani con patologie neoplastiche per il prelievo e la conservazione dei follicoli prima della chemioterapia. I livelli di AMH aumentano in donne con sindrome dell'ovaio policistico: questa condizione comporta la presenza di un elevato numero di piccoli follicoli pre-antrali in cui però risulta compromesso il processo di selezione del follicolo dominante. I piccoli follicoli producono testosterone che, se presente in eccesso, può interferire con la normale ovulazione (19). In questo caso, quindi, un AMH aumentato non si associa ad una buona riserva ovarica in termini qualitativi (20).

Durante la vita fetale, l'AMH nel maschio determina la regressione dei dotti mülleriani, nella donna invece sembra avere un ruolo nell'organizzazione follicolare precoce delle gonadi, divenendo poi nella vita postnatale un fattore determinante nella regolazione della follicologenesi. In assenza di AMH i dotti mülleriani si differenziano nei futuri organi riproduttivi femminili (utero, tube e porzione superiore della vagina) (21).

L'AMH è prodotto nella donna dalle cellule della granulosa ovarica (GC), in particolare a livello dei follicoli primari, pre-antrali e antrali di piccole dimensioni, e svolge una doppia funzione: ha un ruolo inibitorio sul passaggio dei follicoli dalla fase primordiale a quella preantrale (reclutamento primario) e contrasta lo stimolo operato dall'FSH che favorisce il passaggio dei follicoli dalla fase preantrale a quella antrale (reclutamento secondario) (20).

I follicoli preantrali sono ancora troppo piccoli per essere individuati ecograficamente, avendo essi un diametro medio di 0,2 mm. Dopo circa 50 giorni passano allo stadio antrale e diventano visibili, con una dimensione compresa tra i 2 e 10 mm. La produzione di AMH è limitata alle cellule della granulosa dei soli follicoli preantrali e antrali più piccoli e cessa quando il diametro di questi ultimi raggiunge gli 8–10 mm. L'AMH sierico rispecchia quindi l'entità del pool dei follicoli primordiali e dei piccoli follicoli in crescita presenti in un certo momento della vita di una donna e per questo è un valore che va correlato con l'età delle pazienti. Numerosi studi hanno confermato il legame tra i livelli di AMH e la conta dei follicoli antrali di piccole e medie dimensioni (AFC) (22,23). Le linee guida prodotte dal NICE (National Institute for Health and Care Excellence) ne raccomandano l'utilizzo per la valutazione della riserva ovarica da solo o in combinazione con età, AFC e livelli basali di FSH (2°–5° giorno del ciclo mestruale). Parallelamente viene sconsigliato l'utilizzo di altri marker quali estradiolo e inibina B, valutazione del volume e del flusso ematico ovarico (24).

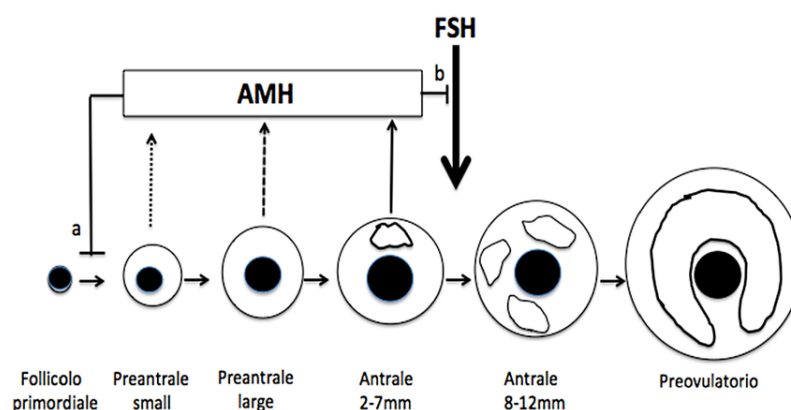


Figura 4. Modello dell'azione dell'AMH nell'ovaio. a: Reclutamento iniziale (attivazione follicolare). b: Secondo reclutamento (ciclico) (20)

Dal punto di vista della fecondazione assistita, bassi valori di AMH suggeriscono che, per ogni ciclo mestruale, verranno reclutati pochi follicoli. Ne risulta che, ad ogni ciclo di stimolazione ovarica, ci sarà una bassa probabilità di riuscire a portare a maturazione e, successivamente, a prelievo un buon numero di ovociti con una minore probabilità di successo del trattamento.

In quest'ottica, l'AMH non è da considerarsi un predittore di qualità ovocitaria, quindi un suo valore basso non implica l'impossibilità di concepimento in quanto un unico follicolo raggiungerà l'ovulazione e potrà essere fecondato dallo spermatozoo; tuttavia, questo parametro aiuta ad avere una stima della quantità di follicoli reclutati ogni mese (20).

Nella tabella a seguire vengono riportati i normali valori di AMH compresi tra il 10° e 90° percentile espressi in pmol/L suddivisi per classi d'età come forniti dal "Roche Elecsy AMH Assay". Come già descritto in precedenza, dagli studi finora eseguiti, l'AMH risulta essere un indicatore abbastanza affidabile di riserva ovarica da tenere in considerazione nella valutazione di donne subfertili, valido per la sua ridotta variabilità inter-ciclica e intra-ciclica rispetto ad altri parametri quali, ad esempio, FSH o AFC (25).

Età (anni)	Valori mediani AMH (pmol/L)
20-29	13.1 – 53.8
30-34	6.8 – 47.8
35-39	5.5 – 37.4
40-44	0.7 – 21.2
45-50	0.3 – 14.7

Tabella I. Fonte: Roche Elecsy AMH assay (26)

1.2.3 La conta ecografica dei follicoli antrali (AFC)

La conta follicolare o dei follicoli antrali (AFC) è un esame ecografico che viene eseguito per via transvaginale tra il 2° e 4° giorno del ciclo mestruale. Attualmente, per motivi di praticità, basso costo e scarsa invasività è una delle metodiche di misurazione di riserva ovarica più utilizzate. L'esame ha l'obiettivo di individuare il numero di follicoli antrali reclutati ad ogni ciclo mestruale aventi un diametro compreso tra i 2 e i 10mm, che appaiono come strutture anecogene di forma rotonda o ovale. Con l'aumentare dell'età, il numero di follicoli primordiali diminuisce

progressivamente con una contemporanea diminuzione dei follicoli antrali; ecco perché questo esame viene utilizzato per avere una stima della riserva ovarica. Un limite, però, è sicuramente il fatto di essere operatore-dipendente e a questo si aggiunge la variabilità inter-ciclica, che rende necessaria l'associazione con altri parametri, come ad esempio l'AMH, per renderla il più accurata possibile (27).

Inoltre, il medico esaminatore deve prestare molta attenzione nel conteggio avendo la cura di distinguere i follicoli da cisti, edometriomi o altre formazioni. Inoltre, l'infiammazione locale e le aderenze potrebbero interferire con il fascio ultrasonoro e creare degli artefatti.

Nonostante la conta dei follicoli sia spesso eseguita su un'immagine in due dimensioni, esiste anche la possibilità di usare l'ecografia 3D che, oltre a consentire una visualizzazione più rapida e precisa, aiuta a ridurre la variabilità interosservatore.

La somma dei follicoli presenti nelle due ovaie (AFC totale) viene utilizzata frequentemente nei centri di procreazione assistita, mentre il numero per singolo ovaio (FNPO: Follicle Number Per Ovary) viene utilizzato in genere nella pratica clinica ginecologica come, ad esempio, per la valutazione della policistosi ovarica (28,29).

Va comunque sempre considerato che avere una ridotta riserva ovarica non implica necessariamente difficoltà nel concepimento spontaneo. Questo esame, non a caso, è indicato generalmente in donne con un'età >35 anni che stiano cercando una gravidanza senza risultato da almeno 6 mesi o, in alternativa, aventi una storia clinica che le esponga ad un rischio di ridotta riserva ovarica. Fattori di rischio in questo senso sono precedenti trattamenti radioterapici oppure chemioterapie a base di farmaci gonadotossici (30).

Inoltre, il numero di follicoli antrali può aiutare a predire l'entrata in menopausa: in presenza di un $AFC \leq 4$ il rischio a 7 anni è del 35%, mentre si attesta attorno al 13% per un $AFC >4$ (31).

La valutazione ecografica dei follicoli riveste un ruolo molto importante in ambito di procreazione medicalmente assistita in quanto, oltre all'iniziale stima della riserva ovarica, consente di seguire la crescita dei follicoli durante il percorso di stimolazione ovarica e controllare che la paziente non vada incontro ad una iperstimolazione ovarica con tutto ciò che essa comporta.

Nomenclatura	FNPO	Interpretazione nella pratica clinica
Conta follicolare bassa	1-3	Aumentato rischio di menopausa nell'arco di 7 anni
Conta follicolare normale	2-24	Conta normale per donne in età riproduttiva
Conta follicolare elevata	≥ 25	Alto rischio di iperandrogenismo
AFC totale		
Riserva ovarica funzionale molto bassa	0-4	Rischio molto alto di scarsa risposta al trattamento di stimolazione ovarica con scarse probabilità di gravidanza
Riserva ovarica funzionale bassa	5-8	Alto rischio di scarsa risposta alla stimolazione ovarica
Riserva ovarica funzionale normale	9-19	Elevato numero di follicoli reclutabili con aspettativa di normale risposta alla stimolazione
Riserva ovarica funzionale elevata	≥ 20	Elevato rischio di eccessiva risposta alla stimolazione e OHSS

Tabella II. *Suggerimenti per l'interpretazione della conta follicolare nella pratica ginecologica generale e prima della stimolazione ovarica nei centri di PMA. Note: FNPO, follicle number per ovary; AFC, antral follicle count (somma dei follicoli di entrambe le ovaie); OHSS, ovarian hyperstimulation syndrome (32).*

1.3 La procreazione medicalmente assistita (PMA)

1.3.1 Definizione ed epidemiologia

Più volte in questa trattazione è stata citata la procreazione medicalmente assistita (PMA) e può essere interessante avere qualche dettaglio in più visto il ruolo sempre maggiore che essa riveste all'interno di una società in cui il problema dell'infertilità di coppia sta diventando più rilevante.

Per dare una definizione, per "PMA" si intende l'insieme delle tecniche utilizzate per favorire il concepimento nelle coppie in cui il concepimento spontaneo risulti impossibile o estremamente difficile e nei casi in cui altri interventi farmacologici e/o chirurgici si siano dimostrati inadeguati. Essa si avvale di diversi tipi di procedure che comportano la manipolazione di ovociti, spermatozoi o embrioni

nell'ambito di un trattamento finalizzato a realizzare una gravidanza. In particolare, esistono diverse opzioni terapeutiche suddivise in tecniche di I, II e III livello a seconda del grado di invasività e di complessità che le caratterizza: le metodiche di I livello sono semplici e poco invasive e prevedono che la fecondazione si realizzi all'interno dell'apparato genitale femminile. Le tecniche di II e III livello sono invece più complesse e, in questi casi, la fecondazione vera e propria avviene in vitro (33).

