



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

## **CORSO DI LAUREA IN OSTETRICIA**

Presidente Prof.ssa Alessandra Andrisani

TESI DI LAUREA:

Valutazione della correlazione tra spessore endometriale, pattern endometriale e volume della cavità endometriale in pazienti sottoposte a trattamenti di procreazione medicalmente assistita

Relatore: Dott. Marin Loris

LAUREANDO: Matricola: 2012724, BONALDI GLORIA

**ANNO ACCADEMICO 2022/2023**





## INDICE

1. <b>ABSTRACT</b> .....	1
1.1. <b>Background</b> .....	1
1.2. <b>Scopo dello studio</b> .....	1
1.3. <b>Materiali e metodi</b> .....	1
1.4. <b>Risultati</b> .....	2
1.5. <b>Conclusioni</b> .....	2
2. <b>INFERTILITA'</b> .....	5
2.1. Definizione .....	5
2.2. Fattori determinanti l'infertilità.....	7
2.3. Trattamenti.....	9
2.4. Legislazione PMA .....	13
3. <b>ENDOMETRIO</b> .....	17
3.1. Ruolo dell'endometrio nell'impianto .....	17
3.2. Istologia dell'endometrio .....	19
3.2.1. Le fasi.....	19
3.3. Endometrio in menopausa.....	20
3.4. Ciclo mestruale .....	21
3.4.1. Regolazione ormonale .....	21
3.5. Ruolo del sistema immunitario nella preparazione dell'endometrio.....	22
4. <b>CAVITÀ UTERINA</b> .....	25
4.1. Metodi di valutazione della cavità uterina.....	26
5. <b>SCOPO DELLO STUDIO</b> .....	29
6. <b>MATERIALI E METODI</b> .....	33
6.1. Setting.....	33
6.2. Popolazione di studio.....	33
7. <b>ANALISI STATISTICA</b> .....	41
8. <b>RISULTATI</b> .....	43
8.1. Caratteristiche generali del campione .....	43
8.2. Caratteristiche dello spessore dell'endometrio e del volume della cavità endometriale del campione totale.....	43
8.3. Caratteristiche generali dei sottogruppi.....	46
8.4. Ricerca cut-off del volume della cavità endometriale nel gruppo A.....	48
8.5. Ricerca cut-off del volume della cavità endometriale nel gruppo B.....	53

<b>9. DISCUSSIONE</b> .....	55
<b>10. LIMITI E PUNTI DI FORZA</b> .....	61
<b>11. CONCLUSIONI</b> .....	63
<b>12. BIBLIOGRAFIA</b> .....	65



## **ABSTRACT**

### **Background**

Le tecniche di PMA nel tempo hanno permesso di ottenere importanti successi nell'ambito della medicina della riproduzione. In particolare, si è al momento in grado di ottenere degli embrioni di buona qualità e permetterne la coltura fino allo stadio di blastocisti. Al momento, mediamente solo il 50% degli embrioni euploidi vanno incontro ad un impianto, per cui l'attenzione del mondo scientifico si sta spostando sul ruolo dell'endometrio.

Ad oggi per capire qual è il momento più appropriato per procedere con il transfer, ci basiamo sullo spessore dell'endometrio, che è dimostrato essere ottimale quando rientra nei valori da 7 a 11 mm.

### **Scopo dello studio**

Il presente lavoro di tesi è finalizzato a valutare la presenza di una possibile correlazione tra il volume della cavità dell'endometrio, lo spessore endometriale e il pattern dell'endometrio con l'outcome della PMA, e capire, dunque, se si trattino di parametri che potrebbero aiutare a capire se l'endometrio sia adeguato o meno al transfer.

### **Materiali e metodi**

I dati sono stati raccolti nel periodo di tempo da Gennaio 2023 a Settembre 2023 presso l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale (UOSD) Procreazione Medicalmente Assistita dell'Azienda Ospedale-Università di Padova.

Sono stati raccolti i dati relativi ad altezza, peso, Body Mass Index (BMI), età, spessore dell'endometrio (mm), volume della cavità endometriale (cm<sup>3</sup>), pattern ecografico (trilaminare o indeterminato), giornata dell'embrione che è stato trasferito (terza o quinta giornata), outcome della procedura.

Partendo dall'acquisizione ecografica siamo andati a ricreare la stima del volume della cavità uterina tramite il software VOCAL. Quest'ultimo consente all'operatore di delineare ripetutamente l'endometrio su qualsiasi piano dell'utero.

La popolazione di studio è stata suddivisa in due gruppi, gruppo A (pazienti in cui l'embrione è stato trasferito in terza giornata), gruppo B (pazienti in cui l'embrione è stato trasferito in quinta giornata).

## **Risultati**

Nel primo gruppo del nostro studio non è emersa una differenza statisticamente significativa tra lo spessore endometriale e il volume della cavità endometriale nelle donne che hanno ottenuto la gravidanza rispetto a quelle che non l'hanno ottenuta. Tuttavia, in entrambi i sottogruppi, lo spessore dell'endometrio era mediamente maggiore dei 7 mm, cut off riconosciuto per un buon outcome del trattamento e il volume della cavità endometriale era mediamente maggiore di 3,2 cm<sup>3</sup> in entrambi i sottogruppi.

Tra le donne che invece hanno trasferito gli embrioni allo stadio di blastocisti, lo spessore medio dell'endometrio è risultato essere statisticamente maggiore nei casi di successo di gravidanza; queste analisi si pongono in linea con quanto riportato negli studi presenti in letteratura.

Per quanto riguarda il volume della cavità uterina nelle donne che hanno trasferito blastocisti, nel nostro studio non è emersa una differenza significativa tra coloro che hanno ottenuto la gravidanza rispetto a coloro che non l'hanno ottenuta, diversamente da quanto riportato in altri studi. In questo elaborato il volume della cavità endometriale è risultato maggiore nelle donne che hanno ottenuto la gravidanza.

Abbiamo poi valutato la possibilità di proporre dei cut-off per il volume della cavità endometriale sia per il primo che per il secondo gruppo usando un grafico Box Plot e, basandoci sui risultati di quest'ultimo, abbiamo assunto il valore di 3,3 cm<sup>3</sup> che è risultato essere lo stesso per entrambi i gruppi. Sia per il primo che per il secondo gruppo il valore di AUC-ROC può essere classificato come un discriminatore accettabile. Da quanto emerge dall'analisi dati e trovandosi in linea con quanto riportato in letteratura, un volume endometriale >3,3 cm<sup>3</sup> è un prerequisito per una buona ricettività endometriale.

## **Conclusioni**

La volumetria tridimensionale dell'endometrio può fornire informazioni aggiuntive all'ecografia bidimensionale e potrebbe essere applicata nelle pazienti infertili allo stesso modo dell'ecografia bidimensionale.

Possiamo giungere alla conclusione che i dati dimostrano che la misurazione del volume della cavità endometriale può fornire ulteriori informazioni per valutare la ricettività endometriale e la possibilità di gravidanza, oltre al parametro dello spessore dell'endometrio, che ad oggi viene più comunemente usato.



## **ABSTRACT**

### **Background**

Over time, PMA techniques have allowed for significant successes in the field of reproductive medicine. Currently, we are able to obtain high-quality embryos and culture them until the blastocyst stage. On average, only 50% of euploid embryos implant, so the scientific community's attention is shifting to the role of the endometrium.

To determine the most appropriate timing for the transfer, we currently rely on the thickness of the endometrium, which is considered optimal when it falls within the range of 7 to 11 mm.

### **Study Purpose**

This thesis work aims to evaluate the potential correlation between the volume of the endometrial cavity, endometrial thickness, endometrial pattern, and the outcome of PMA. It seeks to understand whether these parameters could help determine the suitability of the endometrium for the transfer.

### **Materials and Methods**

Data were collected from January 2023 to September 2023 at the Departmental Simple Operating Unit (UOSD) for Medically Assisted Reproduction of the University Hospital of Padua. The data included height, weight, Body Mass Index (BMI), age, endometrial thickness (mm), volume of the endometrial cavity (cm<sup>3</sup>), ultrasound pattern (trilaminar or indeterminate), day of embryo transfer (third or fifth day), and procedure outcome.

Using ultrasound acquisitions, we estimated the volume of the uterine cavity using VOCAL software. This software allows the operator to repeatedly outline the endometrium on any plane of the uterus.

The study population was divided into two groups: Group A (patients in whom the embryo was transferred on the third day) and Group B (patients in whom the embryo was transferred on the fifth day).

### **Results**

In the first group of our study, there was no statistically significant difference in endometrial thickness and the volume of the endometrial cavity between women who achieved pregnancy and those who did not. However, in both subgroups, the endometrial thickness

was on average greater than 7 mm, a recognized cutoff for a favorable treatment outcome, and the volume of the endometrial cavity was on average greater than 3.2 cm<sup>3</sup> in both subgroups.

Among women who transferred blastocyst-stage embryos, the average endometrial thickness was statistically higher in successful pregnancy cases, aligning with existing literature.

As for the volume of the uterine cavity in women who transferred blastocysts, our study did not reveal a significant difference between those who achieved pregnancy and those who did not, in contrast to other studies. In this study, the volume of the endometrial cavity was higher in women who achieved pregnancy.

We then assessed the possibility of proposing cutoff values for the endometrial cavity volume for both the first and second groups using a Box Plot graph. Based on the results, we adopted a value of 3.3 cm<sup>3</sup>, which was the same for both groups. For both groups, the AUC-ROC value can be classified as an acceptable discriminator. Data analysis and alignment with existing literature suggest that an endometrial volume >3.3 cm<sup>3</sup> is a prerequisite for good endometrial receptivity.

## **Conclusions**

The three-dimensional volumetry of the endometrium can provide additional information to two-dimensional ultrasound and may be applied in infertile patients in the same way as two-dimensional ultrasound. We can conclude that the data demonstrate that measuring the volume of the endometrial cavity can provide further information to assess endometrial receptivity and the possibility of pregnancy, in addition to the parameter of endometrial thickness, which is more commonly used to date.

# **INFERTILITA'**

## **Definizione**

L'Unione Mondiale della Sanità [World Health Organization (WHO)] definisce la salute riproduttiva come “uno stato di completo benessere fisico, mentale e sociale e non semplicemente l'assenza di malattia o di infermità in tutto ciò che è relativo al sistema riproduttivo e alle sue funzioni e processi”. Secondo l'OMS l'infertilità è un'entità patologica specifica e, a causa della sua prevalenza, dovrebbe essere considerata una malattia sociale. [1]

Tuttavia, la letteratura sull'argomento non fornisce una definizione uniforme e concisa. Il National Institute for Health and Clinical Excellence ha proposto di definire l'infertilità come un'incapacità di concepire dopo regolari rapporti sessuali non protetti per due anni in assenza di patologia riproduttiva nota. [2]

L'American Society of Reproductive Medicine definisce l'infertilità come il mancato raggiungimento di una gravidanza dopo dodici mesi o più di rapporti sessuali regolari non protetti. [3]

La definizione associata, invece, dal Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology si associa a quella attribuita dall'OMS. [4]

Una definizione demografica di infertilità è l'incapacità di una donna sessualmente attiva, che non utilizza contraccettivi, di avere un figlio vivo.

Queste differenze evidenziano la necessità di una definizione coerente di infertilità e per questo è stato suggerito che la definizione clinicamente rilevante dovrebbe essere basata sulla durata del tentativo di gravidanza e sull'età della donna.

L'infertilità deve, pertanto, essere considerata un processo patologico degno di indagine e trattamento. In particolare, si definisce come “sterilità” l'incapacità di concepire entro un anno con rapporti sessuali frequenti e non protetti. [5]

Colpisce a livello globale circa il 10-15% delle coppie e viene classificata come primaria o secondaria. Infertilità primaria significa che la donna non ha mai ottenuto una gravidanza o non è riuscita a portarla a termine con la nascita di un bambino. Con infertilità secondaria, invece, si intende che la coppia ha già avuto un figlio in precedenza, ma ha problemi a rimanere incinta o ad avere un secondo figlio. [6]

La prevalenza dell'infertilità nelle donne in età riproduttiva è stata stimata in una coppia su sette nel mondo occidentale e una coppia su quattro nei paesi in via di sviluppo. In alcune regioni del mondo, tra cui l'Asia meridionale, alcuni paesi dell'Africa subsahariana, del Medio Oriente e del Nord Africa, dell'Europa centrale e orientale e dell'Asia centrale, i tassi di infertilità possono raggiungere il 30%. Tuttavia, queste cifre non rappresentano accuratamente tutte le regioni del mondo. Lo studio di Agarwal et al. ha mostrato che i tassi di infertilità maschile erano più alti in Africa e nell'Europa centro-orientale, mentre i tassi corrispondenti per il Nord America, l'Australia e l'Europa centrale e orientale variavano rispettivamente dal 4,5-6%, 9% e 8-12%.

