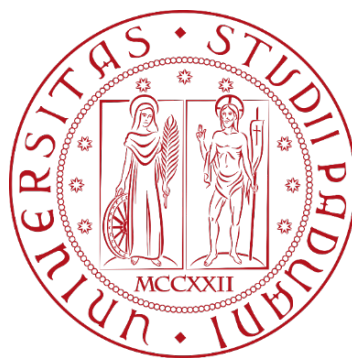




UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA  
SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA**  
**UOC DI ENDOCRINOLOGIA**

Direttrice: Prof.ssa Caterina Mian

TESI DI LAUREA

**Lo iodio nella fertilità femminile**

**Relazione tra ioduria, abitudini alimentari e outcomes nei percorsi di PMA**

Relatrice: Prof.ssa Caterina Mian

Correlatrice: Dott.ssa Chiara Sabbadin

Correlatrice: Prof.ssa Alessandra Andrisani

Laureanda: Francesca Puntel

Anno accademico 2025-2026



## **Indice**

|                                                                       |           |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>BACKGROUND TEORICO</b>                                             | <b>6</b>  |
| <b>TIROIDE</b>                                                        | <b>6</b>  |
| L'Asse Ipotalamo-Ipofisi-Tiroide (HPT)                                | 7         |
| Sintesi degli ormoni tiroidei                                         | 8         |
| Funzioni degli ormoni tiroidei                                        | 11        |
| Indagini di laboratorio per la funzionalità tiroidea                  | 12        |
| <b>IODIO</b>                                                          | <b>15</b> |
| Fabbisogno iodico e valutazione dello status iodico della popolazione | 16        |
| Disturbi da apporto inadeguato                                        | 18        |
| Disturbi da difetto di iodio (IDD)                                    | 19        |
| Disturbi da eccesso iodico                                            | 20        |
| Abitudini alimentari                                                  | 21        |
| Iodoprofilassi                                                        | 27        |
| <b>INFERTILITA' FEMMINILE</b>                                         | <b>30</b> |
| Eziologia dell'infertilità                                            | 31        |
| Valutazione diagnostica della coppia infertile                        | 34        |
| Riserva ovarica                                                       | 35        |
| Ormone Antimulleriano                                                 | 36        |
| Conta dei follicoli antrali                                           | 37        |
| <b>PERCORSO DI PMA</b>                                                | <b>38</b> |
| Stimolazione Ovarica Controllata                                      | 41        |
| Poor Ovarian Responders (POR)                                         | 43        |
| Pick-up ovarico e fecondazione                                        | 44        |
| Qualità ovocitaria ed embrionale nei cicli di PMA                     | 46        |
| Qualità degli Ovociti                                                 | 46        |
| Qualità dell'Embrione                                                 | 47        |
| <b>INFERTILITA', DISFUNZIONI TIROIDEE E IODIO</b>                     | <b>49</b> |
| Tiroide e fertilità femminile                                         | 49        |
| Disfunzioni tiroidee e infertilità                                    | 50        |
| Disfunzioni tiroidee e deficit iodico nei cicli di PMA                | 53        |
| Disfunzioni tiroidee e deficit iodico in gravidanza                   | 55        |
| <b>SCOPO DELLO STUDIO</b>                                             | <b>58</b> |
| <b>OUTCOMES DI INTERESSE</b>                                          | <b>58</b> |
| <b>MATERIALI E METODI</b>                                             | <b>60</b> |
| <b>RACCOLTA DEI DATI</b>                                              | <b>60</b> |

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| <b>ANALISI DEI DATI.....</b>     | <b>64</b> |
| <b><i>RISULTATI.....</i></b>     | <b>66</b> |
| <b><i>DISCUSSIONE.....</i></b>   | <b>82</b> |
| <b><i>CONCLUSIONE.....</i></b>   | <b>89</b> |
| <b><i>BIBLIOGRAFIA .....</i></b> | <b>92</b> |





## ABSTRACT

**Background teorico.** L'interazione tra funzione tiroidea e attività ovarica costituisce un elemento centrale nella fisiopatologia della fertilità femminile. Disfunzioni tiroidee, incluse quelle subcliniche, possono alterare meccanismi riproduttivi fondamentali quali la follicologenesi, l'ovulazione e l'impianto embrionale.