In Italia, l'accesso alla PMA è regolamentato dalla legge numero 40 dell'anno 2004. Secondo l'articolo 4, "il ricorso alle tecniche di PMA è consentito solo quando sia accertata l'impossibilità di rimuovere altrimenti le cause impeditive della procreazione ed è comunque circoscritto ai casi di sterilità o di infertilità inspiegate documentate da atto medico nonché ai casi di sterilità o di infertilità da causa accertata e certificata da atto medico". Lo stesso articolo specifica anche che "le tecniche di PMA sono applicate in base ai principi di gradualità, al fine di evitare il ricorso ad interventi aventi un grado di invasività tecnico e psicologico più gravoso per i destinatari, e di consenso informato". All'articolo 5 vengono poi specificati i requisiti necessari per ricorrere alla PMA, specificando che "possono accedere alle tecniche di PMA coppie di maggiorenni di sesso diverso, coniugate o conviventi, in età potenzialmente fertile, entrambi viventi" (34).

Dalla relazione del Ministero della Salute riguardo all'attività dei centri di fecondazione artificiale dell'anno 2021 che ha considerato il totale delle tecniche di I, II e III livello, con gameti della coppia e gameti donati, sia con cicli a fresco che con crioconservazione, sono emersi i dati riportati nella tabella III.

Centri attivi	340 (di cui 100 pubblici, 19 privati convenzionati, 221 privati)
Coppie trattate	86.090 (74037 con gameti della coppia + 12053 con gameti donati)
Cicli iniziati	108.067 (in aumento rispetto agli 80.099 del 2020)
Gravidanze ottenute	23.404 (in aumento rispetto alle 15.862 gravidanze del 2020)
Bambini nati vivi tramite PMA	16.625 (pari al 4.2% del totale dei bambini nati vivi nel 2021)

Tabella III. Attività dei centri italiani di PMA del 2021. Relazione del Ministero della salute (35)

Salta all'occhio come i centri di PMA di II e III Livello privati siano il doppio rispetto alla somma di centri pubblici + privati convenzionati; tuttavia, essi svolgono meno cicli di trattamento con tecniche di II-III livello che utilizzano gameti della coppia. In generale, il 62,1% dei cicli di trattamenti di II e III Livello con gameti della coppia si effettua all'interno del SSN, mentre solo il 27,4% dei cicli con gameti donati viene effettuato in centri pubblici o privati convenzionati a fronte del restante 72,6% che viene eseguito in centri privati. Dal punto di vista delle strutture convenzionate, il Nord del Paese riesce a dare una migliore offerta ai cittadini. Inoltre, un consistente numero di centri PMA di II e III Livello presenti sul territorio nazionale svolge un numero ridotto di procedure nell'arco dell'anno. Solo il 32,6% di questi centri ha eseguito più di 500 cicli, contro una media europea del 47,3% (European IVF Monitoring, EIM anno 2018). Resta elevata l'età media delle donne che si sottopongono alle tecniche a fresco con gameti della coppia, per la precisione 36,8 anni (gli ultimi dati dal Registro Europeo riportano un'età media di 35 anni per il 2018), mentre è in calo la percentuale di donne con più di 40 anni che si sottopone alle tecniche di PMA a fresco (35,8% nel 2020, 34,4% nel 2021). La principale indicazione per i cicli di fecondazione eterologa (e quindi con ovodonazione) rimane l'avanzata età materna, indicando come questa tecnica sia sfruttata soprattutto per infertilità fisiologica più che per patologie specifiche. In generale, l'efficacia dell'applicazione delle tecniche di II-III livello con gameti della coppia è leggermente migliorata nonostante il costante incremento dell'età media delle donne trattate. È diminuito anche il numero di trasferimenti di più embrioni in utero con conseguente riduzione sia di parti gemellari che trigemini, che restano in linea con la media europea (35).

1.3.2 Tecniche di PMA

Come già anticipato, per «tecniche di PMA» si intendono tutti quei procedimenti che prevedono il trattamento di ovociti umani, spermatozoi o embrioni nell'ambito di un progetto che ha l'obiettivo di ottenere una gravidanza. Queste procedure possono essere eseguite sia con gameti della coppia che con gameti donati e includono: l'inseminazione intrauterina, la fecondazione in vitro e il trasferimento intrauterino di embrioni, la microiniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo, la crioconservazione dei gameti e degli embrioni, la biopsia embrionale per eseguire i test genetici di preimpianto.

Queste procedure sono attualmente suddivise su tre livelli a seconda del diverso grado di invasività sia tecnica sia psicologica sulla coppia (36).

Segue un riassunto delle principali tecniche suddivise secondo i tre livelli.

- Tecniche di I Livello:
 - inseminazione intracervicale/sopracervicale in ciclo naturale eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale;
 - induzione dell'ovulazione multipla associata ad inseminazione sopracervicale eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale;
 - eventuale crioconservazione dei gameti maschili.
- Tecniche di II Livello (procedure eseguibili in anestesia locale e/o sedazione profonda):
 - prelievo degli ovociti per via vaginale;
 - fecondazione in vitro e trasferimento dell'embrione (FIVET);
 - iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI);
 - trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT) per via transvaginale o guidata o isteroscopica.
 - prelievo testicolare dei gameti (prelievo percutaneo o biopsia testicolare);
 - eventuale crioconservazione di gameti maschili e femminili ed embrioni (nei limiti delle normative vigenti);
- Tecniche di III Livello (procedure che necessitano di anestesia generale con intubazione):
 - prelievo microchirurgico di gameti dal testicolo;
 - prelievo degli ovociti per via laparoscopica;
 - trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT) per via laparoscopica (37).

1.4 Il complesso ruolo della tiroide nella fertilità

1.4.1 La tiroide nella fisiologia della riproduzione femminile

Diversi studi hanno dimostrato un'alta prevalenza di patologie tiroidee (sia disfunzionali che autoimmuni) nelle donne in età fertile. Dati epidemiologici mostrano come in Europa, in donne tra i 20 e i 45 anni, la prevalenza dell'ipotiroidismo subclinico sia compresa tra il 5-7%, quella dell'ipotiroidismo conclamato tra lo 0.2-4.5%, dell'ipertiroidismo tra 0.3-1% e, per quanto riguarda le patologie autoimmuni che coinvolgono la tiroide (tiroidite di Hashimoto e morbo di Basedow-Graves), essa raggiunge il 5-10%. Le differenze tra le varie aree geografiche dipendono, tra le altre cose, dall'apporto iodico, dall'etnia e dai cut-off utilizzati per definire l'ipotiroidismo subclinico (38).

Lo sviluppo follicolare ovarico attraversa più fasi: il follicolo primordiale diventa prima follicolo primario, poi follicolo secondario, follicolo preantrale fino ad arrivare alla fase di follicolo antrale. L'ovocita è circondato da strati di cellule della granulosa, fondamentali per uno sviluppo adeguato degli ovociti (39). L'impatto degli ormoni tiroidei sulla regolazione della funzionalità riproduttiva femminile è stato supportato dall'identificazione del recettore per ormone tireotropo TSH (TSH receptor, TSHR), nonché dei recettori per gli ormoni tiroidei TR α 1, TR α 2 e TR β 1, sia sulla superficie dell'epitelio ovarico che all'interno degli ovociti e delle cellule della granulosa con un'espressione specifica a seconda dei diversi stadi dello sviluppo follicolare (40) Si è anche visto che l'endometrio espone tali recettori in concentrazioni differenti durante le varie fasi del ciclo mestruale (41). Inoltre, un numero sempre maggiore di studi sta dimostrando il ruolo degli ormoni tiroidei nella fase di impianto e nello sviluppo fetale precoce attraverso azioni sulla placenta e sull'endometrio (42).

L'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide sfrutta meccanismi diretti e indiretti nella regolazione della funzionalità dell'apparato riproduttivo femminile. Gli ormoni tiroidei sono infatti coinvolti, in sinergia con l'ormone follicolo-stimolante (FSH), nell'attivazione delle cellule della granulosa e ne conseguono diversi eventi: l'incremento del processo di differenziazione con riduzione dell'apoptosi, l'aumento dell'espressione dei recettori per l'ormone luteinizzante (LH), l'induzione dell'attività di enzimi quali la 3 β -idrossisteroidodeidrogenasi (3 β -HSD) e l'aromatasi, cui segue un aumento dei livelli di estrogeni circolanti (43). Il picco estrogenico costituisce, all'interno del ciclo mestruale, l'evento trigger per

l'ovulazione, motivo per cui un'alterazione degli equilibri ormonali potrebbe interferire con essa e comprometterla (44). Inoltre, gli ormoni tiroidei influenzano indirettamente la funzionalità dell'asse gonadotropo, regolando il rilascio di prolattina (PRL), di Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH), di proteine di trasporto degli ormoni sessuali come la Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) ma anche di specifici fattori della cascata della coagulazione (45). D'altro canto, gli ormoni riproduttivi possono influenzare la tiroide: l'esempio più rappresentativo in questo senso è la gonadotropina corionica umana (hCG) che, per la sua elevata omologia strutturale con il TSH, cross-reagisce con il TSHR, determinando un'associazione lineare di hCG con la tiroxina libera (FT4) e, successivamente, un'associazione inversa di hCG con i livelli di TSH nel corso della gravidanza (46).

1.4.2 L' impatto delle disfunzioni tiroidee sulla fertilità femminile

È noto come sia l'ipotiroidismo che l'ipertiroidismo possano influenzare il corretto metabolismo degli ormoni sessuali steroidei e la funzione ovarica; il rischio relativo di infertilità femminile, inoltre, è risultato maggiore in donne con endometriosi e positività per gli anticorpi anti-tireoperossidasi. Questo suggerisce come l'interazione con i recettori per gli ormoni tiroidei presenti a livello delle cellule endometriali disseminate potrebbe essere coinvolta nella patogenesi dell'infertilità stessa (47).

L'ipotiroidismo, in particolare, è in grado di determinare nella donna in età fertile una serie di alterazioni ormonali che possono esitare nello sviluppo di disturbi del ciclo mestruale, fino ad una vera e propria riduzione della fertilità.