Si stima dunque che colpisca tra l'8 e il 12% delle coppie in età riproduttiva in tutto il mondo. [7]

## **Fattori determinanti l'infertilità**

I fattori principali che influenzano la capacità spontanea di concepimento sono:

-età della donna

-infertilità correlata a malattia come ipogonadismo ipogonadotropo, il quale porta a un'insufficiente stimolazione gonadica da parte dell'ormone luteinizzante (LH) e dell'ormone follicolo-stimolante (FSH) causato dall'insufficiente/assente secrezione della gonadotropina (GnRH) o di una ghiandola pituitaria compromessa.

La causa principale dell'insufficienza di GnRH è la mancata migrazione dei neuroni secretori del GnRH al cervello anteriore. Può essere associato ad anosmia (sindrome di Kallmann; KS) o a ipogonadismo ipotalamico normosmico idiopatico.

- Iperprolattinemia, la prolattina inibisce la secrezione delle gonadotropine portando all'anovulazione. Negli uomini, l'iperprolattinemia causa bassi livelli sierici di testosterone, infertilità e disfunzione sessuale.

- Disturbi della funzione ciliare a livello delle tube di Falloppio

- Fibrosi cistica, le mutazioni nel gene CFTR (Transmembrane Conductance Regulator) influenzano la fertilità sia maschile che femminile. La fibrosi cistica (CF) è una condizione caratterizzata da una secrezione anormale di muco.

- Infezioni, negli uomini possono danneggiare organi, danni cellulari tramite mediatori dell'infiammazione, creare un'ostruzione o legarsi agli spermatozoi. Nelle donne, possono causare malattia infiammatoria pelvica e ostruzione tubarica. Come evidenziato dai tassi di successo della fecondazione in vitro, il successo di impianto embrionale è ridotto in presenza di idrosalpingi.

- Malattie sistemiche
- Stile di vita: restrizione dietetica e sovrallenamento, stress, obesità, abitudine al fumo, consumo di alcol
- Insufficienza ovarica precoce
- Sindrome dell'ovaio policistico, le donne con PCOS potrebbero mostrare livelli di AMH notevolmente aumentati a causa sia dell'aumento del numero di piccoli follicoli antrali sia delle caratteristiche intrinseche delle loro cellule della granulosa che possono contribuire all'anovulazione
- Endometriosi, i meccanismi coinvolti nell'infertilità correlata all'endometriosi vanno da distorsioni anatomiche dovute ad aderenze e fibrosi ad anomalie endocrine e disturbi immunologici
- Fibromi uterini
- Polipi endometriali
- Disfunzione testicolare
- Sostanze chimiche che alterano il sistema endocrino
- Consanguineità

La diagnosi dell'infertilità non prevede un trattamento completo e certo; è bene ricordare, infatti, che non esiste un'unica procedura che porti senza dubbio alla gravidanza e alla nascita di un bambino sano ed è proprio per questo motivo che ci si riferisce con approssimazione statistica alla probabilità di gravidanza e di nascita.

Gli ultimi decenni hanno portato significativi progressi nel trattamento delle varie problematiche riguardanti la vita riproduttiva, soprattutto grazie allo sviluppo della tecnologia della riproduzione assistita (ART). Un esempio è la possibilità di preservare la fertilità e l'oncofertilità. [8]

### **Trattamenti**

La patologia dell'utero e delle salpingi viene diagnosticata con l'ecografia, l'HSG e più precisamente con la laparoscopia che potrebbe essere non solo diagnostica, ma anche operativa. Tuttavia, nei casi di patologia delle salpingi il metodo di scelta dovrebbe essere la fecondazione in vitro (FIV).

Nei casi di problematiche legate alla spermatogenesi non esiste un trattamento farmacologico e chirurgico comprovato; il varicocele come causa dell'infertilità maschile è una delle questioni più controverse nel campo dell'andrologia. La procedura più razionale è la fecondazione in vitro insieme all'iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi (ICSI). [9]

Le tecniche della PMA (procreazione medicalmente assistita) si dividono in I, II e III livello; comprendono sia tecniche più semplici come l'inseminazione intrauterina, sia tecniche più complesse che prevedono, invece, lo sviluppo dell'embrione in vitro e il successivo trasferimento nel corpo della donna.

Nel I livello la fertilizzazione avviene all'interno dell'apparato genitale femminile, si tratta di una procedura poco invasiva; la tecnica più comunemente utilizzata è l'inseminazione intrauterina (IUI),

Le indicazioni sono sterilità inspiegata, sospetto di un problema a livello del muco cervicale, infertilità maschile di grado lieve-moderato, endometriosi lieve, ripetuti insuccessi di induzione della gravidanza con stimolazione dell'ovulazione e rapporti mirati, patologie che rendono impossibile il rapporto completo.

In questo caso si monitora la donna o la si stimola e si induce l'ovulazione. Una volta indotta l'ovulazione, si prelevano gli spermatozoi con un catetere e si rilasciano in cavità uterina nel periodo periovulatorio. Per fare ciò è necessario che la paziente abbia una buona riserva ovarica, che ci sia un buon liquido seminale e che le tube siano pervie. La IUI può essere eseguita con un ciclo spontaneo o con una lieve stimolazione ovarica al fine di ottenere al massimo due/tre ovociti maturi. Il liquido seminale viene centrifugato e capacitato per renderlo in grado di fecondare. La percentuale di successo è intorno all'8-10% per tentativo.

Il fattore prognostico è dato dal numero dei cicli di trattamento, che a sua volta è correlato all'indicazione all'inseminazione, età della partner e durata dell'infertilità.

I vantaggi di tale tecnica sono la semplicità di esecuzione, la scarsa invasività, i bassi costi e il rispetto della fisiologia della fecondazione ovocitaria. Gli svantaggi invece risalgono al rischio di gravidanza multipla in caso di superovulazione (l'80% delle gravidanze multiple non spontanee sono causate dall'inseminazione intrauterina).

Dopo quattro o massimo sei cicli falliti si ha l'indicazione all'IVF (fertilizzazione in vitro).

Nel II livello la fecondazione non avviene nel corpo della donna, bensì avviene mediante tecniche di laboratorio che rendono possibile la fecondazione degli



ovociti in vitro. Per PMA di II° livello si intendono le tecniche di fecondazione in vitro come la FIVET (fecondazione in vitro con embrio transfer) e l'ICSI (iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo); queste tecniche possono essere applicate in cicli “a fresco” se si utilizzano sia ovociti che embrioni non crioconservati, o “da scongelamento”.

Le indicazioni alla FIVET sono presenze di patologia tubarica acquisita o congenita, infertilità maschile moderata con IUI inefficaci o inappropriati, endometriosi di III o IV grado, infertilità idiopatica con eventuali cicli di IUI con esiti negativi.

La tecnica prevede l'induzione della crescita follicolare multipla (ICFM), monitoraggio della risposta ovarica all'ICFM, induzione del completamento della maturazione follicolare e ovocitaria, prelievo ovocitario, analisi del liquido seminale e tecniche di separazione degli spermatozoi, inseminazione in vitro degli ovociti con gli spermatozoi dotati di motilità progressiva, controllo della fecondazione in vitro degli ovociti, coltura e valutazione degli embrioni ottenuti in vitro (ET), trasferimento embrionario, terapia con progesterone dopo l'ET, dosaggio della hCG plasmatica dopo l'ET e controllo ecografico in caso di gravidanza.

Le indicazioni all'ICSI, invece, sono infertilità maschile severa, azoospermia ostruttiva e secretiva, mancata o ridotta fecondazione in precedenti trattamenti FIVET.

La tecnica prevede l'inseminazione di un ovulo tramite la microiniezione di uno spermatozoo al suo interno. La procedura ha origine con la stimolazione, momento

in cui le ovaie sono sottoposte ad un trattamento ormonale per ottenere la crescita follicolare multipla, seguito dal prelievo degli oociti mediante aspirazione transvaginale. Gli spermatozoi vengono isolati e ne viene selezionato uno in ogni ovulo tramite l'iniezione intra citoplasmatica. Con un'attesa di 2-5 giorni, gli oociti fecondati si sviluppano in embrioni nel loro apposito ambiente culturale. Si procede successivamente con il trasferimento embrionale in utero tramite un catetere. Solitamente vengono trasferiti 1-2 embrioni, quelli che non vengono utilizzati per il trasferimento vengono invece crioconservati e mantenuti in azoto liquido; se la gravidanza non dovesse avere successo, questi potrebbero essere utilizzati nei successivi cicli.

Meno frequenti sono le tecniche di III livello, la quale si applica in situazioni specifiche: per il prelievo microchirurgico di gameti dal testicolo, per il prelievo degli oociti dalla donna per via laparoscopica e nelle procedure denominate GIFT, ZIFT e TET.

Il prelievo microchirurgico dei gameti dal testicolo può avvenire attraverso l'uso di più metodiche, come ad esempio la TESE (Testicular sperm extraction), TESA (Testicular Epididymal Sperm Aspiration), MESA (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration), PESA (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration). Numerosi studi scientifici dimostrano che con l'utilizzo di queste tecniche di estrazione di liquido seminale dal testicolo, aumenta la percentuale di successo delle tecniche di PMA e diminuisce il ricorso alla fecondazione eterologa. [10]

Tecniche come la GIFT prevedono il trasferimento intratubarico dei gameti; la ZIFT e TET invece si differenziano dato che non sono i gameti separati che vengono

depositati nelle tube, bensì il risultato della fecondazione ottenuta in laboratorio tra gli spermatozoi e gli ovuli, nel momento in cui si trovano allo stadio di embrione o di zigote. [11]

Le tecniche di procreazione medicalmente assistita si classificano in inseminazione omologa (seme ed ovuli appartengono alla coppia), eterologa (il materiale biologico non appartiene ad uno dei due genitori o a nessuno dei due). È possibile ricorrere all'ovodonazione, doppia donazione (impiego di gameti diversi da quelli della coppia che derivano da donatori che non sono a loro volta una coppia), embriodonazione. Le indicazioni sono situazioni di ipogonadismo ipergonadotropo, età materna avanzata, ridotta riserva ovarica, fallimento di trattamenti omologhi, difetti genetici, causa iatrogena, azoospermia, difetto genetico o precedente prole affetta per cui lo stato di portatore non può essere determinato, MST non eliminabile, partner rh negativo isoimmunizzata fortemente.

### **Legislazione PMA**

A regolare le tecniche di procreazione medicalmente assistita se ne occupa la legge 40/2004, la quale prevede l'utilizzo in prima istanza delle opzioni terapeutiche più semplici e meno invasive. Dal 2014 nel nostro Paese possono essere utilizzate anche tecniche di fecondazione eterologa, che prevede la fecondazione di uno o entrambi i gameti che provengono da donatore esterno alla coppia.

Nei nuovi LEA sono state inserite nel nomenclatore della specialistica ambulatoriale tutte le prestazioni necessarie nelle diverse fasi del percorso di PMA sia omologa che eterologa. Inoltre, la prestazione di raccolta, di conservazione e di

distribuzione di cellule riprodotte finalizzate alla PMA eterologa, è previsto un contributo deciso dalle Regioni. [12]

La legge del 19 febbraio 2004 n. 40 nel corso di questi ultimi anni ha subito delle modifiche, come ad esempio le norme che vanno a regolare la fecondazione omologa; per evitare la formazione di embrioni sovranumerari si poneva un limite con un numero massimo di tre embrioni da formare e trasferire in utero con un unico e contemporaneo impianto. Con la sentenza del 1° aprile 2009, la Corte Costituzionale ne dichiara l'illegittimità soffermandosi sul "ad un unico e contemporaneo impianto, comunque non superiore a tre" e viene deciso che il trasferimento degli embrioni debba essere effettuato senza pregiudizio per la salute della donna, eliminando di fatto il trasferimento non appena fosse possibile.

Altre modifiche che vengono riportate riguardano la fecondazione eterologa, per cui l'articolo 4 comma 3 della legge n.40 prevedeva il divieto di ricorrere a tecniche di PMA di tipo eterologo. Con la sentenza n. 162 del 2014, la Corte Costituzionale dichiara l'incostituzionalità di tale divieto in quanto lesivo del diritto all'autodeterminazione delle coppie sterili e infertili in relazione alle proprie scelte procreative, e, più in generale, familiari; discriminatorio rispetto alle coppie che presentavano un grado di sterilità e infertilità minore e che potevano avere accesso alle tecniche di tipo omologo; lesivo del diritto fondamentale alla salute; e idoneo a determinare un'ulteriore disparità di trattamento, di tipo economico, tra coppie sterili o infertili che dispongono di risorse finanziarie sufficienti per sottoporsi ai trattamenti all'estero e quelle che, viceversa, ne risultano sprovviste. [13]

Con l'articolo 1, comma 298 della legge del 23 dicembre 2014, n. 190, viene introdotta la normativa sulla istituzione del Registro nazionale dei donatori di cellule riproduttive a scopi di procreazione medicalmente assistita di tipo eterologo, in modo tale da garantirne una tracciabilità.