In questo contesto, l'attenzione è rivolta al ruolo dello iodio, micronutriente indispensabile per la sintesi degli ormoni tiroidei e determinante per il mantenimento dell'equilibrio endocrino-riproduttivo. Evidenze recenti suggeriscono che lo iodio possa esercitare un'influenza diretta sulla riserva ovarica e, di conseguenza, sugli esiti delle tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), sottolineando l'importanza di una valutazione completa dello stato tiroideo e nutrizionale nella gestione della fertilità.

**Scopo dello studio.** Il presente studio si propone di approfondire il ruolo dello stato iodico nella funzione riproduttiva femminile all'interno di una popolazione di donne infertili candidate a percorsi di PMA. Nello specifico, l'obiettivo è indagare le possibili correlazioni tra lo stato iodico (stimato attraverso campioni di ioduria spot), la funzionalità tiroidea e la riserva ovarica. Si intende inoltre analizzare tali associazioni nel contesto dinamico della stimolazione ovarica controllata (COS), valutando la relazione tra ioduria e i principali outcomes clinici della PMA. Infine, lo studio mira a contestualizzare lo stato iodico delle pazienti in relazione alle loro abitudini alimentari, al fine di esplorare possibili determinanti nutrizionali dell'apporto iodico e il loro impatto sugli esiti riproduttivi.

**Materiali e metodi.** Lo studio osservazionale monocentrico è stato condotto presso l'Unità Operativa di PMA dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Il campione ha incluso donne con diagnosi di infertilità, per le quali sono stati raccolti e analizzati dati relativi a status iodico (basale e in fase di stimolazione), abitudini alimentari, funzionalità tiroidea, parametri di riserva ovarica (AFC e AMH) ed esiti dei cicli di PMA.

**Risultati.** Nel campione analizzato, il 63% delle pazienti ha evidenziato uno stato di iodocarenza. Tali percentuali sono rimaste pressoché invariate anche nella

valutazione della ioduria durante la COS. È emersa una correlazione positiva, seppur debole ma statisticamente significativa tra ioduria e AFC ( $r=0,13$ ;  $p=0,023$ ) e tra ioduria e AMH ( $r=0,17$ ;  $p=0,002$ ). La stratificazione del campione in tre classi di ioduria (deficit severo, deficit lieve e normoioduria) ha mostrato un trend decrescente della percentuale di pazienti poor ovarian responders (POR) all'aumentare dei livelli di ioduria. Non sono state riscontrate associazioni significative tra ioduria o parametri di funzionalità tiroidea e qualità embrionale; tuttavia, i valori mediani di ioduria basale, di TSH e di fT3 sono risultati più elevati nelle pazienti con migliore qualità embrionaria.

**Conclusioni.** L'elevata prevalenza di iodocarenza riscontrata, associata a una marcata disinformazione della campagna di iodoprofilassi, suggerisce la necessità di una maggiore attenzione allo stato iodico nelle pazienti che scelgono un percorso di PMA di II livello. Sebbene l'alimentazione influisca sull'apporto iodico, lo studio ha evidenziato un incremento significativamente maggiore dei livelli di ioduria nelle pazienti che assumevano integratori iodici, supportando l'efficacia della supplementazione.

L'associazione significativa con i parametri di riserva ovarica e i livelli di ioduria, superiori nelle pazienti normo-responders (NOR), avvalorano l'ipotesi di un ruolo biologico dello iodio sulla funzionalità ovarica. Al contrario, non emergono associazioni statisticamente significative con i principali esiti di PMA, sebbene si descrivano lievi fluttuazioni di ioduria in merito alla qualità embrionaria.

Lo iodio emerge quindi come un fattore di rischio modificabile e un potenziale modulatore del microambiente riproduttivo, configurandosi come un promettente e precoce target d'intervento clinico nei percorsi di PMA. Studi prospettici su campioni più ampi saranno necessari per definire meglio l'impatto clinico dello stato iodico nei percorsi di PMA.