In primo luogo, la riduzione dei livelli circolanti di ormoni tiroidei è in grado di determinare una riduzione della clearance dell'androstenedione e dell'estrone (E1), nonché un aumento dell'aromatizzazione periferica degli androgeni (48). Inoltre, la riduzione dei livelli di SHBG determina una riduzione dei livelli di testosterone totale e di 17- β estradiolo (E2) ma, allo stesso tempo, un aumento delle loro frazioni libere, ovvero quelle biologicamente attive. Si è visto come, ripristinando l'eutiroidismo tramite una terapia sostitutiva con levotiroxina, i livelli degli ormoni in questione ritornino nella norma (49). Ci sono evidenze che l'ipotiroidismo si possa associare anche ad un aumento delle concentrazioni sieriche di prolattina, probabilmente anche per un aumento del Thyrotropin Releasing Hormone (TRH). L'iperprolattinemia è in grado di compromettere la secrezione pulsatile di GnRH e di conseguenza anche di LH e FSH con le disfunzioni ovulatorie che ne derivano

(50). Complessivamente, in donne con ipotiroidismo conclamato si verificano alternazioni del ciclo mestruale con una frequenza tre volte maggiore rispetto a quelle eutiroidee. La relazione tra ipotiroidismo subclinico ed infertilità rimane ancora poco chiara; ad ogni modo, ad oggi si ritiene che l'associazione tra ipotiroidismo subclinico e riduzione della fertilità diventi consistente a partire da livelli di TSH > 4 mUI/L (38).

Anche l'ipertiroidismo può associarsi ad alterazioni degli ormoni sessuali con una riduzione del potenziale fertilità femminile anche se si è visto che, nella maggior parte dei casi, le donne ipertiroidiche mantengono l'ovulazione. Se si considera però il caso del morbo di Basedow-Graves, nella patogenesi dell'infertilità vengono ad essere coinvolte alterazioni del sistema immunitario, oltre che quelle ormonali (38). Sono stati trovati autoanticorpi tiroidei all'interno del fluido follicolare e, anche se non è chiaro il meccanismo fisiopatologico sottostante, secondo alcune ipotesi, la loro presenza potrebbe determinare, con un meccanismo di tipo citotossico, delle alterazioni a livello di follicologenesi con una riduzione del potenziale di fertilizzazione dell'ovocita da parte dello spermatozoo (51).

La ricerca degli autoanticorpi nel liquido follicolare potrebbe costituire un indicatore utile da sfruttare nell'analisi della qualità ovocitaria che, pur rimanendo difficile da valutare, è sicuramente meritevole di approfondimento.

Viste le implicazioni della funzionalità tiroidea sulla regolazione degli ormoni sessuali e quindi, in potenza, sulla patogenesi dell'infertilità, la ricerca si sta muovendo sempre di più per cercare di chiarire i nessi fisiopatologici sottostanti con le relative implicazioni cliniche che ne potrebbero derivare.

Ad oggi disponiamo di risultati contrastanti circa la relazione tra i livelli di TSH e la riserva ovarica in studi condotti principalmente in donne seguite da centri di PMA e quindi già note per un problema di subfertilità/infertilità (52).

1.4.3 Lo Iodio

Lo iodio è un micronutriente essenziale per il nostro organismo, fondamentale per la sintesi degli ormoni tiroidei. Come già anticipato, un'adeguata funzione tiroidea è necessaria per il normale metabolismo e, durante la gestazione, garantisce un adeguato neurosviluppo del feto che si continua poi nel bambino, in particolare nei primi anni di vita.

Lo iodio si trova negli alimenti principalmente in forma ionizzata (ioduro) e viene efficacemente assorbito a livello di stomaco e duodeno. L'uptake nei tessuti è

successivamente mediato dal simporto Sodio-Iodio (NIS) che è stato trovato, in concentrazioni progressivamente discendenti, in tiroide ma anche ovaie, endometrio uterino, stomaco e mammella (53). Nella ghiandola tiroidea lo iodio è vitale per il funzionamento enzimatico della perossidasi e per la iodinazione della tireoglobulina, step essenziali per la sintesi ormonale. Un deficit di questo ione può facilmente correlarsi ad un ipotiroidismo, che risulta essere di particolare interesse nelle donne in gravidanza ma non solo. Si è visto che l'ipotiroidismo e la presenza di autoanticorpi tiroidei portano ad un aumentato rischio di subfertilità e aborti (anche ricorrenti); questo rende dunque necessario assicurarsi un sufficiente apporto iodico anche nella fase di concepimento (54).

Gruppo di popolazione	Introito iodico raccomandato (µg/die)
Donna in gravidanza	250
Donna in allattamento	250
Adolescenti (>12 anni e adulti)	150
Bambini in età scolare (6-12 anni)	120
Bambini in età prescolare (0-59 mesi)	90

Tabella IV. Dosi giornaliere raccomandate. WHO 2007.

Più nello specifico, in caso di insufficiente apporto iodico, la tiroide si adatta al cambiamento mediante meccanismi TSH-dipendenti. In caso di riduzione dell'introito compresa tra 100 e 50 µg/die si verifica un'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, con un aumento della secrezione di TSH, cui consegue un'aumentata clearance dello iodio da parte della tiroide mediante un'iperpressione trasportatore di simporto Sodio-Iodio. Il TSH, inoltre, stimola una sintesi preferenziale di T3 rispetto a T4 e una riduzione della clearance renale dello iodio. Nel caso in cui il deficit sia più marcato (<50 µg/die) e prolungato la compensazione non sarà più efficace, determinando una ridotta secrezione ormonale, un incremento del TSH fino a portare, eventualmente, alla comparsa di gozzo tiroideo (55).

L'introduzione del sale iodato ha ridotto significativamente la prevalenza di deficit iodico in numerosi Paesi in tutto il mondo; tuttavia, circa un terzo della popolazione mondiale vive ancora in aree geografiche in cui la carenza iodica e i problemi ad essa correlati sono endemici.

Vanno però fatte ulteriori considerazioni per capire quanto sia importante continuare ad informare la popolazione sull'importanza dello iodio. Dai risultati del monitoraggio sulla iodoprofilassi in Italia riferita al periodo 2015-2019, la regione Veneto è risultata per la prima volta iodosufficiente, e in questo sicuramente ha giocato un ruolo importante il programma di iodoprofilassi che ha incentivato l'utilizzo di sale iodato. Tuttavia, considerando anche le altre regioni italiane, sono state evidenziate importanti differenze sulla base delle differenti abitudini alimentari, in termini di consumo di sale iodato ma anche di prodotti caseari come latte e yogurt, uova, pesce bianco, frutti di mare. Il latte rappresenta la principale fonte alternativa di iodio nella dieta, anche dato il fatto che i foraggi degli animali da cui si ricava vengono spesso supplementati proprio con lo iodio (56,57). Per fare un esempio, l'assunzione di una tazza di latte al giorno è in grado di fornire 70-80 µg di iodio, che corrisponde circa a metà del fabbisogno ottimale durante l'infanzia e la vita adulta e circa 1/3 del fabbisogno ottimale di iodio in corso di gravidanza. La valutazione dello status iodico nella donna in età fertile in particolare risulta essere un punto importante viste le possibili ripercussioni che si associano ad un apporto iodico insufficiente in gravidanza (58).

1.4.3.1 Stima dello status iodico mediante UIC

La maggior parte dello iodio introdotto con la dieta (circa il 90%) viene eliminato con le urine nell'arco di 24-48 ore. La ioduria spot (UIC, Urinary Iodine Concentration) risulta essere un indicatore accurato per valutare l'intake iodico (µg/L). In alternativa, la UIC può essere espressa anche come concentrazione in relazione all'escrezione di creatinina (µg/g di creatinina) oppure come escrezione totale nelle 24 ore (µg/die). La UIC, tuttavia, può variare da un giorno all'altro come anche all'interno della stessa giornata, può essere condizionata da alterati valori di filtrazione renale e di idratazione ed è un parametro che riflette solo un recente intake iodico. Questa variabilità risulta comunque trascurabile se il dato viene raccolto all'interno di una campione che comprenda almeno 30 soggetti anche se, per stimare in maniera appropriata l'introito di iodio in un individuo, sarebbe opportuno valutare la UIC in almeno 10 campioni urinari per ciascuno (59). Va considerato che le urine spot del mattino sono facili da ottenere, quindi sicuramente preferibili per uno screening su ampia scala rispetto alla raccolta delle urine delle 24 ore.

Concentrazione urinaria mediana ($\mu\text{g/L}$)	Introito iodico	Status iodico
<20	Insufficiente	Severo deficit iodico
20-49	Insufficiente	Moderato deficit iodico
50-99	Insufficiente	Lieve deficit iodico
100-199	Adeguato	Adeguato 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 V. 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).

1.4.4 Iodio e funzionalità ovarica

È ormai risaputo che, dopo la tiroide, l'ovaio è l'organo in cui le concentrazioni di iodio sono più alte. La captazione iodica varia nel corso delle varie tappe dello sviluppo sessuale nella donna: è più bassa in età prepuberale e post-menopausale, maggiore in fase di maturazione follicolare e ridotta durante la gravidanza (60). Il ritrovamento del simporto Sodio-Iodio a livello ovarico ha permesso di identificare un possibile meccanismo da cui dipende l'uptake iodico in questo distretto anche se rimane ancora dubbio il significato fisiopatologico dell'accumulo di tale ione a livello ovarico. Come già anticipato, questo trasportatore, almeno nella tiroide, è fondamentale per la sintesi degli ormoni tiroidei su stimolo del TSH. Inoltre, il NIS è in grado di trasportare pertecnetato, tecnezio e diversi altri ioni che fungono da inibitori competitivi sostituendosi allo iodio (61).

Normalmente, il TSH promuove indirettamente la crescita follicolare e quindi l'ovulazione mediante interazione con il recettore per l'FSH vista la sua somiglianza strutturale con tale ormone; il suo contributo si manifesta

principalmente nel passaggio dalla fase di follicolo preantrale a quella di follicolo antrale (62).

Sembra però che lo iodio eserciti, a livello ovarico, anche un'azione diretta. Studi che avevano lo scopo di valutare l'impatto dei trattamenti con iodio radioattivo sul tessuto ovarico hanno dimostrato che i follicoli più piccoli e in crescita sono particolarmente avidi di iodio e questo pare avere un ruolo cruciale per le attività secretorie delle cellule della granulosa. Inizialmente, lo iodio si accumula, nell'arco di 4h, nelle pareti del follicolo di Graaf per poi passare nel fluido follicolare (FF) (63). Gli estrogeni sono in grado di modificare l'uptake iodico a livello ovarico: l'estradiolo promuove la proliferazione ma down regola l'espressione genica del simporto Sodio-Iodio (64).