## **ENDOMETRIO**

### **Ruolo dell'endometrio nell'impianto**

L'endometrio è il sito in cui si impianta la blastocisti ed è un luogo fondamentale non solo per sostenere la crescita del feto attraverso l'apporto di ossigeno e nutrienti, ma anche per proteggere l'embrione e successivamente il feto da proliferazione microbica durante la gravidanza.

L'endometrio è una mucosa che ricopre la cavità interna dell'utero, formata da uno strato di epitelio ghiandolare e da mucosa direttamente aderente al miometrio. Ha uno spessore variabile, ed è costituito dall'epitelio di rivestimento con cellule secernenti di tipo cilindrico semplice e dalla lamina propria, tessuto connettivo ricco di cellule e povero di fibre.

Durante ogni ciclo mestruale l'endometrio va incontro a modificazioni che possono essere suddivise in tre fasi principali: mestruale, proliferativa e secretiva. Durante la fase mestruale osserviamo l'endometrio come una sottile linea bianca (iperecogena), nella quale, in certe occasioni è possibile ancora osservare del flusso di sangue insieme a contrazioni uterine che provocano il movimento e quindi l'uscita della mestruazione; durante questa fase l'endometrio misura tra 1 e 3 mm.

La fase proliferativa avviene quando si presenta un modello trilaminare, ovvero la comparsa di tre linee tra di loro parallele che aumentano di spessore circa 0,5 mm al giorno, raggiungendo nel periodo periovulatorio uno spessore tra i 9 e i 14 mm di media. Dopo l'ovulazione, all'inizio della fase luteale, nell'ovaia si forma il corpo luteo, essa comincia con l'ovulazione e termina con l'inizio della mestruazione. Il

corpo luteo nasce dal follicolo dell'ovaio e produce ormoni quali il progesterone, il quale svolge un ruolo molto importante in gravidanza, e l'estrogeno. Se l'ovulo non viene fecondato, verso la fine della fase luteale il corpo luteo degenera e l'endometrio viene espulso con la mestruazione. Durante la fase secretiva dell'endometrio si prepara ad affrontare un'eventuale gravidanza cambiando struttura. Il progesterone fa sì che si compatti e che l'ovulo fecondato vi si possa impiantare per poi svilupparsi.

L'impianto dell'embrione avviene durante la fase medio luteale, nota come "finestra d'impianto". Durante questo periodo di impianto si verificano importanti cambiamenti morfologici e funzionali nell'endometrio, seguiti dalla decidualizzazione. Questi eventi nell'endometrio sono controllati principalmente dagli ormoni steroidei ovarici, estrogeni e progesterone. Esso subisce una serie di modifiche, note come decidualizzazione, che comprendono la comparsa di nuovi tipi di cellule endometriali per aiutare l'embrione a impiantarsi e a sopravvivere fino a quando non subentra la placenta. Questa fase "ricettiva" dura solo pochi giorni e avviene dopo l'ovulazione, quando i livelli di progesterone sono elevati. [14]

La sensibilità dell'endometrio all'impianto degli embrioni è comunemente classificata in fasi pre-recettive, ricettive e refrattarie. Questo periodo di ricettività, chiamato "finestra di impianto", è breve e deriva dalla sequenza programmata dell'azione di estrogeni e progesterone sull'endometrio attraverso molteplici segnali paracrini, iuxtacrini e autocrini. Livelli elevati di progesterone nella fase post-ovulatoria modulano l'espressione genica dell'endometrio necessaria per l'impianto regolando la metilazione del DNA e le modifiche nella metilazione del DNA in 448 siti sono state associate a una receptività endometriale difettosa e di



conseguenza a un fallimento ricorrente di gravidanza. Inoltre, diversi trascritti non codificanti come lncRNA e miRNA sono coinvolti nella regolazione della reattività endometriale. [15]

### **Istologia dell'endometrio**

L'endometrio è costituito dallo strato basale non ormone sensibile, dallo strato superficiale o funzionale costituito da epitelio superficiale delle ghiandole, tessuto stromale e risente dell'azione degli steroidi gonadici.

Le fasi

Fase rigenerativa: consiste nella ricostruzione dell'endometrio superficiale e corrisponde ai primi giorni del ciclo.

Fase proliferativa: l'epitelio si arricchisce di ghiandole, recettori e vasi sanguigni. Si suddivide a sua volta in iniziale (4°-7° giorno), composto da ghiandole rettilinee, monostratificate, con tubuli brevi e poche arterie spirali; intermedia (8°-10° giorno), in cui si riscontra un aumento di dimensione dei tubuli, ghiandole più prominenti e tortuose, edema stromale, numerose arterie spirali; avanzata o tardiva (11°-14° giorno), con presenza di numerose mitosi epiteliali e stromali, ghiandole tortuose, contenuto glicogeno, arterie spirali numerose che raggiungono l'epitelio superficiale e recettori del progesterone. In quest'ultima fase l'edema regredisce e si formano vacuoli citoplasmatici subnucleari, indice importante per definire l'inizio della fase che sarà poi seguita dall'ovulazione.

Fase secretiva: avviene per opera del progesterone, che va a modificare l'epitelio, accentuando le ghiandole. Si divide in intermedia (fino alla ventesima giornata), in

cui si avrà un'accentuazione di lumi ghiandolari caratterizzati da materiale eosinofilo e marcato edema stromale; avanzata (dalla ventitreesima giornata), si avrà dilatazione delle ghiandole, diminuzione dell'edema stromale, arterie spirali ben differenziati ed evidenti.

Fase desquamativa: avviene lo sfaldamento dell'endometrio, degenerazione delle arterie spirali e fuoriuscita di sangue, correlata alla caduta degli ormoni sessuali e alla luteolisi.

Segue l'estensione dei fenomeni di decidualizzazione stromale fino al 28° giorno. Anche senza la venuta di una gravidanza lo stroma si modifica e ha origine la decidua. [14]

### **Endometrio in menopausa**

Durante la menopausa avviene una riduzione dei tassi estro-progestinici con riduzione dello stimolo a livello dell'endometrio. Si assiste a un crollo degli estrogeni, dunque scomparsa dello stato funzionale dell'endometrio; crollo del progesterone che rende lo stroma fibroso e ipo-atrofia ghiandolare in cui è possibile osservare un epitelo cubico. Le ghiandole assumono le caratteristiche della fase rigenerativa: diventano poche e distanziate tra loro; possono verificarsi anche delle dilatazioni cistiche ghiandolari date dall'ostruzione del colletto da parte dello stroma fibroso. Queste portano ad una patologia non neoplastica che sono i polipi endometriali, molto tipici infatti dell'età menopausale. [16]

## **Ciclo mestruale**

### Regolazione ormonale

Affinché il ciclo uterino possa avvenire è necessaria la coordinazione con il processo ovulatorio, questo perché è fondamentale l'alternanza dei livelli ormonali. In fase preovulatoria si può notare un picco del livello degli estrogeni determinato dall'attività del follicolo di Graaf; gli estrogeni prodotti regolano anche la fase follicolare dell'endometrio. L'attività del corpo luteo rilascia invece progesterone, il quale a sua volta regola la fase secretiva (o luteinica) dell'endometrio. In particolare, quest'ultimo, durante il ciclo mestruale, è esposto ogni mese a ormoni steroidei per la regolazione della propria crescita e differenziazione. I principali protagonisti di questa preparazione sono il 17 beta estradiolo (E2) e il 4-pregnen-3,20-dione (progesterone; P4), le cui concentrazioni variano in modo ben definito durante il ciclo mestruale.

È importante tenere presente che nella fase secretiva (o luteinica) si hanno anche fenomeni di feedback. L'organismo, infatti, si prepara alla possibile gravidanza, quindi il progesterone agisce a livello dell'asse ipotalamo-ipofisi per inibire la produzione di FSH e LH: nel caso in cui ci sia una fecondazione e una gravidanza, non devono essere prodotti altri follicoli ed esserci ulteriori ovulazioni. Questo meccanismo è alla base della ciclicità delle ovulazioni, insieme agli estrogeni.

Dunque, terminata la fase secretoria (o luteinica), per quanto riguarda l'utero, si ha:

- un oocita disponibile alla fecondazione
- il blocco degli ormoni per avviare ulteriori ovulazioni
- un tessuto ideale per l'impianto dell'embrione a causa delle numerose ghiandole e vasi che lo irrorano (endometrio spesso). Tuttavia, abbiamo bisogno di ulteriori condizioni ideali determinate dall'influenza di estrogeni e

progestinici. Gli ormoni, infatti, vanno ad agire su tutti i tessuti dell'apparato riproduttore femminile: • le tube uterine si irrigidiscono e si spostano con un'azione meccanica verso l'ovaio, per captare l'ovocita liberato • la cervice uterina secreta muco fluido che favorisce il passaggio degli spermatozoi • a livello vaginale, si ha un aumento del glicogeno erogato dalle ghiandole, il quale reagisce con i lactobacilli, ossia la flora batterica delle vie genitali femminili, diventando acido lattico. [17]

### **Ruolo del sistema immunitario nella preparazione dell'endometrio**

Un'efficace funzionalità ovarica e uterina si basa su una complessa interazione tra il sistema endocrino e quello immunitario. L'impianto e la seguente crescita placentare sono processi regolati dall'interazione tra steroidi sessuali e molecole di segnalazione cellulare locale, molte delle quali hanno funzione immunitaria.

Grazie all'influenza che hanno gli estrogeni, che vengono secreti dall'ovaio, e dalle gonadotropine, prodotte dall'ipofisi, avviene lo sviluppo del follicolo, maturazione degli ovociti e l'ovulazione; tutti questi meccanismi sono a loro volta controllati da meccanismi di tipo infiammatorio.

Durante l'ovulazione avviene la degradazione della matrice extracellulare, cambiamenti vascolari, espressione di chemochine (le quali sono deputate alla regolazione del traffico di alcune cellule come i globuli bianchi), integrazione e reclutamento di leucociti.

Nel momento in cui non avviene la fecondazione, quindi c'è una mancata gravidanza, le cellule immunitarie sono coinvolte nel processo di regressione

luteale. Nella fase di luteolisi, i neutrofili, macrofagi e linfociti T dominano sul corpo luteo (CL) e sono responsabili della distruzione delle cellule luteiniche e della perdita di secrezione di progesterone.

L'ovulazione, le mestruazioni e l'impianto sono in gran parte caratterizzati da cambiamenti nel tipo e nella distribuzione delle cellule immunitarie e non immunitarie nell'ovaio e/o nell'utero. Gli steroidi sessuali regolano la produzione di chemochine e la funzionalità dei loro recettori, i quali agiscono nel reclutamento selettivo dei leucociti. L'espressione dei recettori delle chemochine a livello del trofoblasto permette ai recettori delle chemochine di influire nella regolazione dell'impianto. L'espressione di ESR2 (Estrogen Receptor 2) da parte delle cellule NK (Natural Killer) e dei macrofagi indica che entrambi i tipi di cellule rispondono agli estrogeni.

Inoltre, sebbene gli steroidi sessuali guidino i processi infiammatori associati all'ovulazione e alle mestruazioni, i glucocorticoidi sembrano svolgere un ruolo nella rapida risoluzione dell'infiammazione, consentendo così il rimodellamento dei tessuti. Questo meccanismo è responsabile dell'espressione di HSD11B1 ovarico ed endometriale (Hydroxysteroid 11-Beta Dehydrogenase 1) che permette di convertire il cortisone in cortisolo. La co-espressione di HSD11B1 con NR3C1 (recettore dei glucocorticoidi) nell'ovaio e nell'utero assicura che il cortisolo si leghi al recettore, inducendo così un'attività antinfiammatoria. [18]



## **CAVITÀ UTERINA**

Anche le anomalie della cavità uterina possono contribuire al fallimento dell'impianto ed è proprio per questo che viene presa in considerazione la possibilità di introdurre una sua valutazione come indagine di routine nella valutazione delle donne subfertili.

L'isteroscopia è considerata lo strumento diagnostico definitivo per valutare le anomalie sospette durante l'isterosalpingografia, oltre all'utilizzo dell'ecografia transvaginale.