Diversi studi su animali hanno dimostrato come avere un ottimale livello di iodio, non sbilanciato né in difetto né in eccesso, potrebbe correlarsi ad un'adeguata riserva ovarica e una buona funzione riproduttiva. Ad esempio, una deficienza iodica artificialmente riprodotta nei bovini ha portato a cicli anovulatori; dall'altro lato invece, l'aggiunta di iodio alla loro alimentazione ha mostrato un aumento del tasso di gravidanza, suggerendo una correlazione tra iodio e ovulazione (65).

Il successo di una gravidanza dipende da molti fattori, tra i quali sicuramente una complessa interazione tra citochine e cellule immunitarie. Si è visto inoltre come una sregolata distribuzione linfocitaria insieme ad un'anormale espressione di citochine si associ a ricorrenti fallimenti d'impianto in donne affette da endometriosi cronica (66). Studi su modelli murini hanno dimostrato come un eccesso di iodio possa alterare l'equilibrio tra i diversi subset linfocitari con soppressione dei Treg e up-regolazione dei linfociti Th17 cui segue una promozione dell'infiammazione (67).

1.4.5 Iodio e infertilità idiopatica

Nonostante il deficit di iodio sia un problema di grande rilievo, non ci si è ancora particolarmente concentrati su come una sua lieve o moderata carenza possa influenzare la probabilità per una donna di rimanere incinta. Si stima che più del 30% delle donne in età fertile non in gravidanza abbia una UIC $<100\mu\text{g/L}$ (68).

Uno studio in particolare ha dimostrato come, su un gruppo di donne tra i 18 e i 40 anni di cui è stata valutata la ioduria, coloro che riportavano un deficit moderato/severo avevano anche una riduzione del 46% di probabilità di rimanere incinta ad ogni ciclo mestruale rispetto alla controparte con i valori in range (69).

Come già detto in precedenza, in quanto a significato biologico, lo iodio è cruciale per la sintesi degli ormoni tiroidei. Bassi livelli di questi ormoni, infatti, sono associati ad un aumento del TSH che interferisce con la pulsatilità del GnRH, alterando le concentrazioni di androgeni ed estrogeni (70). Inoltre, si è visto che sono presenti recettori per gli ormoni tiroidei a livello di ovociti, cellule della granulosa e del cumulo ooforo (71).

Questi sono solo alcuni dei meccanismi con cui lo iodio potrebbe impattare sulla fertilità.

Tuttavia, sarebbe utile avere più dati prima di poter effettivamente considerare il deficit di iodio tra le cause di infertilità di origine sconosciuta con tutte le conseguenze che ne deriverebbero, in particolare per quel che riguarda la gestione della donna con difficoltà nel concepimento.

1.4.6 Alterazioni della funzionalità tiroidea in corso di stimolazione ovarica

Alcune evidenze mostrano che il trattamento di stimolazione ovarica può avere un impatto sulla funzionalità tiroidea determinandone delle fluttuazioni; tuttavia, il processo fisiopatologico sottostante non è ancora stato del tutto chiarito.

Il nesso ipotizzato è che l' incremento delle concentrazioni sieriche di estrogeni a seguito della stimolazione con gonadotropine porti ad un aumento della proteina legante gli ormoni tiroidei (TBG), e riduzione dei livelli di T4 libero circolante, stimolo per la sintesi di TSH (72).

Ci sono tuttavia risultati contrastanti che richiedono approfondimento con ulteriori studi.

1.4.7 Iodio in gravidanza

Va sempre tenuto a mente che, durante la gravidanza, il fabbisogno di ormoni tiroidei e dell'apporto alimentare di iodio aumentano di circa il 50% a seguito dell'aumento della clearance renale dello iodio, dell'elevata concentrazione di TBG dovuta agli estrogeni e dell'aumentato metabolismo periferico degli ormoni tiroidei (per la deiodinazione che avviene a livello placentare). Inoltre, durante il primo trimestre di gravidanza, il feto dipende dagli ormoni tiroidei materni, che vengono trasferiti attraverso la placenta, mentre a partire dalla 12esima settimana l'apporto alimentare di iodio della madre diventa fondamentale per garantire una biosintesi adeguata di ormoni tiroidei da parte della tiroide fetale. L'apporto iodico adeguato per una donna in gravidanza passa da 150 µg/die a 250 µg/die, che corrisponde a

un valore di ioduria $> 150 \mu\text{g/L}$. Se questa condizione non viene rispettata le conseguenze possono essere anche molto gravi, sia nella madre che nel feto: si potrebbe andare incontro a gozzo materno e fetale, ridotta crescita intrauterina, ipotiroidismo neonatale, aborto spontaneo, ritardo nello sviluppo e nella maturazione del cervello fetale con deficit psicomotori fino al cretinismo vero e proprio (56,73). Uno studio, tra l'altro, ha dimostrato come la supplementazione iodica durante la gravidanza si associ significativamente a maggiori livelli di UIC nel neonato senza determinare alterazioni nella funzionalità tiroidea materna in termini di iperstimolazione (74).

1.5 Nuove prospettive in ambito di infertilità e PMA

1.5.1 La valutazione della qualità ovocitaria

I tassi di infertilità sono in continuo aumento a livello mondiale per tutte le ragioni che sono state precedentemente discusse, con un particolare accento sull'aumento dell'età media a cui le coppie iniziano a cercare seriamente una gravidanza e agli stili di vita odierni. Il ricorso alla PMA è sempre maggiore e le tecniche utilizzate stanno diventando sempre più raffinate; nonostante questo, la percentuale di successo rimane intorno al 35% per embrione trasferito, e diminuisce in relazione all'età della donna e ai suoi parametri di riserva ovarica (75).

Uno dei fattori che influisce sulla fertilità femminile e soprattutto sull'efficacia delle tecniche di riproduzione assistita è sicuramente la qualità degli ovociti. Buoni ovociti saranno tendenzialmente in grado di dare origine ad embrioni con una maggior capacità di annidamento nell'utero materno (76).

In genere, la qualità ovocitaria e successivamente embrionale viene valutata al microscopio sfruttando criteri essenzialmente morfologici. Nel 2011 è stato elaborato a Istanbul un consensus internazionale, la cui ultima revisione è proprio di quest'anno, che riporta le linee guida per l'interpretazione qualitativa di ovociti, zigoti ed embrioni su cui si può basare, ad esempio, anche la scelta dell'embrione da trasferire al primo tentativo di transfer (77). Questa metodica, tuttavia, ha lo svantaggio di basarsi su caratteristiche puramente qualitative, oltre ad essere operatore dipendente e a richiedere una formazione molto specialistica al fine di un'adeguata interpretazione. Diversi studi stanno focalizzando la loro attenzione proprio sulla ricerca di metodi alternativi che possano essere più oggettivi e

riproducibili nell'ambito della valutazione della qualità intesa come potenziale di sviluppo dell'ovocita (78).

In particolare, sta suscitando molto interesse lo studio del liquido follicolare raccolto in fase di pick-up successivo alla stimolazione ovarica. Al suo interno sono state trovate, infatti, numerose molecole biologicamente attive che potrebbero giocare un ruolo importante per lo sviluppo follicolare.

Ad esempio, è stata rilevata la presenza di diverse proteine a basso peso molecolare appartenenti alla famiglia dell'IGF (Insulin Growth Factor) attorno agli ovociti maturi; anche lo zinco sembra essere un potenziale marker qualitativo: uno studio in particolare ha dimostrato che donne con livelli di zinco $<35\mu\text{g/ml}$ all'interno del liquido follicolare risultavano avere un minor numero di ovociti maturi al momento della raccolta, con una qualità embrionale più scadente. Lo zinco sembrerebbe essere implicato nei processi di meiosi che coinvolgono i gameti femminili e, inoltre, tale ione partecipa alla sintesi di vitamina A, implicata nei processi maturativi follicolari (79).

Meritevole di attenzione e approfondimento è anche, come già accennato, il ritrovamento, a livello del liquido follicolare, di autoanticorpi tiroidei: questi, infatti, potrebbero danneggiare l'ovocita in maturazione tramite un meccanismo di citotossicità anticorpo-mediata (80). La relazione fisiopatologica e l'effettivo impatto sulla qualità ovocitaria, tuttavia, non sono ancora noti e necessitano di ulteriori studi.

2. Scopo dello studio

Questo studio vuole valutare, sebbene in maniera preliminare, la possibilità che la ioduria basale e quindi lo status iodico della donna insieme alla sua funzionalità tiroidea possano essere coinvolti nella determinazione dell'infertilità, in particolare per i casi senza una causa riconoscibile, mettendoli in relazione con i principali indicatori di riserva ovarica.

3. Materiali e metodi

Si tratta di uno studio osservazionale monocentrico condotto presso l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale (UOSD) di Procreazione Medicalmente Assistita dell'Azienda ospedaliera di Padova in cui sono stati raccolti i dati di 24

pazienti donne di età compresa tra i 31 e i 42 anni, rivoltesi al centro per difficoltà nel concepimento.

I dati fanno riferimento a prescrizioni avvenute tra Febbraio e Aprile 2024 in occasione delle prime visite o delle visite di controllo in previsione di un ciclo di stimolazione ovarica. Nessuna tra le pazienti era dunque in corso di trattamento.

Per rendere il campione il più possibile omogeneo sono state escluse dallo studio le donne con una patologia tiroidea nota, già controllata farmacologicamente, insieme a coloro che hanno riferito di assumere integratori o multivitaminici contenenti iodio in quanto questi prodotti sono in grado di falsare il dato di ioduria.

3.1 Raccolta dei dati

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

La funzionalità tiroidea delle pazienti in esame è stata valutata mediante diversi parametri, riportati di seguito. In primo luogo è stato misurato il valore sierico di TSH, che viene considerato in range nella popolazione generali per valori < 4 mU/L; tuttavia, le linee guida internazionali suggeriscono di tenerlo inferiore a 2,5 mU/L nella fase di preconceppimento viste le implicazioni che un ipotiroidismo, anche subclinico, può avere sull'outcome della gravidanza (81,82).

È stata anche considerata la presenza o meno di autoimmunità tiroidea tramite la misurazione nel siero degli autoanticorpi anti-Tg e anti-TPO, presi poi in analisi come “positivi o negativi”.

Per escludere situazioni di patologia tiroidea già nota sono stati raccolti i cenni anamnestici relativi in corso di visita ambulatoriale con eventuale consultazione di referti precedenti.

Per la stima dello status iodico è stata utilizzata la ioduria spot, espressa in $\mu\text{g/L}$. Si definisce un deficit iodico severo per valori di UIC < 50 $\mu\text{g/L}$, un deficit lieve per valori compresi tra 50-100 $\mu\text{g/L}$ e un adeguato introito per valori di UIC > 100 $\mu\text{g/L}$.

Per quanto riguarda invece la valutazione dello stato di fertilità della donna, sono stati presi in considerazione tre parametri che consentono di ottenere una stima della riserva ovarica di partenza: l'FSH, l'AMH e l'AFC. La conta ecografica dei follicoli ha l'obiettivo di individuare il numero di follicoli antrali di diametro compreso tra i 2 e 10 mm reclutati per ciascun ciclo mestruale. Questo dato viene molto utilizzato in ambito di PMA in quanto consente di prevedere l'esito di un trattamento di

stimolazione ovarica, da cui dipende poi il numero di ovociti che potranno essere prelevati in fase di pick-up e successivamente fecondati in vitro. Viene considerato nella norma un valore di AFC totale (intesa come somma dei valori di AFC per singolo ovaio) compreso tra 9-19, mentre una conta follicolare totale < 8 è indice di bassa probabilità di risposta al trattamento in quanto è minore il numero di follicoli che potranno essere stimolati per arrivare a maturazione e poi a pick-up (32).

3.2 Endpoint

Questo lavoro si pone i seguenti obiettivi:

- suddividendo le pazienti sulla base della ioduria in 3 gruppi (deficit grave, deficit lieve, iodosufficienza) studiare la correlazione tra i livelli di ioduria e gli indicatori di riserva ovarica FSH, AMH e AFC.
- mettere in relazione il TSH con AMH e AFC osservando se, sopra un certo valore di TSH, si ha una maggiore probabilità di riscontrare un valore AMH basso per età e/o AFC ridotta.

3.3 Analisi dei dati

Per l'analisi dei dati sono stati utilizzati i metodi ANOVA (analisi della varianza) e l'analisi PCA (Principal Component Analysis), metodo parametrico multivariato in grado di mostrare in modo intuitivo le relazioni tra le variabili. Per lo studio delle correlazioni sono stati utilizzati il coefficiente r di Pearson e altri due metodi (ρ di Spearman e τ di Kendall). Nel correlare il parametro AMH con altri, è stata effettuata una correzione per età per questo valore.

4. Risultati

Il campione, composto da 24 pazienti, è stato inizialmente suddiviso in tre gruppi, risultati numericamente bilanciati, sulla base dei valori di ioduria spot, misurata in $\mu\text{g/L}$. Essendo la ioduria un indicatore dello status iodico, i tre gruppi indicano rispettivamente una condizione di grave deficit ($<50\mu\text{g/L}$), deficit lieve ($50-100\mu\text{g/L}$) e status iodico adeguato ($>100\mu\text{g/L}$).

Ioduria (gruppi)	N	media	DS
1 ($<50\mu\text{g/L}$)	8	24.375	10.211
2 ($50-100\mu\text{g/L}$)	7	85.286	13.573
3 ($>100\mu\text{g/L}$)	9	184.333	63.216

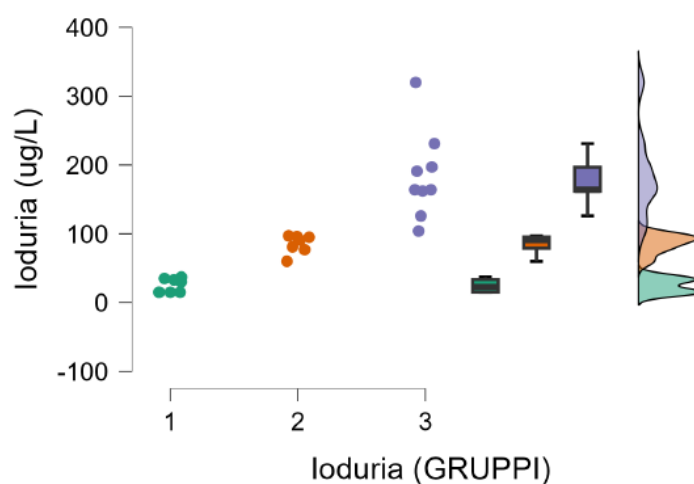


Figura. 5. Suddivisione del campione in tre gruppi sulla base del valore di ioduria spot in quanto indicatore dello status iodico della donna.

N.B per valori di ioduria $<30\mu\text{g/L}$ è stato assegnato un valore di 15, mediana rispetto al range 0-30, per poter procedere con l'analisi statistica.

Vengono riportati a seguire i risultati dell'analisi, effettuata tramite il metodo statistico ANOVA, che aveva lo scopo di ricercare variazioni significative degli indicatori di riserva ovarica presi in esame (FSH, AMH e AFC) in funzione della ioduria e quindi dello status iodico delle pazienti mantenendo, per questa valutazione, la suddivisione nei tre gruppi precedentemente descritti. Non sono tuttavia emerse correlazioni significative ($p > 0.05$).

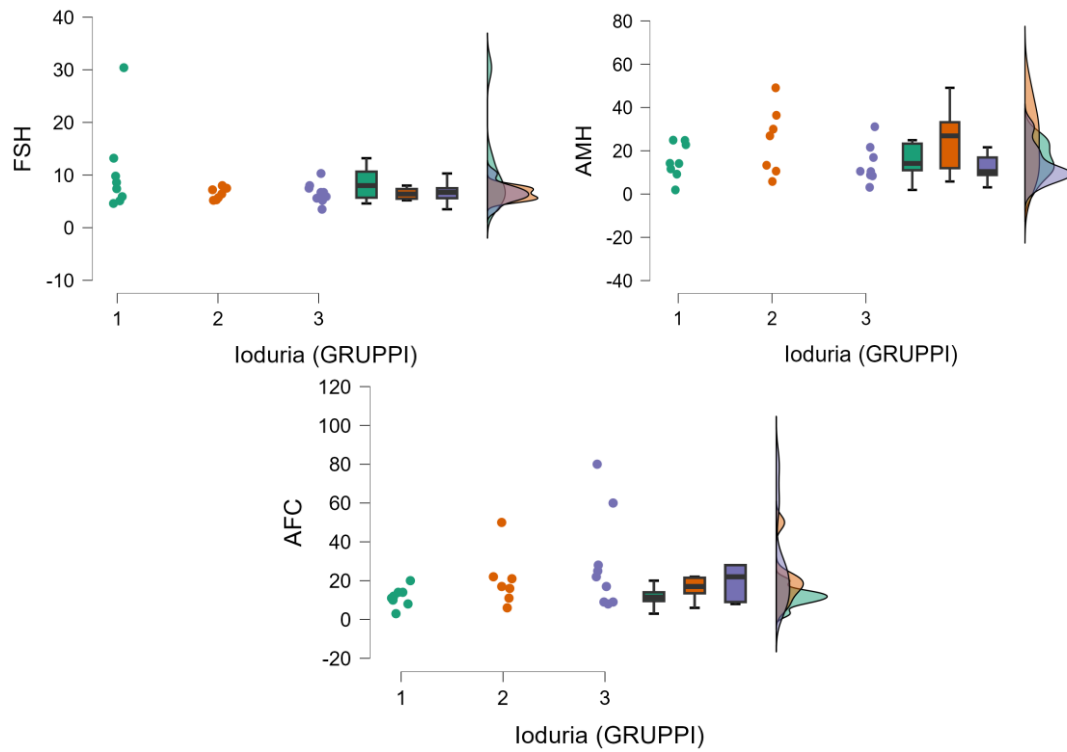


Figura 6. *Variazione dei parametri FSH, AMH e AFC in relazione alla ioduria spot dopo aver suddiviso in campione in tre gruppi.*

La correlazione parametrica e non-parametrica non mostra rapporti significativi tra TSH-AFC, né tra TSH e AMH (con correzione per età). Una correlazione non-parametrica significativa si osserva invece fra AMH e AFC.

	Pearson		Spearman		Kendall	
	r	p	rho	p	tau B	p
TSH - AMH	-0.125	0.570	-0.138	0.531	-0.098	0.511
TSH - AFC	0.299	0.166	-0.082	0.711	-0.065	0.664
AMH - AFC	0.096	0.662	0.512	0.012	0.388	0.009

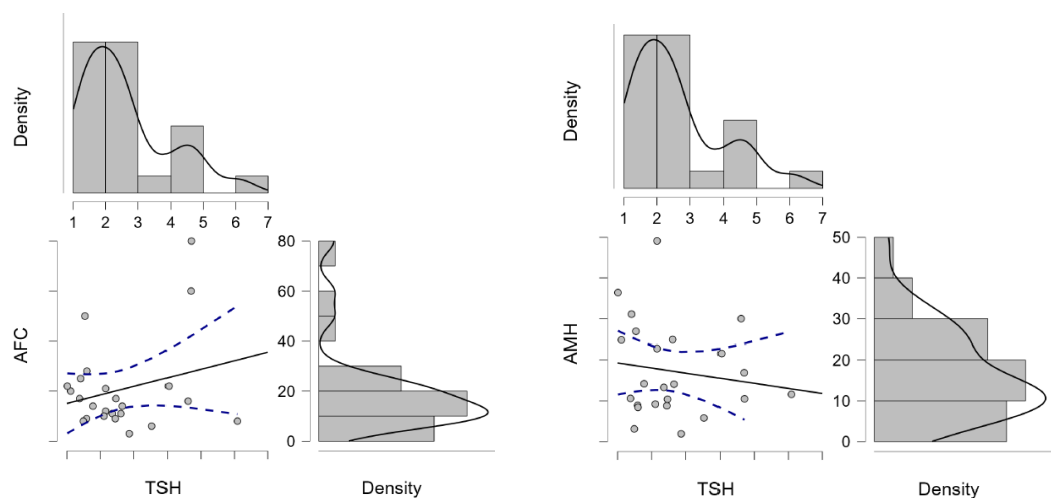


Figura 7. *Correlazione parametrica e non-parametrica TSH-AMH e TSH e AFC.*

Suddividendo i soggetti in base ad un valore di cut-off del TSH a livello del 75° percentile e analizzando i parametri AMH e AFC non sono emerse differenze significative tra i gruppi definiti come “TSH High/TSH Low”.