Le principali indagini che riguardano la donna si concentrano principalmente sulla valutazione del profilo ormonale basale, il livello di progesterone medio-luteale e test per verificare la pervietà tubarica. Tuttavia, anche le anomalie strutturali e anatomiche dell'utero possono avere una correlazione con l'esito riproduttivo interferendo con l'impianto e causando interruzioni spontanee di gravidanza. Con lo studio "Evaluation of outpatient hysteroscopy, saline infusion hysterosonography, and hysterosalpingography in infertile women: a prospective, randomized study" si deduce che le anomalie della cavità uterina possono contribuire alla subfertilità nel 10% delle donne e nel 50% delle donne con ricorrenti fallimenti di impianto sono riportati anomalie della cavità uterina.

## **Metodi di valutazione della cavità uterina**

Isterosalpingografia (HSG): ci fornisce informazioni riguardanti la pervietà, la morfologia delle tube di Falloppio e viene utilizzata anche per valutare le anomalie della cavità uterina. L'HSG può anche mostrare aderenze intrauterine e anomalie congenite poiché consente di visualizzare la configurazione generale della cavità.

Ecografia transvaginale (TVS): permette di visualizzare il rivestimento e la cavità endometriale e viene utilizzata anche come test di screening per la valutazione della cavità uterina. In confronto all'isteroscopia, è stato riportato che la TVS ha una sensibilità dell'84,5%, una specificità del 98,7%, un valore predittivo positivo del 98% e un valore predittivo negativo dell'89,2%; tuttavia potrebbe però non diagnosticare i fibromi sottomucosi in presenza di fibromi multipli e distinguere tra un endometrio iperplastico e un grande polipo.

Isterosonografia salina (SHG): l'utilizzo dell'ecografia transvaginale assieme all'infusione salina migliora la delineazione della cavità uterina e può essere utilizzata come alternativa all'HSG e all'isteroscopia come test di screening. La SHG si è rivelata altamente sensibile, specifica e accurata nell'identificazione di anomalie intrauterine quali polipi, fibromi sottomucosi, aderenze, setti e anomalie uterine. Uno degli studi che hanno confrontato la SHG con l'isteroscopia ha riportato una sensibilità dell'87,5%, una specificità del 100%, un valore predittivo positivo del 100% e un valore predittivo negativo del 91,6% per il rilevamento di qualsiasi anomalia della cavità con SHG rispetto all'isteroscopia.

Ecografia 3D: ci consente di eseguire una diagnosi ambulatoriale accurata e non invasiva, permettendo un'analisi morfologica delle anomalie uterine congenite.



Risonanza magnetica: risulta essere particolarmente accurata nella diagnosi di anomalie uterine congenite, non è invasiva ed evita il rischio di irradiazioni, ma i suoi svantaggi riguardano principalmente costi elevati e disponibilità limitata.

Isteroscopia: si tratta del gold standard per l'indagine della cavità uterina. Ci consente di avere una visualizzazione diretta della cavità uterina, rivelandoci la natura, la posizione, la forma, le dimensioni e il modello vascolare di eventuali anomalie della cavità come polipi, fibromi sottomucosi, differenze nello spessore endometriale e aderenze. Pertanto, l'isteroscopia viene eseguita come strumento diagnostico definitivo per valutare qualsiasi anomalia sospettata su HSG, TVS o SHG nelle indagini di routine sui pazienti infertili. Gli svantaggi che si presentano con l'utilizzo di tale tecnica si riferiscono alla necessità dell'anestesia, all'invasività di quest'ultima e ai costi associati.

Le linee guida NICE suggeriscono che alle donne non dovrebbe essere offerta l'isteroscopia da sola come parte dell'indagine iniziale sull'infertilità a meno che non sia clinicamente indicata, mentre le linee guida della Società Europea di Riproduzione Umana ed Embriologia per le indagini sull'infertilità suggeriscono che l'isteroscopia potrebbe essere utile per la conferma e trattamento di sospetta patologia uterina. È infatti in corso un dibattito riguardo il suo utilizzo prima della fecondazione in vitro. [20]



## **SCOPO DELLO STUDIO**

Dall'avvento dell'ecografia transvaginale, numerosi studi hanno cercato una relazione tra spessore endometriale, ecogenicità e ricettività endometriale. Tuttavia, i parametri ecografici utilizzati per predire la ricettività uterina, ovvero lo stato in cui l'endometrio permette a una blastocisti di attaccarsi, mancano ancora di specificità.

Con la venuta e l'evoluzione degli ultrasuoni tridimensionali abbiamo quindi la possibilità di indagare una nuova soglia della diagnosi non invasiva. Gli attuali progressi nell'ecografia transvaginale 3D ci hanno permesso di esaminare e visualizzare nel dettaglio le strutture degli organi pelvici e di analizzare i loro volumi con grande accuratezza. Inoltre, la capacità di ricostruire immagini plastiche 3D amplifica il potenziale diagnostico degli ultrasuoni bidimensionali (2D) e ci consente di condurre indagini meticolose della cavità uterina. La stima del volume dell'endometrio può essere effettuata facilmente grazie al buon contrasto tra tessuto endometriale e miometrio mediante ecografia transvaginale 3D.

La variazione dello spessore dell'endometrio è un parametro ormai noto per variare durante il ciclo mestruale; è infatti di conoscenza comune che l'endometrio sia più sottile subito dopo il ciclo mestruale e durante la fase follicolare precoce, invece, aumenta di spessore fino all'ovulazione e alla successiva fase luteale.

Sebbene la stima di volumi, come il volume ovarico, possa essere ottenuta attraverso l'ecografia 2D misurando le distanze dei tre assi e utilizzando formule semplici, come le formule ellissoidali prolungate, tali formule non esistono per l'endometrio, che varia significativamente nella sua forma.

Tuttavia, l'acquisizione di un intero volume uterino tramite ecografia 3D ha permesso la stima del volume endometriale attraverso software assistiti da computer, il più noto dei quali è VOCAL (Virtual Organ Computer aided AnaLysis) (GE Medical Systems Kretztechnik GmbH & Co, Austria).

VOCAL consente all'operatore di delineare ripetutamente l'endometrio su qualsiasi piano dell'utero (sagittale, trasversale o coronale), mentre l'organo viene ruotato lungo un asse stabile per oltre 180°. L'operatore può selezionare il grado dei passi di rotazione, ad esempio 30°, 15°, 9° e 6°, corrispondenti rispettivamente a 6, 12, 20 e 30 immagini che richiedono l'annotazione da parte dell'operatore. [19]

Diversi studi hanno provato a trovare possibili correlazioni tra il volume endometriale e l'esito della gravidanza in seguito a trattamento di procreazione medicalmente assistita. Alcuni di questi hanno riscontrato un aumento significativo del volume della cavità endometriale, altri, invece, hanno cercato di definire delle soglie per il volume dell'endometrio necessarie per ottenere una gravidanza, sempre in relazione alle soglie già descritte per lo spessore endometriale.

Il presente lavoro di tesi è finalizzato a valutare la presenza di una possibile correlazione tra il volume della cavità endometriale, lo spessore dell'endometrio e il pattern (indeterminato o trilaminare) in relazione all'outcome della PMA, nonché dell'incidenza di impianto.

L'obiettivo è dunque capire se si trattino di parametri che ci potrebbe aiutare a comprendere se l'endometrio sia adeguato o meno al transfer.

La capacità di identificare prospetticamente un utero ricettivo mediante un metodo non invasivo avrebbe un impatto inestimabile sull'efficienza del trattamento e sui tassi di successo delle tecniche di procreazione medicalmente assistita.



## **MATERIALI E METODI**

### **Setting**

Si tratta di uno studio prospettico; i dati sono stati raccolti tramite l'analisi delle immagini ecografiche e delle cartelle cliniche riferibili al periodo di tempo da Gennaio 2023 a Settembre 2023 presso il Centro di Procreazione Medicalmente Assistita di Padova (Dipartimento della Salute della Donna e Del Bambino, Università degli Studi di Padova).

### **Popolazione di studio**

Il campione dello studio è composto da donne infertili che si sono sottoposte a trattamenti di PMA di II livello nel periodo dal 01.01.2023 al 29.09.2023.

I criteri di inclusione sono:

- età >18 e < 50 anni
- transfer di singolo embrione

I criteri di esclusione sono:

- patologie uterine (adenomiosi diffusa, polipi endometriali, miomi uterini)

La popolazione è stata divisa in 2 gruppi:

- **Gruppo A:** comprende le pazienti in cui è stato eseguito transfer di embrione in terza giornata. Il gruppo A è stato suddiviso in due sottogruppi in base all'outcome dell'impianto:
  - A1: successo
  - A2: fallimento
  
- **Gruppo B:** comprende le pazienti in cui stato eseguito transfer di embrione in quinta giornata (blastocisti). Il gruppo B è stato suddiviso in due sottogruppi in base all'outcome dell'impianto:
  - B1: successo
  - B2: fallimento

Per ogni paziente sono state raccolte informazioni relative a:

- altezza, peso
- Body Mass Index (BMI)
- età
- spessore dell'endometrio (mm)
- volume della cavità endometriale (cm<sup>3</sup>)
- pattern ecografico (trilaminare o indeterminato)
- giornata dell'embrione che è stato trasferito: terza o quinta giornata
- outcome della procedura



### **Valutazione ecografica dello spessore endometriale, del pattern endometriale e del volume della cavità endometriale**

Ogni paziente è stata sottoposta ad ecografia immediatamente prima della supplementazione di progesterone. L'ecografia è stata eseguita per via transvaginale con una sonda endovaginale volumetrica con frequenza fino a 10 MHz utilizzando l'ecografo Samsung Hera W10. Lo spessore endometriale è stato acquisito in sezione longitudinale e misurato nel punto di massimo spessore in senso antero-posteriore. L'ecogenicità dell'endometrio è stata confrontata con quella del miometrio circostante. È stato distinto il pattern trilaminare da quello indeterminato. Il pattern trilaminare appare multistrato con linee esterne iperecogene, una linea centrale iperecogena e regioni centrali ipoecogene. Il pattern indeterminato è stato identificato come un singolo strato omogeneo, iperecogeno o isoecogeno.

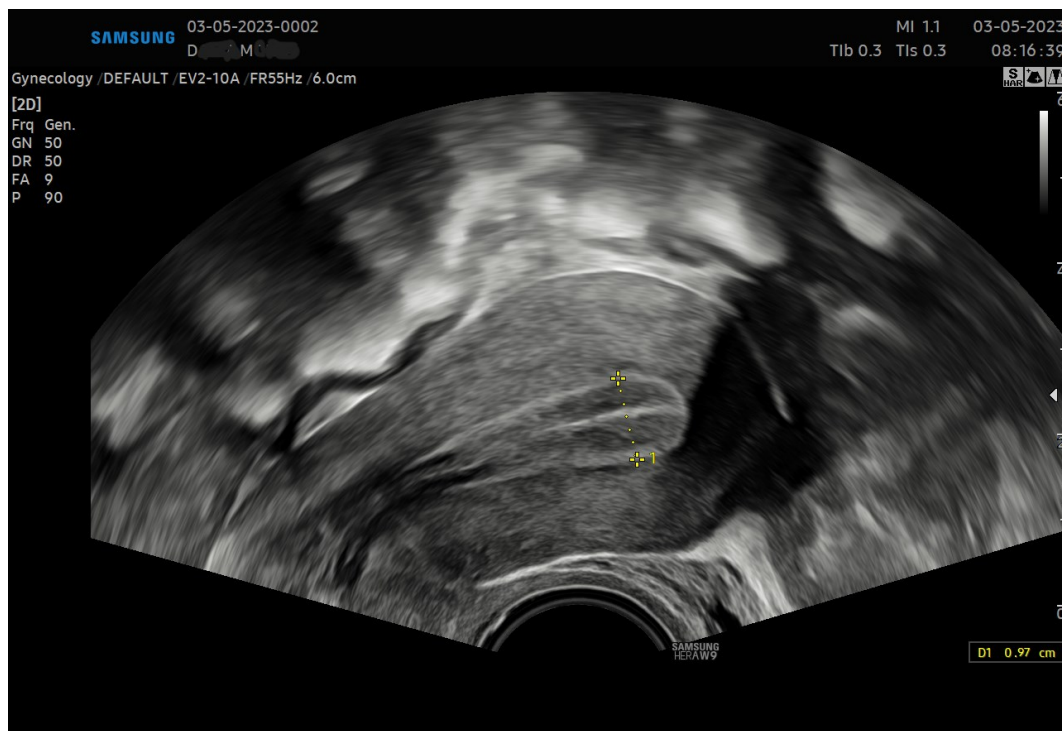
Per il calcolo del volume della cavità endometriale, l'utero è stato centrato in una scansione longitudinale e poi è stata impostato con l'ecografo il box volumetrico sull'immagine scansionata. Il volume è stato catturato attraverso la scansione automatica del trasduttore sull'area selezionata. Il trasduttore e il paziente sono stati mantenuti completamente fermi durante questo processo. I tre piani ortogonali dell'utero sono stati visualizzati contemporaneamente sullo schermo. I volumi sono stati archiviati sul disco per i successivi calcoli e successivamente importati nel software 5D Viewer.