	Test	Statistic	df	p
AMH	Student	-0.298	22.000	0.769
	Welch	-0.357	12.440	0.727
	Mann-Whitney	54.000		1.000
AFC	Student	1.873	22.000	0.074
	Welch	1.198	5.400	0.281
	Mann-Whitney	63.000		0.570

Suddivisione TSH Low/High con cut off 3.37 (pari al 75° percentile)

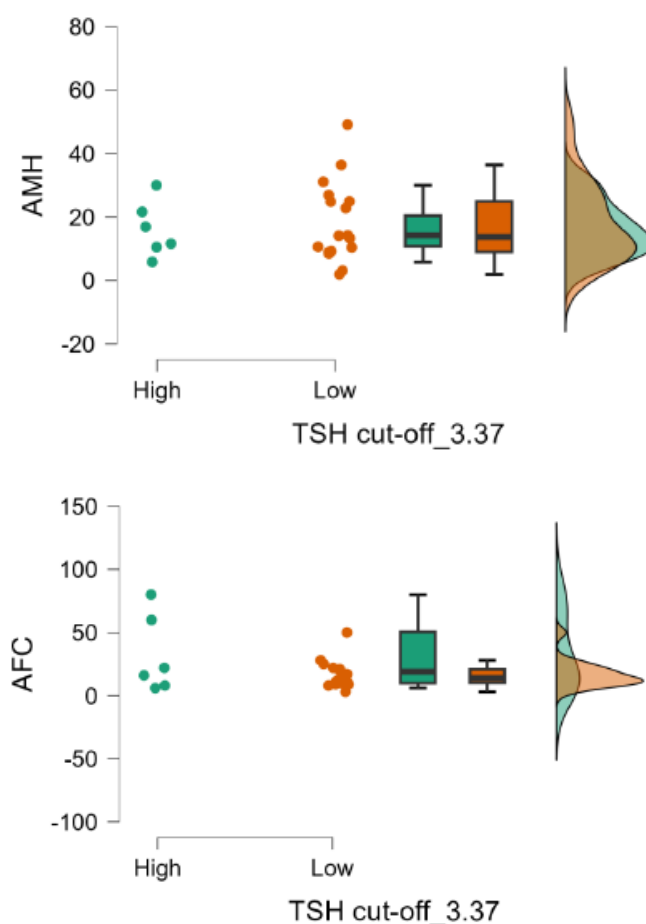


Figura 8. Distribuzione dei valori di AMH e AFC dopo aver suddiviso il campione in due gruppi “TSH low/high” con cut-off pari a 3.37 corrispondente al 75° percentile.

Nel seguente biplot da analisi PCA le frecce rosse rappresentano le variabili e la loro disposizione permette di stabilire la presenza o meno di correlazioni tra esse, sia dirette che inverse. L'angolo acuto che si crea tra ioduria e AFC suggerisce la presenza di una stretta correlazione diretta tra le due variabili; l'AMH invece si correla negativamente con età, FSH e, anche se più moderatamente, TSH (angolo compreso tra 90° e 180°).

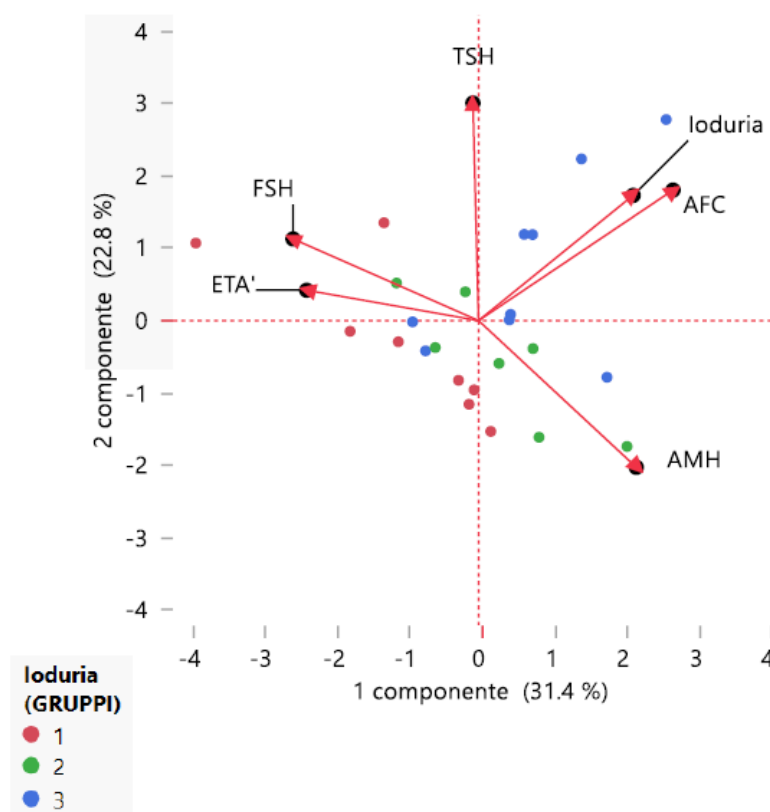


Figura 9. Biplot che mostra intuitivamente le correlazioni esistenti tra le variabili.

5. Discussione

Quello dell'infertilità è un problema che va oltre l'aspetto medico, in quanto può incidere profondamente sul benessere emotivo, psicologico e sociale delle persone coinvolte, e proprio per questo è un tema che suscita particolare interesse nell'ambito della ricerca scientifica. Si stima che, a livello mondiale, circa 1 coppia su 8 si scontri con questa realtà e, nonostante le conoscenze acquisite riguardo le cause sottostanti, ci sono ancora molti punti che restano incompresi (3); la relazione tra funzionalità tiroidea e fertilità femminile, ad esempio, rientra tra questi.

Le unità di Procreazione Medicalmente Assistita costituiscono senza dubbio un ambiente molto favorevole per l'avvio di studi in ambito di infertilità, perché non solo consentono di osservare da vicino il quadro clinico completo di entrambi i

partner, ma permettono anche di entrare nei dettagli molecolari dei diretti interessati nel processo di fecondazione e impianto (ovociti, tessuto endometriale e spermatozoi).

Le disfunzioni tiroidee hanno un'alta prevalenza nelle donne in età fertile. Un tempo l'attenzione si concentrava quasi esclusivamente sul tenere controllata la funzionalità tiroidea in gravidanza principalmente per le possibili ripercussioni che un ipotiroidismo può avere sul feto; tuttavia, negli ultimi anni, si sta considerando sempre di più il ruolo degli ormoni tiroidei anche in fase preconcezionale suggerendo una relazione con lo stato di fertilità della donna a partire dall'ovulazione fino al momento di impianto dell'embrione.

È ormai noto come l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide sia coinvolto tramite meccanismi diretti e indiretti nella regolazione della funzionalità dell'apparato riproduttivo femminile. Gli ormoni tiroidei contribuiscono, in sinergia con l'ormone follicolo-stimolante (FSH), all'attivazione delle cellule della granulosa, fondamentali per lo sviluppo degli ovociti. A livello di queste cellule come anche sulla superficie dell'epitelio ovarico sono stati identificati recettori per il TSH e per gli ormoni tiroidei, con un'espressione e distribuzione specifiche a seconda dello stadio di maturazione del follicolo (40). Allo stesso modo, pare che anche l'endometrio esponga tali recettori in concentrazioni differenti durante le varie fasi del ciclo mestruale (41).

Alcuni studi hanno inoltre dimostrato che la presenza di autoanticorpi tiroidei, ritrovati anche a livello del liquido follicolare, eserciti un impatto negativo sulla qualità embrionaria, definita secondo i criteri di Istanbul (83) ed è documentata la loro associazione con un aumentato rischio di aborti spontanei (84).

Lo status iodico è un altro protagonista nella definizione della funzionalità tiroidea vista la sua implicazione nella sintesi degli ormoni tiroidei stessi; secondo recenti lavori lo iodio sembra anche esercitare anche un'azione diretta a livello ovarico, in particolare sui piccoli follicoli in crescita che ne sono particolarmente avidi, stimolando le attività secretorie delle cellule della granulosa (64). È noto da tempo ormai come una carenza iodica in gravidanza si possa associare ad un'aumentata probabilità di aborto, anomalie congenite, disabilità mentali fino al cretinismo (85), ma è solo negli ultimi anni che si è iniziato a pensare alla possibilità che lo iodio possa avere un certo ruolo anche nella definizione dello stato di fertilità della donna, e quindi in fase preconcezionale. Le prime dimostrazioni sono arrivate da studi su

modelli animali: si è visto, ad esempio, che una deficienza iodica artificialmente determinata nei bovini conduceva a cicli anovulatori e, addirittura, l'aggiunta di iodio ai mangimi si associava a tassi più elevati di gravidanza, suggerendo una correlazione tra iodio e ovulazione (65).

Un recente studio svolto negli Stati Uniti ha coinvolto circa 500 donne con una gravidanza in programma e che, per due mesi, hanno sospeso qualsiasi metodo di contraccezione. Di queste si è ottenuto un campione di ioduria e si è poi osservato il tasso di concepimento nel corso dei successivi cicli mestruali. Complessivamente, coloro che riportavano un deficit moderato/severo hanno anche riportato anche una riduzione del 46% di probabilità di rimanere incinta ad ogni ciclo mestruale rispetto alla controparte con i valori in range. Il suggerimento degli autori rimaneva comunque quello di replicare tali risultati per poterli definire significativi su una scala più ampia (69).

Sono questi i presupposti su cui si fonda lo studio presentato e che hanno portato ad indagare le possibili correlazioni tra gli indicatori di funzionalità ovarica e quelli di funzionalità tiroidea, compresa la ioduria.

A parte un singolo caso, le pazienti prese in esame sono risultate negative per la presenza di autoanticorpi anti-Tg e anti-TPO, pertanto l'autoimmunità tiroidea non è stata presa in considerazione nell'analisi statistica.

Ad un primo sguardo sui risultati salta all'occhio come il campione fosse ben distribuito in tre gruppi sulla base dello status iodico: nella popolazione viene definito un deficit grave per valori di ioduria $<50\mu\text{g/L}$, deficit lieve per valori compresi tra $50\text{-}100\mu\text{g/L}$ e uno stato di iodosufficienza per valori $>100\mu\text{g/L}$.

Ne risulta quindi che, dei casi analizzati, solo il 37,5% si trovasse in una situazione di status iodico adeguato in uno studio condotto in un centro del Veneto, regione che rientra tra le iodosufficienti secondo l'ultimo rapporto sulla iodoprofilassi riferito al periodo 2015-19 (56). Questo è indice del fatto che rimane fondamentale continuare ed estendere la sensibilizzazione della popolazione con campagne di comunicazione dedicate sull'importanza di questo micronutriente con le implicazioni che una sua carenza può avere sulla salute, in particolare delle donne fertili alla ricerca di una gravidanza.

Complessivamente, l'analisi statistica non ha riportato correlazioni significative in relazione ai parametri di fertilità femminile FSH, AMC e AFC valutati nel campione suddiviso in base al diverso status iodico definito dalla ioduria.

Tuttavia, il metodo PCA ha permesso di evidenziare una modesta correlazione negativa tra TSH e AMH e una correlazione positiva tra ioduria e AFC, che sicuramente vale la pena indagare meglio, anche in relazione all'AMH.

Tutte le pazienti in esame sono state valutate prima di iniziare un ciclo di stimolazione ovarica: la spinta ormonale che deriva da questo trattamento è di per sé in grado di alterare la funzionalità tiroidea; in futuro potrebbe essere interessante valutare se, durante il percorso, si evidenziano fluttuazioni nei valori di ioduria, TSH e ormoni tiroidei.

Va sempre tenuto a mente che, in ambito di PMA, avere una buona conta follicolare di partenza si traduce in un numero maggiore di follicoli potenzialmente in grado di rispondere nel corso di un ciclo di stimolazione.

Cinque tra le pazienti prese in esame nel campione hanno completato la stimolazione ovarica e sono arrivate a pick-up nel periodo di osservazione. Di queste, le due aventi una ioduria $<50 \mu\text{g/L}$ presentavano una conta follicolare di partenza minore rispetto alle altre con carenza lievissima o iodosufficienti, riportando un esito peggiore anche in termini di ovociti prelevati e fecondati.

Questa valutazione da sola non è sicuramente bastevole per definire un risultato significativo; tuttavia, un'ipotesi valida potrebbe essere aggiungere a questo studio la valutazione dell'esito della stimolazione ovarica in termini di ovociti prelevati, inseminati e in cui la fecondazione sia andata a buon fine in relazione ai valori di partenza di ioduria e TSH.

Dati che stanno emergendo dalla letteratura supportano l'ipotesi che gli ormoni tiroidei rivestano un ruolo importante anche nella fase di impianto e nelle prime tappe dello sviluppo embrionario. Il successo dell'impianto dipende dal risultato dell'interazione reciproca tra la blastocisti e un utero ricettivo, e coinvolge regolatori endocrini, paracrini e iuxtacrini. Studi riguardo la distribuzione spazio-temporale dei recettori per il TSH (TSHR) e dei recettori nucleari per gli ormoni tiroidei (TR) ne hanno dimostrato un'ampia espressione all'interno dell'unità materno-fetale durante la finestra d'impianto, suggerendo come TSH e TH potrebbero esercitare un'azione locale di un certo rilievo sia a livello endometriale che embrionale, contribuendo ai complessi meccanismi necessari alla creazione di un ambiente ideale per l'impianto (40).

Vanno riconosciute a questo punto alcune limitazioni che sicuramente hanno inciso sui risultati del lavoro.

In primo luogo, la dimensione del campione è relativamente piccola per poter trarre conclusioni generalizzabili su ampia scala.

In secondo luogo, uno studio effettuato in un unico centro può introdurre bias specifici legati al contesto locale e alle pratiche cliniche adottate in quel particolare centro. Di conseguenza, i risultati potrebbero non essere facilmente trasferibili ad altre popolazioni o a contesti geografici diversi.

Un'altra limitazione è rappresentata dal parametro utilizzato per stimare lo status iodico: un unico campione di ioduria spot difficilmente sarà rappresentativo; piuttosto, potrebbe essere utile ripetere la misurazione anche nel corso o al termine della stimolazione ovarica. Dato che lo status iodico è fortemente legato all'alimentazione, per rendere la stima più attendibile si potrebbe ricorrere all'utilizzo di questionari che vadano ad indagare le abitudini alimentari in particolare per quel che riguarda gli alimenti che apportano un maggior quantitativo di iodio (es. sale iodato, latte e yogurt, pesce bianco).

L'assenza di un gruppo di controllo costituisce un altro importante limite metodologico. La mancanza di un confronto diretto con un gruppo di donne fertili non affette da disfunzioni tiroidee o con uno status iodico adeguato rende difficile isolare l'effetto specifico delle variabili studiate sull'infertilità. Infine, non possiamo escludere la presenza di variabili confondenti non considerate nello studio tra cui ad esempio altre condizioni mediche che potrebbero aver avuto un impatto sui risultati.

6. Conclusioni

Alla luce dei risultati, va tenuto in considerazione che si tratta di uno studio preliminare che porta con sé diverse limitazioni, rimanendo in ogni caso in linea con la letteratura che riporta risultati contrastanti a proposito di questo tema. I presupposti iniziali rimangono comunque validi e senza dubbio meritevoli di ulteriori indagini, da svolgere mediante studi di maggiore portata e metodologicamente più rigorosi, che esplorino meglio i nessi fisiopatologici di base e prendano in considerazione parametri alternativi, come ad esempio la qualità ovocitaria. Solo un approccio di questo tipo ci permetterà di migliorare la comprensione della complessa interazione tra status iodico, funzionalità tiroidea e infertilità femminile.

A questo va aggiunto che i dati riscontrati circa lo status iodico suggeriscono l'importanza di continuare le campagne di informazione sulla iodoprofilassi, con un occhio di riguardo alle donne in età fertile visto il ruolo chiave di questo micronutriente nel corso della gravidanza e, in particolare, nel primo trimestre.

7. Bibliografia

1. Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Friol K, Tigges J, Freundl G. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod*. 2005 May;20(5):1144-7. doi: 10.1093/humrep/deh870. Epub 2005 Mar 31. PMID: 15802321.
2. Definition of infertility: a committee opinion (2023) [Internet]. Disponibile su: <https://www.asrm.org/practice-guidance/practice-committee-documents/denitions-of-infertility/>
3. Rooney, K. L., & Domar, A. D. (2018). The relationship between stress and infertility. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 20(1), 41–47. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2018.20.1/klooney>.
4. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*. 2021 Jul 6;326(1):65-76. doi: 10.1001/jama.2021.4788. PMID: 34228062; PMCID: PMC9302705.
5. Infertility Workup for the Women’s Health Specialist: ACOG Committee Opinion Summary, Number 781. *Obstet Gynecol*. 2019 Jun;133(6):1294-1295. doi: 10.1097/AOG.0000000000003272. PMID: 31135761.
6. Taylor A. ABC of subfertility: extent of the problem. *BMJ*. 2003 Aug 23;327(7412):434-6. doi: 10.1136/bmj.327.7412.434. PMID: 12933733; PMCID: PMC188498.
7. Hull MG. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. settembre 1987;1(3):235–45.
8. Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S. Definition and causes of infertility. *Reprod Biomed Online*. 2001;2(1):41-53. doi: 10.1016/s1472-6483(10)62187-6. PMID: 12537824.
9. Santoro N, Filicori M, Crowley WF Jr. Hypogonadotropic Disorders in Men and Women: Diagnosis and Therapy with Pulsatile Gonadotropin-Releasing Hormone. *Endocr Rev*. 1 febbraio 1986;7(1):11–23.
10. Walker MH, Tobler KJ. Female Infertility. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [citato 26 aprile 2024]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556033/>
11. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev*. agosto 2009;30(5):465–93.

12. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril*. 1 settembre 1998;70(3):425–31.
13. Negro-Vilar A. Stress and other environmental factors affecting fertility in men and women: overview. *Environ Health Perspect*. luglio 1993;101(suppl 2):59–64.
14. Pacchiarotti A, Frati G, Saccucci P. A surprising link with unexplained infertility: a possible Covid-19 paradox? *J Assist Reprod Genet*. 1 novembre 2020;37(11):2661–2.
15. Salute M della. Diagnosi di infertilità femminile [Internet]. Disponibile su: <https://www.salute.gov.it/portale/fertility/dettaglioContenutiFertility.jsp?lingua=italiano&id=4566&area=fertilita&menu=medicina>
16. Marca AL, Argento C, Sighinolfi G, Grisendi V, Carbone M, D’Ippolito G, et al. Possibilities and Limits of Ovarian Reserve Testing in ART. *Curr Pharm Biotechnol*. 13(3):398–408.
17. Rosewell KL, Curry TE. Reproductive Senescence in the Female. In: Skinner MK, curatore. *Encyclopedia of Reproduction (Second Edition)* [Internet]. Oxford: Academic Press; 2018. p. 250–4. Disponibile su: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383646494>
18. Häggström, Mikael (2014). «Reference ranges for estradiol, progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during the menstrual cycle». *Wikiversity Journal of Medicine* 1 (1). DOI:10.15347/wjm/2014.001. ISSN 20018762.
19. Nelson VL, Qin K nan, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, et al. The Biochemical Basis for Increased Testosterone Production in Theca Cells Propagated from Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1 dicembre 2001;86(12):5925–33.
20. Cuomo L, Vitillo M. Ormone anti-mülleriano (AMH): utilità e limiti nella valutazione della riserva ovarica. *Riv Ital Della Med Lab - Ital J Lab Med*. 29 ottobre 2018;14.
21. Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL (1994) Müllerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell*79:415–425.
22. Themmen APN. Anti-Müllerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2005;(34):18–21.

23. van Rooij I a. J, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, de Jong FH, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod Oxf Engl*. dicembre 2002;17(12):3065–71.
24. National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health (UK). *Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems*. London: Royal College of Obstetricians & Gynaecologists; 2013 Feb. PMID: 25340218. In.
25. van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod Oxf Engl*. gennaio 2010;25(1):221–7.
26. Diagnostics [Internet]. Elecsys® AMH (Anti-Mullerian Hormone). Disponibile su: <https://diagnostics.roche.com/it/it/products/params/elecsys-amh-anti-mullerian-hormone.html>
27. Broekmans FJM, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril*. 1 agosto 2010;94(3):1044–51.
28. 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*. 2018;51(1):10–20.
29. Dewailly D, Lujan ME, Carmina E, Cedars MI, Laven J, Norman RJ, Escobar Morreale HF. Definition and significance of polycystic ovarian morphology: a task force report from the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update* 2014; 20: 334–352.
30. ACOG. Committee opinion no. 618: ovarian reserve testing. *Obstet Gynecol* 2015; 125: 268–273. In.
31. Wellons MF, Bates GW, Schreiner PJ, Siscovick DS, Sternfeld B, Lewis CE. Antral follicle count predicts naturalmenopause in a population-based sample: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Women’s Study. *Menopause* 2013; 20: 825–830.
32. Martins WP, Kollmann M, Raine-Fenning N. Counting ovarian follicles: updated threshold for diagnosis of hyperandrogenic anovulation. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. agosto 2014;44(2):131–4.
33. Salute M della. Procreazione medicalmente assistita [Internet]. Disponibile su:

<https://www.salute.gov.it/portale/fertility/dettaglioContenutiFertility.jsp?area=fertilita&id=4570&lingua=italiano&menu=medicina>