Il volume della cavità endometriale è stato misurato tracciando l'area dell'endometrio dal fondo all'orifizio uterino interno con il programma VOCAL

(Virtual Organ Computer-aided AnaLysis) dopo aver scelto un asse di rotazione di 30 gradi.

## Valutazione della gravidanza

È stata eseguita una singola misurazione della b-HCG nel siero, 12 giorni dopo il transfer dell'embrione in 5° giornata e 14 giorni dopo il trasferimento dell'embrione in 3° giornata. Dopo 14 giorni dal test sierico positivo, la gravidanza clinica veniva diagnosticata ecograficamente e definita come presenza di un sacco gestazionale intrauterino contenente embrione con battito cardiaco.



*Figura 1: immagine ecografica in cui valutiamo lo spessore dell'endometrio e il pattern endometriale*

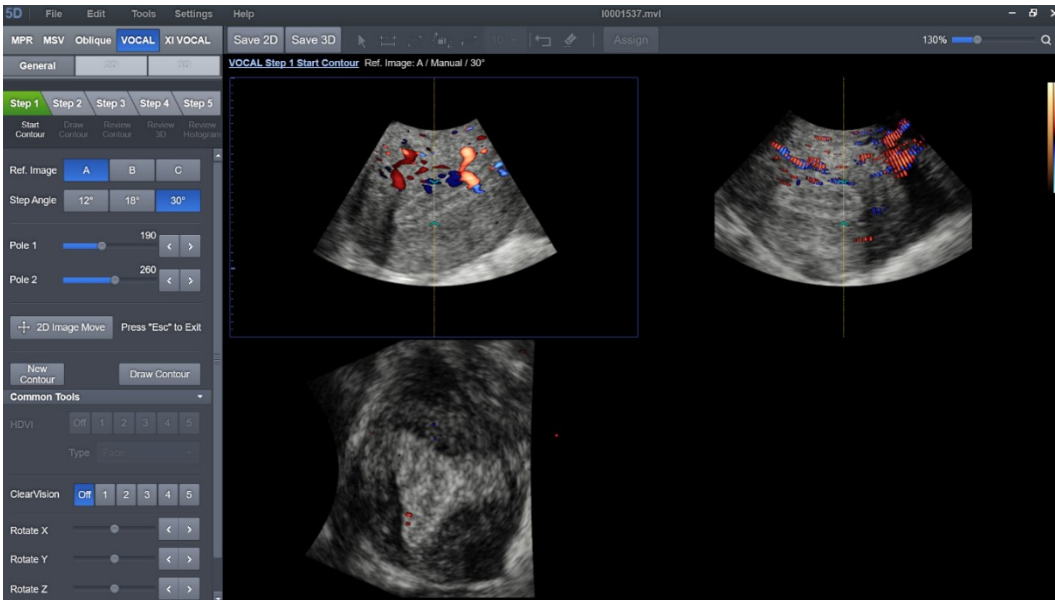


Figura 2: visualizzazione delle immagini ecografiche tramite il software VOCAL

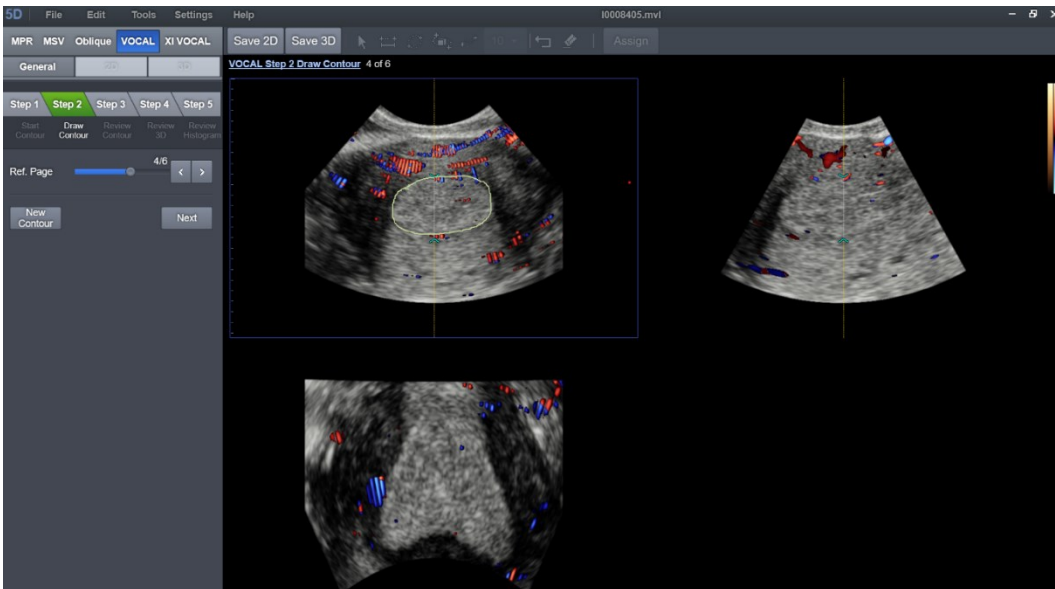
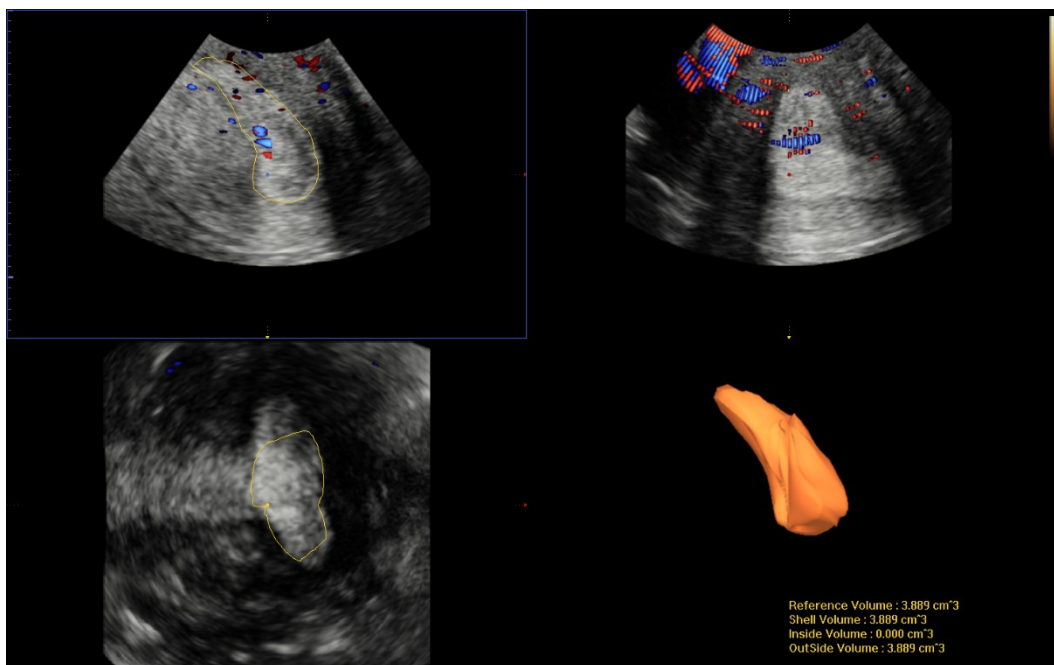


Figura 3: utilizzo del Draw Contour per delimitare la cavità endometriale



*Figura 4: Esempi di stima del volume dell'endometrio utilizzando l'Analisi Assistita al Computer dell'Organo Virtuale (VOCAL) nella visualizzazione multiplanare.*

Una volta ricreato il volume, il dato ottenuto viene riportato in un foglio Excel assieme alla misurazione dello spessore dell'endometrio e al pattern visualizzato.



## **ANALISI STATISTICA**

I dati raccolti sono stati inseriti in un foglio Excel.

Le variabili continue sono state riportate come media con deviazione standard, mentre le variabili qualitative sono state presentate come frequenze assolute e percentuali. Per i confronti tra variabili categoriali si utilizzeranno tabelle di contingenza e test del chi-quadrato o test di Fisher quando necessario. I confronti tra variabili continue normalmente distribuite verranno effettuati utilizzando il test t di Student.

Un p value  $<0.05$  verrà stato considerato statisticamente significativo.





## RISULTATI

### Caratteristiche generali del campione

Tra gennaio e settembre 2023 sono state arruolate nello studio 51 pazienti.

Osservando le caratteristiche della popolazione presa in esame, possiamo osservare un'età media delle pazienti di  $37,00 \pm 4,35$  anni, e il loro BMI medio di  $23,56 \pm 4,03$  Kg/m<sup>2</sup>.

Delle 51 pazienti selezionate, in 13 di loro (25,5%) l'embrione è stato trasferito in terza giornata, mentre nelle restanti 38 (74,5%) l'embrione è stato trasferito in quinta giornata, con una differenza statisticamente significativa, p value <0.05

*Tabella I: percentuale di embrioni trasferiti in terza o quinta giornata. P value significativo quando <0.05*

Parametro	%	P value
n. embrioni trasferiti in 3 <sup>a</sup> giornata (N=13)	25,5	0,003
n. embrioni trasferiti in 5 <sup>a</sup> giornata (N=38)	74,5	

### Caratteristiche dello spessore dell'endometrio e del volume della cavità endometriale del campione totale

I parametri presi in considerazione per questo studio sono stati spessore dell'endometrio, misura del volume della cavità endometriale, pattern ecografico (trilaminare o indeterminato). Valutando tali parametri nelle donne che hanno ottenuto la gravidanza rispetto a quelle che non l'hanno ottenuta possiamo vedere che, nel gruppo della gravidanza che non ha avuto successo, lo spessore dell'endometrio era  $8.48 \pm 1.25$  mm, mentre nelle pazienti in cui la gravidanza ha

avuto successo era di  $9.57 \pm 1,52$  mm (p-value 0,012); nelle prime la misura del volume della cavità endometriale era di  $3.26 \pm 1.42$  cm<sup>3</sup>, nelle seconde invece di  $3.88 \pm 0.83$  cm<sup>3</sup> (p-value 0,001). Il pattern è risultato essere indeterminato nel 20% (N=5) dei casi di fallimento di gravidanza, mentre 7,7% (N=2) nei casi di successo; trilaminare invece nell'80% (N=20) dei fallimenti e nel 92% (N=24) dei successi.

*Tabella II: Analisi overall suddivisa tra outcome positivo e negativo delle 51 pazienti*

<b>Characteristic</b>	<b>gravidanza no, N = 25<sup>1</sup></b>	<b>gravidanza si, N = 26<sup>1</sup></b>	<b>p-value<sup>2</sup></b>
Spessore endometrio (mm)	8.48 ± 1.25	9.57 ± 1.52	<b>0.012</b>
Misura volume (cm <sup>3</sup> )	3.26 ± 1.42	3.88 ± 0.83	<b>0.001</b>
Pattern (indeterminato o trilaminare)			0.248
indeterminato	5 (20%)	2 (7.7%)	
trilaminare	20 (80%)	24 (92,3%)	
<sup>1</sup> Mean (SD); n (%)			
<sup>2</sup> Wilcoxon rank sum test; Fisher's exact test			

Nella *tabella III* è riportata l'analisi di correlazione tra le variabili indicate come spessore dell'endometrio, volume dell'endometrio, pattern endometriale e l'outcome.