34. Parlamento italiano. Legge 19 febbraio 2004, n. 40. «Norme in materia di procreazione medicalmente assistita» pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 45 del 24 febbraio 2004.
35. Relazione del Ministero della Salute al Parlamento sullo stato di attuazione delle legge contenente norme in materia di procreazione medicalmente assistita (LEGGE 19 FEBBRAIO 2004, N. 40, ARTICOLO 15) - Attività dei centri procreazione medicalmente assistita anno 2021. In.
36. Ministero della Salute. Linee guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita. (24A02320) (GU Serie Generale n.107 del 09-05-2024). In.
37. Ministero della Salute. Linee guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita. Art. 7 - legge n. 40/2004. Linee guida 2015.
38. Graziadio C, Filice E, Pirchio R, Auriemma R.S, Graziottin A, Colao A. Patologie tiroidee e infertilità femminile La Rivista Italiana di Ostetricia e Ginecologia, 2021, 4, 99-106.
39. Dosiou C., Thyroid and Fertility: Recent Advances. *Thyroid*. 2020. 4. p.479-486. DOI:10.1089/thy.2019.0382.
40. Aghajanova L., Lindeberg M., Carlsson I.B., Stavreus-Evers A., Zhang P., et al. Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. *Reprod. Biomed Online*. 2009. 18(3). p.337-347. DOI:10.1016/s1472-6483(10)60091-0.
41. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Lindeberg M, Landgren BM, Sparre LS, Hovatta O. Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid hormone receptors are involved in human endometrial physiology. *Fertil Steril*. 1 gennaio 2011;95(1):230-237.e2.
42. Colicchia M, Campagnolo L, Baldini E, Ulisse S, Valensise H, Moretti C. Molecular basis of thyrotropin and thyroid hormone action during implantation and early development. *Hum Reprod Update*. 1 novembre 2014;20(6):884–904.
43. Zhang C, Xia G, Tsang BK. Interactions of thyroid hormone and FSH in the regulation of rat granulosa cell apoptosis. *Front Biosci Elite Ed*. 1 giugno 2011;3(4):1401–13.
44. Poppe K, Velkeniers B. Female infertility and the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 1 giugno 2004;18(2):153–65.

45. Krassas GE, Poppe K, Glinoe D. Thyroid function and human reproductive health. *Endocr Rev.* ottobre 2010;31(5):702–55.
46. Glinoe D, de Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steirteghem A, et al. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* agosto 1990;71(2):276–87.
47. Poppe K, Glinoe D, Van Steirteghem A, Tournaye H, Devroey P, Schiettecatte J, et al. Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc.* novembre 2002;12(11):997–1001.
48. LONGCOPE C, ABEND S, BRAVERMAN LE, EMERSON CH. Androstenedione and Estrone Dynamics in Hypothyroid Women*. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 aprile 1990;70(4):903–7.
49. Gordon GG, Southren AL. Thyroid - hormone effects on steroid - hormone metabolism. *Bull N Y Acad Med.* aprile 1977;53(3):241–59.
50. Honbo KS, Van Herle AJ, Kellett KA. Serum prolactin levels in untreated primary hypothyroidism. *Am J Med.* 1 maggio 1978;64(5):782–7.
51. Vissenberg R, Manders VD, Mastenbroek S, Fliers E, Afink GB, Ris-Stalpers C, et al. Pathophysiological aspects of thyroid hormone disorders/thyroid peroxidase autoantibodies and reproduction. *Hum Reprod Update.* 2015;21(3):378–87.
52. Halici M, Seker ME, Gebedek IY, Gokbak MN, Cetisli AF, Ciftci AB, et al. Thyroid hormones and ovarian reserve: a comprehensive study of women seeking infertility care. *BMC Womens Health.* 4 novembre 2023;23(1):570.
53. Venturi S, Donati FM, Venturi A, Venturi M, Grossi L, Guidi A. Role of iodine in evolution and carcinogenesis of thyroid, breast and stomach. *Adv Clin Pathol Off J Adriat Soc Pathol.* gennaio 2000;4(1):11–7.
54. 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.
55. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev.* giugno 2009;30(4):376–408.
56. Olivieri A, Andò S, Bagnasco M, Meringolo D, Mian C, Moleti M, et al. The iodine nutritional status in the Italian population: data from the Italian National Observatory for Monitoring Iodine Prophylaxis (OSNAMI) (period 2015–2019). *Am J Clin Nutr.* 1 novembre 2019;110(5):1265–6.

57. De Angelis S, Rotondi D, Gilardi E, Stacchini P, Pastorelli AA, Sorbo A, et al. Aggiornamento sulla nutrizione iodica in Italia: i risultati della seconda sorveglianza dell'Osservatorio per il Monitoraggio della Iodoprofilassi in Italia-OSNAMI (2015-2019). *L'Endocrinologo*. 2022;23(1):87–94.
58. Olivieri, A. 1.2. OSSERVATORIO NAZIONALE PER IL MONITORAGGIO DELLA IODOPROFILASSI IN ITALIA. Attività di monitoraggio del programma nazionale per la prevenzione dei disordini da carenza iodica, 14, 7. In.
59. Andersen S, Karmisholt J, Pedersen KM, Laurberg P. Reliability of studies of iodine intake and recommendations for number of samples in groups and in individuals. *Br J Nutr*. aprile 2008;99(4):813–8.
60. Bengtsson G, Ewaldsson B, Hansson E, Ullberg S. DISTRIBUTION AND FATE OF ¹³¹I IN THE MAMMALIAN OVARY. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1 gennaio 1963;42(1):122–8.
61. Tonacchera M, Pinchera A, Dimida A, Ferrarini E, Agretti P, Vitti P, et al. Relative potencies and additivity of perchlorate, thiocyanate, nitrate, and iodide on the inhibition of radioactive iodide uptake by the human sodium iodide symporter. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. dicembre 2004;14(12):1012–9.
62. Kobayashi N, Orisaka M, Cao M, Kotsuji F, Leader A, Sakuragi N, et al. Growth differentiation factor-9 mediates follicle-stimulating hormone-thyroid hormone interaction in the regulation of rat preantral follicular development. *Endocrinology*. dicembre 2009;150(12):5566–74.
63. Ślebodziński AB. Ovarian iodide uptake and triiodothyronine generation in follicular fluid: The enigma of the thyroid ovary interaction. *Domest Anim Endocrinol*. 1 luglio 2005;29(1):97–103.
64. Furlanetto TW, Nguyen LQ, Jameson JL. Estradiol increases proliferation and down-regulates the sodium/iodide symporter gene in FRTL-5 cells. *Endocrinology*. 1999 Dec;140(12):5705–11. doi: 10.1210/endo.140.12.7197. PMID: 10579335.
65. Hidiroglou M. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. *J Dairy Sci*. agosto 1979;62(8):1195–206.
66. Wang WJ, Zhang H, Chen ZQ, Zhang W, Liu XM, Fang JY, et al. Endometrial TGF- β , IL-10, IL-17 and autophagy are dysregulated in women with recurrent implantation failure with chronic endometritis. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 3 gennaio 2019;17(1):2.

67. Yang X, Gao T, Shi R, Zhou X, Qu J, Xu J, Shan Z, Teng W. Effect of iodine excess on Th1, Th2, Th17, and Treg cell subpopulations in the thyroid of NOD.H-2h4 mice. *Biol Trace Elem Res*. Gelbaya TA, Potdar.
68. Stagnaro-Green A, Dogo-Isonaige E, Pearce EN, Spencer C, Gaba ND. Marginal Iodine Status and High Rate of Subclinical Hypothyroidism in Washington DC Women Planning Conception. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. ottobre 2015;25(10):1151–4.
69. 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*. 1 marzo 2018;33(3):426–33.
70. Chang AY, Auchus RJ. Endocrine Disturbances Affecting Reproduction. In: Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: Eighth Edition [Internet]. Elsevier Inc.; 2018. p. 594-608.e5. Disponibile su: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=85046606651&partnerID=8YFLogxK>
71. Zhang SS, Carrillo AJ, Darling DS. Expression of multiple thyroid hormone receptor mRNAs in human oocytes, cumulus cells, and granulosa cells. *Mol Hum Reprod*. luglio 1997;3(7):555–62.
72. Poppe K, Glinoe 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;89(8):3808–12.
73. Delange F. Iodine deficiency as a cause of brain damage. *Postgrad Med J*. aprile 2001;77(906):217–20.
74. Censi S, Watutantrige-Fernando S, Groccia G, Manso J, Plebani M, Faggian D, et al. The Effects of Iodine Supplementation in Pregnancy on Iodine Status, Thyroglobulin Levels and Thyroid Function Parameters: Results from a Randomized Controlled Clinical Trial in a Mild-to-Moderate Iodine Deficiency Area. *Nutrients*. novembre 2019;11(11):2639.
75. Ozturk S. Selection of competent oocytes by morphological criteria for assisted reproductive technologies. *Mol Reprod Dev*. ottobre 2020;87(10):1021–36.
76. Anagnostopoulou, Christina et al. "Oocyte quality and embryo selection strategies: a review for the embryologists, by the embryologists." *Panminerva medica* vol. 64,2 (2022): 171-184. doi:10.23736/S0031-0808.22.04680-8.

77. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting†. *Hum Reprod.* 1 giugno 2011;26(6):1270–83.
78. Lemseffer Y, Terret ME, Campillo C, Labrune E. Methods for Assessing Oocyte Quality: A Review of Literature. *Biomedicines.* 4 settembre 2022;10(9):2184.
79. Janati S, Behmanesh MA, Najafzadehvarzi H, Akhundzade Z, Poormoosavi SM. Follicular Fluid Zinc Level and Oocyte Maturity and Embryo Quality in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Fertil Steril.* 2021;15(3):197–201.
80. Medenica S, Garalejic E, Arsic B, Medjo B, Bojovic Jovic D, Abazovic D, et al. Follicular fluid thyroid autoantibodies, thyrotropin, free thyroxine levels and assisted reproductive technology outcome. *PLoS ONE.* 29 ottobre 2018;13(10):e0206652.
81. 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.* 13 aprile 2021;4(4):e215723.
82. 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.* marzo 2017;27(3):315–89.
83. Andrisani A, Sabbadin C, Marin L, Ragazzi E, Dessole F, Armanini D, et al. The influence of thyroid autoimmunity on embryo quality in women undergoing assisted reproductive technology. *Gynecol Endocrinol [Internet].* 2 settembre 2018; Disponibile su: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09513590.2018.1442427>
84. Tańska K, Gietka-Czernel M, Glinicki P, Kozakowski J. Thyroid autoimmunity and its negative impact on female fertility and maternal pregnancy outcomes. *Front Endocrinol.* 11 gennaio 2023;13:1049665.
85. Semba RD, Delange F. Iodine deficiency disorders. In: Richard D. Semba, Martin W. Bloem, Peter Piot (eds). *Nutrition and Health in Developing Countries.* Nutrition and Health Series. Humana Press, 2008, 507–529. doi:10.1007/978-1-59745-464-3_17.