Tabella III: correlazione tra i vari parametri

Parameter 1	Parameter 2	Rho	CI Low	CI high	P-value	Method
outcome	spessore_endometrio_mm	0,357	0,083	0,582	0,041	Spearman correlation
outcome	misura_volume_cm3	0,455	0,193	0,654	<b>0,004</b>	Spearman correlation
outcome	pattern	-0,178	-0,443	0,11	0,628	Spearman correlation
spessore_endometrio_mm	misura_volume_cm3	0,419	0,154	0,627	0,011	Spearman correlation
spessore_endometrio_mm	pattern	-0,089	-0,363	0,199	0,772	Spearman correlation
misura_volume_cm3	pattern	-0,123	-0,393	0,17	0,772	Spearman correlation

Legenda: CI (Confidence interval at 95%)

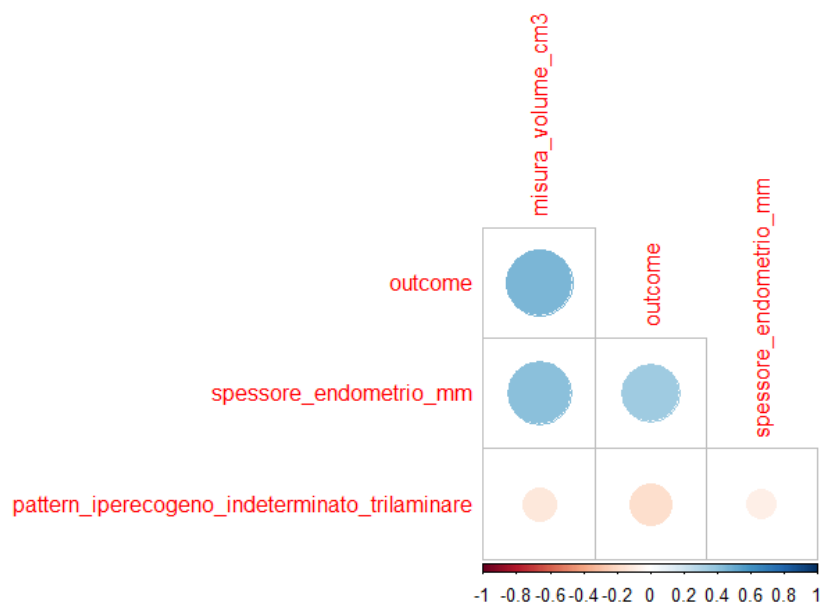


Grafico 1: correlazione grafica tra parametri. Legenda: La dimensione del punto dipende dalla quantità dell'indice Rho.

Il metodo utilizzato è l'indice Rho di Spearman sia nella *tabella III*, sia per il *Grafico 1* che esemplifica la correlazione da un punto di vista grafico.

Da questo grafico quindi possiamo notare come ci sia un coefficiente di correlazione positivo tra outcome e spessore dell'endometrio (con Rho 0,357), ma

ancora più significativo è il dato espresso dalla correlazione tra l'outcome e la misura del volume della cavità endometriale (con Rho 0,455).

Poiché il coefficiente di correlazione è positivo (0,46), ciò implica che esiste una relazione lineare positiva tra le due variabili, all'aumentare della misura in centimetri cubi (cm<sup>3</sup>), tende ad aumentare anche la probabilità che l'esito sia "positivo".

### **Caratteristiche generali dei sottogruppi**

La popolazione presa in esame è stata divisa in 2 gruppi: Gruppo A, coloro che hanno trasferito l'embrione in terza giornata e Gruppo B, coloro che hanno trasferito l'embrione in quinta giornata; a loro volta questi gruppi sono stati suddivisi in due ulteriori sottogruppi in base al successo (A1 e B1) o fallimento dell'impianto (A2 e B2).

### **Gruppo A:**

Nel gruppo A, l'età media delle donne era di  $37,85 \pm 5,49$  anni, e il loro BMI medio era di  $25,26 \pm 4,56$  Kg/m<sup>2</sup>. Il pattern dell'endometrio è risultato essere nell'84,62% (N=11) trilaminare, mentre nel 15,38% (N=29) non trilaminare. Lo spessore medio dell'endometrio era di  $8,5 \pm 1,14$  mm; mentre il volume medio della cavità endometriale era di  $3,32 \pm 1,52$  cm<sup>3</sup>.

Delle pazienti del Gruppo A, 2 hanno avuto successo nell'impianto dell'embrione (Gruppo A1), mentre in 11 pazienti l'impianto è fallito (Gruppo A2).

L'età materna era di  $34 \pm 7,07$  anni nel gruppo A1 e di  $38,55 \pm 5,26$  nel gruppo A2, p value 0,54. Il BMI era di  $26,5 \pm 3,11$  Kg/m<sup>2</sup> nel gruppo A1 e di  $25,03 \pm 4,86$  Kg/m<sup>2</sup> nel gruppo A2, p value 0,63. Il pattern dell'endometrio era trilaminare nel 100% delle donne del gruppo A1, mentre era trilaminare nell'81,8% nel gruppo A2. Lo spessore dell'endometrio era di  $8,35 \pm 0,49$  mm nel gruppo A1, mentre era di  $8,536 \pm 1,24$  mm nel gruppo A2, p value 0,73. Il volume della cavità endometriale era di  $3,85 \pm 0,26$  cm<sup>3</sup> nel gruppo A1, mentre era di  $3,23 \pm 1,64$  cm<sup>3</sup>.nel gruppo A2, p value 0,26.

*Tabella IV: Confronto dei dati anamnestici e antropometrici tra il Gruppo A1 (successo d'impianto) e Gruppo A2 (fallimento dell'impianto). I valori sono espressi in media  $\pm$  deviazione standard e il p value è considerato significativo se inferiore a 0,05.*

<b>parametri</b>	<b>A1 successo (N=2)</b>	<b>A2 Fallito (N=11)</b>	<b>p'</b>
<b>Età (anni)</b>	34 $\pm$ 7,07	38,55 $\pm$ 5,26	0,54
<b>BMI (Kg/m2)</b>	26,5 $\pm$ 3,11	25,03 $\pm$ 4,86	0,63
<b>Pattern endometrio:</b> - <b>indeterminato</b> - <b>trilaminare</b>	- 0,00% (N=0) - 100% (N=2)	- 18,2% (N=2) - 81,8% (N=9)	
<b>Spessore dell'endometrio (mm)</b>	8,35 $\pm$ 0,49	8,536 $\pm$ 1,24	0,73
<b>Volume della cavità endometriale (cm<sup>3</sup>)</b>	3,85 $\pm$ 0,26	3,23 $\pm$ 1,64	0,26

## **Ricerca cut-off del volume della cavità endometriale nel gruppo A**

Nel Grafico 2 è possibile osservare graficamente un confronto tra i valori del volume tra le pazienti che hanno avuto outcome positivo e negativo.

Abbiamo assunto il valore di 3,3 in base a quanto osservato nel Box Plot del *Grafico 2*.

Per questo abbiamo creato come prima cosa una matrice di confusione sul modello della tabella VII dove indichiamo con:

- VP (vero positivo): casi che risultano avere un volume superiori al nostro cut-off che hanno avuto esito positivo
- VN (vero negativo): casi che risultano avere un volume inferiore al nostro cut-off che hanno avuto esito negativo
- FP (falso positivo): casi che risultano avere un volume inferiore al nostro cut-off che hanno avuto esito positivo
- FN (falso negativo): casi che risultano avere un volume superiore al nostro cut-off che hanno avuto esito negativo

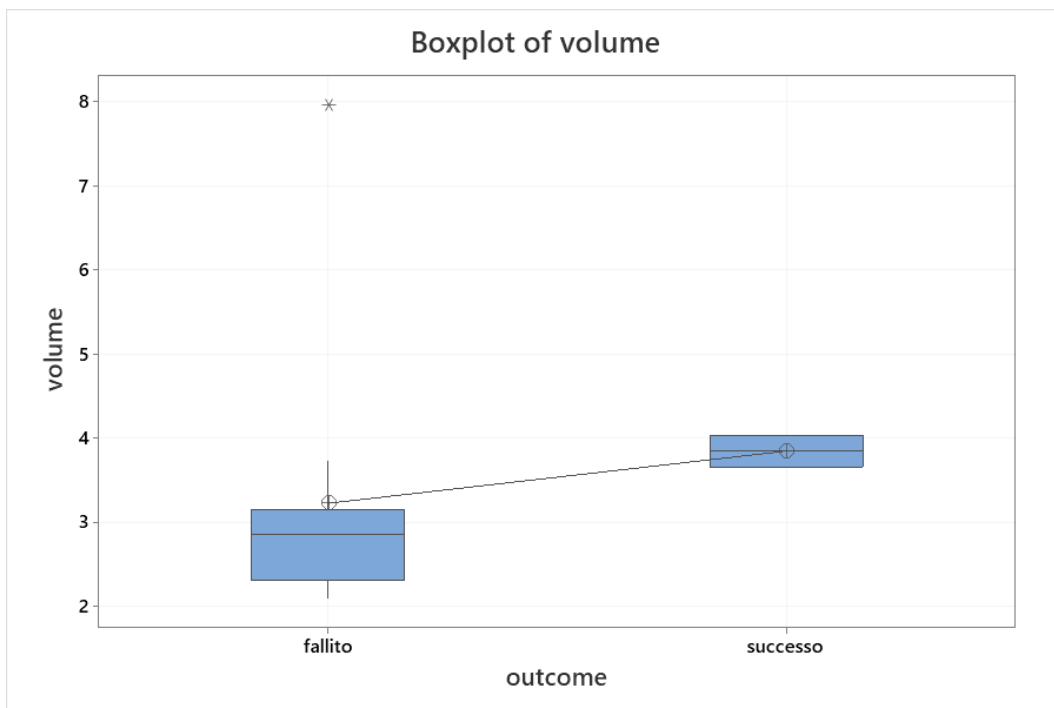


Grafico 2: Box Plot dei risultati ottenuti nel confronto di volume tra fallimento e successo dell'impianto.

Tabella V: Matrice di confusione tra casi successo e casi falliti e valore del volume superiore od inferiore al cut-off

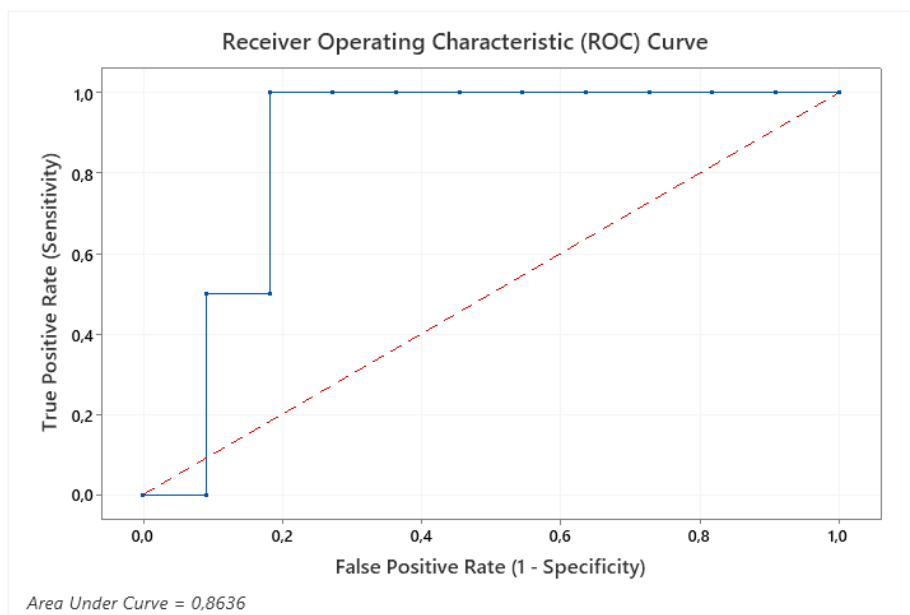
Parametri	Successo	Fallito	
<b>Sopra cut-off</b>	VP	FN	Totale casi con volume > 3,3 cm <sup>3</sup>
<b>Sotto cut-off</b>	FP	VN	Totale casi con volume < 3,3 cm <sup>3</sup>
	Totale successi	Totale fallimenti	

Abbiamo quindi provato a calcolare la sensibilità e la specificità del modello predittivo costruito fissando il cut-off del volume a 3,3 cm<sup>3</sup> abbiamo ottenuto i seguenti valori:

- Sensibilità: 100%, ovvero la capacità del nostro modello di predire i successi rispetto al totale degli effettivi successi.
- Specificità: 82%, ovvero la capacità di predire fallimenti rispetto al totale degli effettivi fallimenti.

Si costruisce una curva ROC (*Grafico 3*) che illustri come al variare della scelta del cut-off cambino la sensibilità e la specificità del modello predittivo. Il modello creato presenta un valore dell'area sotto la curva di 0,86 che gli permetterebbe di essere classificato come un discriminatore accettabile.

Da quanto emerge dall'analisi dati, un volume endometriale >3,3 cm<sup>3</sup> è un prerequisito per una buona ricettività endometriale.



*Grafico 3: Curva ROC che illustra la variazione di sensibilità e specificità del modello predittivo in base al cut-off scelto*



## **Gruppo B:**

Nel gruppo B, l'età media delle donne era di  $36,71 \pm 3,94$  anni, e il loro BMI medio era di  $22,98 \text{ Kg/m}^2$ . Il pattern dell'endometrio è risultato essere nell' 86,84 (N=33) trilaminare, mentre nel 13,16% (N=5) non trilaminare. Lo spessore medio dell'endometrio era di  $9,2 \pm 1,56$  mm; mentre il volume medio della cavità endometriale era di  $3,69 \pm 1,04 \text{ cm}^3$ .

Delle pazienti del Gruppo B, 24 hanno avuto successo nell'impianto dell'embrione (Gruppo B1), mentre in 14 pazienti l'impianto è fallito (Gruppo B2).

L'età materna era di  $37,42 \pm 3,93$  anni nel gruppo B1 e di  $36,29 \pm 3,97$  nel gruppo B2, p value 0,39. Il BMI era di  $23,50 \pm 4,11 \text{ Kg/m}^2$  nel gruppo B1 e di  $22,09 \pm 2,87 \text{ Kg/m}^2$  nel gruppo B2, p value 0,22. Il pattern dell'endometrio era trilaminare nel 91,67% (N=22) delle donne del gruppo B1, mentre era trilaminare nell' 78,57% nel gruppo B2. Lo spessore dell'endometrio era di  $9,67 \pm 1,53$  mm nel gruppo B1, mentre era di  $8,42 \pm 1,30$  mm nel gruppo B2, p value 0,01. Il volume della cavità endometriale era di  $3,92 \pm 0,81 \text{ cm}^3$  nel gruppo B1, mentre era di  $3,29 \pm 1,28 \text{ cm}^3$  nel gruppo B2, p value 0,11.

Tabella VI: Confronto dei dati anamnestici e antropometrici tra il Gruppo B1 (successo d'impianto) e Gruppo B2 (fallimento dell'impianto). I valori sono espressi in media  $\pm$  deviazione standard e il p value è considerato significativo se inferiore a 0,05.

<b>parametri</b>	<b>B1 successo (N=24)</b>	<b>B2 Fallito (N=14)</b>	<b>p'</b>
<b>Età (anni)</b>	37,42 $\pm$ 3,93	36,29 $\pm$ 3,97	0,39
<b>BMI (Kg/m2)</b>	23,50 $\pm$ 4,11	22,09 $\pm$ 2,87	0,22
<b>Pattern endometrio</b>			0,33
- <b>indeterminato</b>	- 8,33% (N=2)	- 21,43% (N=3)	
- <b>trilaminare</b>	- 91,67% (N=22)	- 78,57% (N=11)	
<b>Spessore dell'endometrio (mm)</b>	9,67 $\pm$ 1,53	8,42 $\pm$ 1,30	<b>0,01</b>
<b>Volume della cavità endometriale (cm<sup>3</sup>)</b>	3,92 $\pm$ 0,81	3,29 $\pm$ 1,28	0,11

## Ricerca cut-off del volume della cavità endometriale nel gruppo B

Si procede con la stessa procedura descritta nella ricerca del cut-off del volume della cavità endometriale nel gruppo A, per trovare il cut-off relativo al Gruppo B.

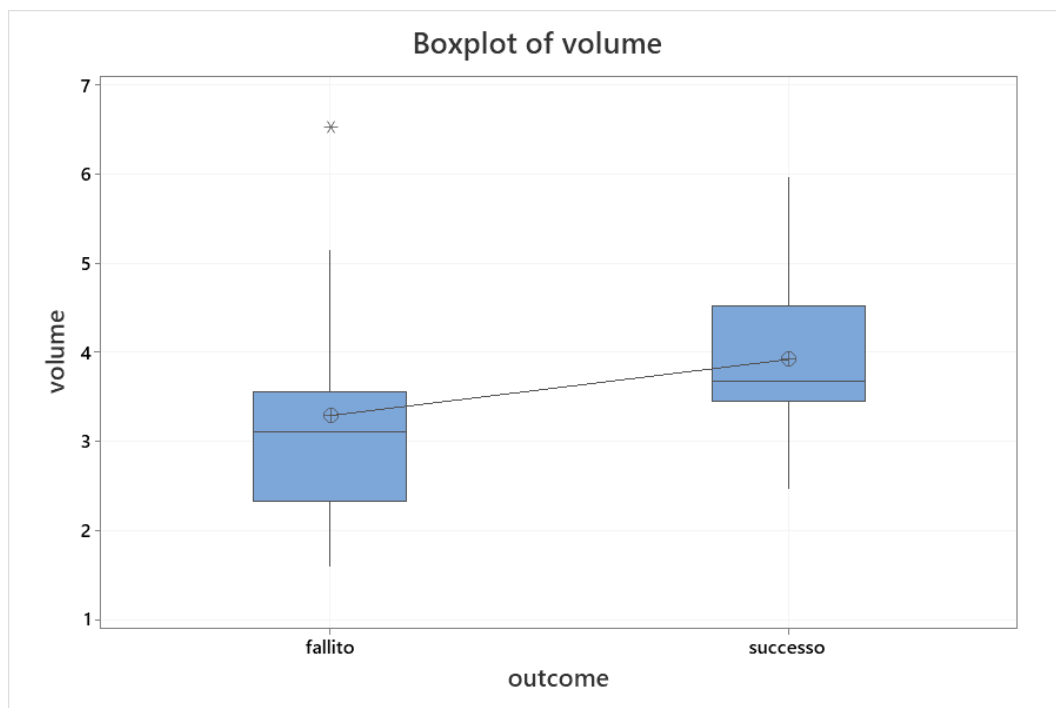


Grafico 4: Box Plot dei risultati ottenuti nel confronto di volume tra fallimento e successo dell'impianto.

Tabella VII: Matrice di confusione tra casi successo e casi falliti e valore del volume superiore od inferiore al cut-off

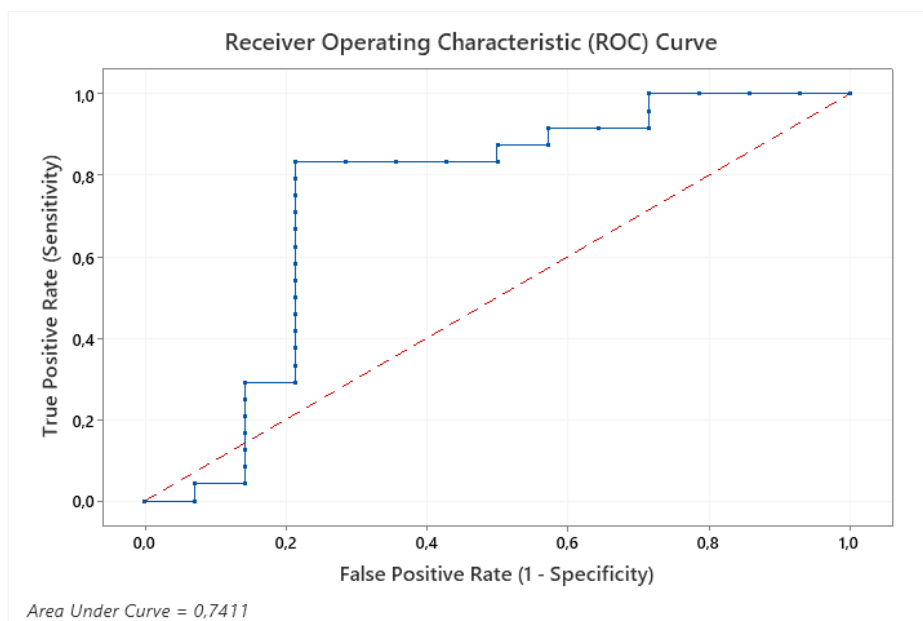
Parametri	Successo	Fallito	
<b>Sopra cut-off</b>	VP	FN	Totale casi con volume >3,3 cm <sup>3</sup>
<b>Sotto cut-off</b>	FP	VN	Totale casi con volume <3,3 cm <sup>3</sup>
	Totale successi	Totale fallimenti	

Abbiamo quindi provato a calcolare la sensibilità e la specificità del modello predittivo costruito fissando il cut-off del volume a 3,3 cm<sup>3</sup> e abbiamo ottenuto i seguenti valori:

- Sensibilità: 83%, ovvero la capacità del nostro modello di predire i successi rispetto al totale degli effettivi successi.
- Specificità: 64%, ovvero la capacità di predire fallimenti rispetto al totale degli effettivi fallimenti.

Si costruisce una curva ROC (*Grafico 5*) che illustri come al variare della scelta del cut-off cambino la sensibilità e la specificità del modello predittivo. Il modello creato presenta un valore dell'area sotto la curva di 0,74 che gli permetterebbe di essere classificato come un discriminatore accettabile.

Da quanto emerge dall'analisi dati, un volume endometriale >3,3 cm<sup>3</sup> è un prerequisito per una buona ricettività endometriale.



*Grafico 5: Curva ROC che illustra la variazione di sensibilità e specificità del modello predittivo in base al cut-off scelto*

## DISCUSSIONE

Le tecniche di PMA nel tempo hanno permesso di ottenere importanti successi nell'ambito della medicina della riproduzione. In particolare, si è al momento in grado di ottenere degli embrioni di buona qualità e permetterne la coltura fino allo stadio di blastocisti. Con l'utilizzo dei test genetici preimpianto è, inoltre, possibile conoscere l'assetto cromosomico dell'embrione prima del transfer per trasferire solo gli embrioni euploidi. Tuttavia, al momento, mediamente solo il 50% degli embrioni euploidi vanno incontro ad un impianto per cui l'attenzione del mondo scientifico si sta spostando sul ruolo dell'endometrio. [21]

Ad oggi, lo spessore e il pattern dell'endometrio vengono considerati i parametri più importanti per valutarne l'idoneità al transfer durante i trattamenti di PMA. Gli studi sono infatti abbastanza concordi nell'affermare che un endometrio con uno spessore di almeno 7 mm e un aspetto trilaminare abbia un valore prognostico positivo [22].

In considerazione del fatto che solo il 50% degli embrioni euploidi vanno incontro ad un impianto una volta che vengono utilizzati questi parametri ecografici per valutare la buona recettività endometriale, è necessario indagare l'utilizzo di ulteriori metodi non invasivi di valutazione della recettività endometriale, tra cui la valutazione del volume della cavità endometriale. Lo sviluppo sincronizzato dell'endometrio e dell'embrione è un prerequisito fondamentale per l'impianto di quest'ultimo. Lo spessore endometriale mediante ecografia transvaginale 2D non include il volume totale dell'endometrio e pertanto fornisce informazioni limitate sulla crescita e differenziazione. La capacità di quantificare accuratamente il

volume endometriale utilizzando l'ecografia potrebbe aiutarci a prevedere la ricettività endometriale.

Anche in merito alla relazione tra volume della cavità endometriale e outcome della PMA, i dati presenti in letteratura sono tra loro contrastanti e non risulta possibile trarre delle conclusioni definitive a causa dell'eterogeneità degli studi e dei molti fattori confondenti che possono essere coinvolti, riguardanti ad esempio tecnica utilizzata, giornata in cui è stata effettuata la valutazione ecografica, criteri di selezione delle pazienti e numero di embrioni trasferiti [22] [23] [24] [25].

Nel nostro studio abbiamo notato una correlazione tra spessore dell'endometrio e l'ottenimento della gravidanza e tra spessore dell'endometrio e volume della cavità endometriale. Le donne che avevano una gravidanza clinica avevano un endometrio più spesso ed una cavità endometriale di volume maggiore.

Essendoci tuttavia una differenza statisticamente significativa tra il numero di donne che avevano trasferito embrioni in terza giornata e donne che avevano trasferito embrioni in quinta giornata ed essendo noto che questo parametro ha un peso prognostico sull'outcome finale [26], abbiamo suddiviso la popolazione in due gruppi e ripetuto le analisi singolarmente in ciascun gruppo, uno formato da donne che avevano trasferito embrioni in 3° giornata, uno formato da donne che avevano trasferito embrioni in 5° giornata.

Nel primo gruppo del nostro studio, in cui l'embrione è stato trasferito in terza giornata, non è emersa una differenza statisticamente significativa tra lo spessore endometriale e il volume della cavità endometriale nelle donne che hanno ottenuto la gravidanza rispetto a quelle che non l'hanno ottenuta. Questi dati vanno contro

quanto riportato da alcuni studi in letteratura [27], tuttavia in entrambi i sottogruppi lo spessore dell'endometrio era mediamente maggiore dei 7 mm, cut off riconosciuto per un buon outcome del trattamento e il volume della cavità endometriale era mediamente maggiore di 3,2 ml in entrambi i sottogruppi. Gli studi che in letteratura, infatti, riportano una diminuzione delle possibilità di gravidanza con un volume uterino ridotto hanno una dimensione media minore.

Tra le donne che invece hanno trasferito gli embrioni allo stadio di blastocisti, lo spessore medio dell'endometrio è risultato essere statisticamente maggiore nei casi di successo di gravidanza; queste analisi si pongono in linea con quanto riportato negli studi presenti in letteratura [28] [29]. Anche in questo caso, in entrambi i sottogruppi lo spessore dell'endometrio era mediamente maggiore di 7 mm.

Per quanto riguarda il volume della cavità uterina nelle donne che hanno trasferito blastocisti, nel nostro studio non è emersa una differenza significativa tra coloro che hanno ottenuto la gravidanza rispetto a coloro che non l'hanno ottenuta, diversamente da quanto riportato in altri studi presenti in letteratura. In uno studio [30] il tasso di gravidanza dopo transfer di embrione a fresco era inferiore nelle pazienti con volume endometriale  $< 2,5$  ml rispetto a quelle con volume endometriale  $\geq 2,5$  ml.

In un altro elaborato [31] le pazienti con un volume endometriale  $< 2$  ml avevano tassi di gravidanza e di impianto significativamente più bassi rispetto alle donne che avevano un volume della cavità uterina maggiore. In un'altra analisi presente in letteratura [32] il volume della cavità endometriale era statisticamente maggiore nelle pazienti in cui si è instaurata una gravidanza.

Tuttavia, anche se non in modo statisticamente significativo, nelle nostre analisi il volume della cavità endometriale è risultato maggiore nelle donne che hanno ottenuto la gravidanza. C'è da considerare che i diversi studi che hanno evidenziato un'influenza della dimensione della cavità endometriale sull'outcome del trattamento, riportano una diminuzione della possibilità di gravidanza quando il volume della cavità endometriale è inferiore a 2,5 o 2 mm<sup>3</sup> [33] [34] mentre il volume medio della cavità endometriale in chi non ha ottenuto la gravidanza nel nostro studio era di 3,3 mm<sup>3</sup>.

Abbiamo poi valutato la possibilità di proporre dei cut-off per il volume della cavità endometriale sia per il primo che per il secondo gruppo. Per farlo abbiamo realizzato un grafico Box Plot e, basandoci sui risultati di quest'ultimo, abbiamo assunto il valore di 3,3 cm<sup>3</sup> che è risultato essere lo stesso per entrambi i gruppi.

Abbiamo quindi provato a calcolare la sensibilità e la specificità del modello predittivo costruito fissando il cut-off del volume a 3,3 cm<sup>3</sup>; per il primo gruppo il modello creato è emerso essere caratterizzato da una sensibilità del 100%, ovvero la capacità del nostro modello di predire i successi rispetto al totale degli effettivi successi, ed una specificità dell'82%, ovvero la capacità di predire fallimenti rispetto al totale degli effettivi fallimenti. Per il secondo gruppo, invece, la sensibilità si è rivelata essere 83%, mentre la specificità 64%.

L'analisi è proseguita provando ad osservare attraverso una curva ROC come sensibilità e specificità siano influenzate dal variare del valore del cut-off del volume della cavità endometriale che abbiamo utilizzato.



Per il primo gruppo il nostro modello ha un valore di AUC-ROC di 0,86 che gli permetterebbe di essere classificato come un discriminatore accettabile. Il secondo gruppo, invece, ha un valore di AUC-ROC di 0,74, anche quest'ultimo accettabile.

In questo elaborato abbiamo dimostrato che lo spessore dell'endometrio e il volume endometriale sono quindi correlati alla gravidanza e al tasso di impianto.

Inoltre, da quanto emerge dall'analisi dati e trovandosi in linea con quanto riportato in letteratura, un volume endometriale  $>3,3 \text{ cm}^3$  è un prerequisito per una buona ricettività endometriale.



## **LIMITI E PUNTI DI FORZA**

Vantaggio: tutte le ecografie sono state eseguite dal medesimo operatore esperto con ecografi uguale per hardware e software.

Uno dei limiti principali di questo studio è il numero limitato del campione che può aver influenzato l'analisi statistica, soprattutto per quanto riguarda il gruppo di donne che hanno trasferito gli embrioni in 3° giornata.

Il limitato numero del campione non ha permesso un'analisi statistica del pattern ecografico dell'endometrio in quanto quasi la totalità delle pazienti aveva lo stesso tipo di pattern endometriale.

Un altro limite che abbiamo riscontrato è la difficoltà di delineare con accuratezza il volume della cavità endometriale quando troviamo un pattern indeterminato. Dover definire un volume con questa tipologia di pattern risulta particolarmente complesso e poco definito, il cui risultato, quindi, non ci porta ad avere un dato certo ed inconfutabile.



## **CONCLUSIONI**

L'identificazione dell'ambiente uterino ottimale per il trasferimento degli embrioni è estremamente importante.

La volumetria tridimensionale dell'endometrio può fornire informazioni aggiuntive all'ecografia bidimensionale e potrebbe essere applicata nelle pazienti infertili allo stesso modo dell'ecografia bidimensionale.

Possiamo giungere alla conclusione che i dati dimostrano che la misurazione del volume della cavità endometriale può fornire ulteriori informazioni per valutare la ricettività endometriale e la possibilità di gravidanza, oltre al parametro dello spessore dell'endometrio, che ad oggi viene più comunemente usato.



## BIBLIOGRAFIA

[1] <https://www.iss.it/infertilit%C3%A0-e-pma#:~:text=L'Organizzazione%20Mondiale%20della%20Sanit%C3%A0,circa%20il%2010%2D12%25.>

[2] <https://www.nice.org.uk/guidance/cg156>

[3] [https://www.asrm.org/practice-guidance/practice-committee-documents/denitions-of-infertility/#:~:text="Infertility"%20is%20a,any%20combination%20of%20those%20factors.](https://www.asrm.org/practice-guidance/practice-committee-documents/denitions-of-infertility/#:~:text=)

[4] Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S; International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril.* 2009 Nov;92(5):1520-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009. Epub 2009 Oct 14. PMID: 19828144.

[5] Szamatowicz M, Szamatowicz J. Proven and unproven methods for diagnosis and treatment of infertility. *Adv Med Sci.* 2020 Mar;65(1):93-96. doi: 10.1016/j.advms.2019.12.008. Epub 2020 Jan 7. PMID: 31923772.

[6] Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.* 2018 Dec;62:2-10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29555319.

[7] Fertility and infertility: Definition and epidemiology Mélo die Vander Borgh t b , Christine Wynsa, b, \* aGynecology-Andrology Unit, Medical School, Institut de Recherche Expérimentale et Clinique, Université Catholique de Louvain, 1200 Brussels, Belgium bDepartment of Gynecology-Andrology, Cliniques Universitaires Saint-Luc, 1200 Brussels, Belgium

[8] Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Dec;83(12):4177-88. doi: 10.1210/jcem.83.12.5296. PMID: 9851748.

[9] Lee JY, Lee M, Lee SK. Role of endometrial immune cells in implantation. Clin Exp Reprod Med. 2011 Sep;38(3):119-25. doi: 10.5653/cerm.2011.38.3.119. Epub 2011 Sep 30. PMID: 22384430; PMCID: PMC3283071

[10] Kresch E, Efimenko I, Gonzalez D, Rizk PJ, Ramasamy R. Novel methods to enhance surgical sperm retrieval: a systematic review. Arab J Urol. 2021 May 18;19(3):227-237. doi: 10.1080/2090598X.2021.1926752. PMID: 34552774; PMCID: PMC8451700.

[11] Abyholm T, Tanbo T. GIFT, ZIFT, and related techniques. Curr Opin Obstet Gynecol. 1993 Oct;5(5):615-22. PMID: 8241437.

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

[13] [https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_3269\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_3269_allegato.pdf)

[14] Esponera, JS (1997). FASE PROLIFERATIVA. L'utero: fisiologia e patologia, 53.



[15] Zuccarello D, Sorrentino U, Brasson V, Marin L, Piccolo C, Capalbo A, Andrisani A, Cassina M. Epigenetics of pregnancy: looking beyond the DNA code. *J Assist Reprod Genet.* 2022 Apr;39(4):801-816. doi: 10.1007/s10815-022-02451-x. Epub 2022 Mar 17. PMID: 35301622; PMCID: PMC9050975.

[16] Linee guida sulla menopausa, AOGOI

[17] Christensen A, Bentley GE, Cabrera R, Ortega HH, Perfito N, Wu TJ, Micevych P. Hormonal regulation of female reproduction. *Horm Metab Res.* 2012 Jul;44(8):587-91. doi: 10.1055/s-0032-1306301. Epub 2012 Mar 21. PMID: 22438212; PMCID: PMC3647363.

[18] Lea RG, Sandra O. Immunoendocrine aspects of endometrial function and implantation. *Reproduction.* 2007 Sep;134(3):389-404. doi: 10.1530/REP-07-0167. PMID: 17709558.

[19] Sotirios H, Saravelos, Kannamannadiar Jayaprakasan, Kamal Ojha, Tin-Chiu Li, Assessment of the uterus with three-dimensional ultrasound in women undergoing ART, *Human Reproduction Update*, Volume 23, Issue 2, March-April 2017, Pages 188–210

[20] Pundir J, El Toukhy T. Uterine cavity assessment prior to IVF. *Womens Health (Lond).* 2010 Nov;6(6):841-7; quiz 847-8. doi: 10.2217/whe.10.61. PMID: 21118042.

[21] Cimadomo D, Rienzi L, Conforti A, Forman E, Canosa S, Innocenti F, Poli M, Hynes J, Gemmell L, Vaiarelli A, Alviggi C, Ubaldi FM, Capalbo A. Opening the black box: why do euploid blastocysts fail to implant? A systematic review and

meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2023 Sep 5;29(5):570-633. doi: 10.1093/humupd/dmad010. PMID: 37192834.

[22] Zhao, J., Zhang, Q., & Li, Y. (2012). The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1), 1-6.

[23] Zollner U, Specketer MT, Dietl J, Zollner KP. 3D-Endometrial volume and outcome of cryopreserved embryo replacement cycles. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 Aug;286(2):517-23. doi: 10.1007/s00404-012-2332-4. Epub 2012 Apr 25. PMID: 22532089.

[24] Tabella I di Saravelos SH, Jayaprakasan K, Ojha K, Li TC. Assessment of the uterus with three-dimensional ultrasound in women undergoing ART. *Hum Reprod Update*. 2017 Mar 1;23(2):188-210. doi: 10.1093/humupd/dmw040. PMID: 28007752.

[25] Lensen S, Lantsberg D, Gardner DK, Sophian AD, Wandafiana N, Kamath MS. The role of timing in frozen embryo transfer. *Fertil Steril*. 2022 Nov;118(5):832-838. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.08.009. Epub 2022 Sep 21. PMID: 36150920.

[26] P M Rijnders, C A Jansen, The predictive value of day 3 embryo morphology regarding blastocyst formation, pregnancy and implantation rate after day 5 transfer following in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection., *Human Reproduction*, Volume 13, Issue 10, 1 October 1998, Pages 2869–2873

[27] Zhao J, Zhang Q, Li Y. The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles.

Reprod Biol Endocrinol. 2012 Nov 28;10:100. doi: 10.1186/1477-7827-10-100. PMID: 23190428; PMCID: PMC3551825.

[28] Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM, Britten S. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. *Fertil Steril.* 1994 Nov;62(5):1004-10. doi: 10.1016/s0015-0282(16)57065-4. PMID: 7926110.

[29] Salzillo, P., Salzillo, M., Iannella, I., Cobellis, L., & Colacurci, N. (2010). Aspetti ecografici nello studio della recettività endometriale in donne sottoposte a programmi di fertilizzazione in vitro. *Minerva ginecologica*, 62, 267-75.

[30] Yaman C, Ebner T, Sommergruber M, Polz W, Tews G. Ruolo della misurazione ecografica tridimensionale del volume dell'endometrio come predittore dell'esito della gravidanza in un programma IVF-ET: uno studio preliminare. *Fertil Sterile.* 2000; 74 :797–801. doi: 10.1016/S0015-0282(00)01493-X.

[31] Raga F, Bonilla-Musoles F, Casañ EM, Klein O, Bonilla F. Assessment of endometrial volume by three-dimensional ultrasound prior to embryo transfer: clues to endometrial receptivity. *Hum Reprod.* 1999 Nov;14(11):2851-4. doi: 10.1093/humrep/14.11.2851. PMID: 10548635.

[32] Mercé LT, Barco MJ, Bau S, Troyano J. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? *Fertil Steril.* 2008 Jan;89(1):111-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.02.029. Epub 2007 Jun 6. PMID: 17555754.

[33] Zollner U, Zollner KP, Specketer MT, Blissling S, Müller T, Steck T, Dietl J. Endometrial volume as assessed by three-dimensional ultrasound is a predictor of

pregnancy outcome after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril.* 2003 Dec;80(6):1515-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.08.004. PMID: 14667895.

[34] Yaman C, Ebner T, Sommergruber M, Pölz W, Tews G. Role of three-dimensional ultrasonographic measurement of endometrium volume as a predictor of pregnancy outcome in an IVF-ET program: a preliminary study. *Fertil Steril.* 2000 Oct;74(4):797-801. doi: 10.1016/s0015-0282(00)01493-x. PMID: 11020526.