**Background.** The interaction between thyroid function and ovarian activity constitutes a pivotal element in the pathophysiology of female fertility. Thyroid dysfunctions, including subclinical forms, can impair fundamental reproductive mechanisms such as folliculogenesis, ovulation, and embryo implantation. In this context, growing attention is focused on the role of iodine, an essential micronutrient for thyroid hormone synthesis and a key determinant in maintaining endocrine-reproductive balance. Recent evidence suggests that iodine may exert a direct influence on ovarian reserve and, consequently, on the outcomes of Assisted Reproductive Technology (ART), highlighting the importance of a comprehensive assessment of thyroid and nutritional status in fertility management.

**Aim of the Study.** This study aims to investigate the role of iodine status in female reproductive function within a population of infertile women undergoing ART pathways. Specifically, the objective is to investigate potential correlations between iodine status (estimated via urinary iodine concentration, UIC), thyroid function, and ovarian reserve. Furthermore, it aims to analyze these associations within the dynamic context of controlled ovarian stimulation (COS), evaluating the relationship between urinary iodine levels and the primary clinical outcomes of ART. Lastly, the study seeks to contextualize patients' iodine status in relation to their dietary habits, in order to explore potential nutritional determinants of iodine intake and their impact on reproductive outcomes.

**Materials and Methods.** This single-center observational study was conducted at the ART Unit of the University Hospital of Padua. The sample included women diagnosed with infertility, for whom data regarding iodine status (baseline and during stimulation), dietary habits, thyroid function, ovarian reserve parameters (AFC and AMH), and ART cycle outcomes were collected and analyzed.

**Results.** In the analyzed sample, 63% of patients exhibited iodine deficiency. These percentages remained virtually unchanged during the assessment of urinary iodine concentration during COS. A positive, although weak, but statistically significant correlation emerged between urinary iodine levels and AFC ( $r = 0.13$ ;  $p = 0.023$ ) as well as between urinary iodine levels and AMH ( $r = 0.17$ ;  $p = 0.002$ ). Stratification of the sample into three iodine status classes (severe deficiency, mild deficiency, and normoioduria) revealed a decreasing trend in the percentage of poor

ovarian responder (POR) patients as urinary iodine levels increased. No significant associations were found between urinary iodine levels or thyroid function parameters and embryo quality; however, median baseline urinary iodine, TSH, and fT3 levels were found to be higher in patients with better embryo quality.

**Conclusions.** The high prevalence of iodine deficiency found, combined with a marked lack of awareness regarding the iodine prophylaxis campaign, suggests the need for greater attention to iodine status in patients undergoing level II ART pathways. Although diet influences iodine intake, the study highlighted a significantly greater increase in urinary iodine levels in patients taking iodine supplements, thereby supporting the efficacy of supplementation. The significant association with ovarian reserve parameters and urinary iodine levels, which were higher in normo-responder (NOR) patients, supports the hypothesis of a biological role of iodine in ovarian function. Conversely, no statistically significant associations emerged with the main ART outcomes, although mild fluctuations in urinary iodine concentration were observed regarding embryo quality. Iodine thus emerges as a modifiable risk factor and a potential modulator of the reproductive microenvironment, configuring itself as a promising and early target for clinical intervention in ART pathways. Prospective studies on larger cohorts will be necessary to better define the clinical impact of iodine status in assisted reproduction.



## **BACKGROUND TEORICO**

In questo capitolo verranno presentate le basi teoriche utili a inquadrare il tema della presente tesi. L'obiettivo è fornire un quadro generale e aggiornato della letteratura scientifica riguardante i principali argomenti trattati, al fine di comprendere meglio le relazioni tra i diversi fattori coinvolti e interpretare correttamente le evidenze che verranno discusse nei capitoli successivi.

Nei paragrafi successivi verranno quindi analizzati, dal punto di vista teorico, i seguenti temi: la funzione della tiroide e le sue principali disfunzioni, il ruolo dello iodio nell'organismo umano, l'infertilità femminile e le sue principali cause, il percorso di procreazione medicalmente assistita (PMA) e, infine, le possibili correlazioni tra infertilità, disfunzioni tiroidee e deficit iodico.

### **TIROIDE**

La tiroide è una ghiandola endocrina costituita da due lobi separati da una parte centrale, detta istmo. È localizzata nella parte anteriore del collo, al di sotto della cartilagine tiroidea e cricoidea, all'altezza dei primi anelli tracheali. In condizioni fisiologiche, nell'adulto ha una consistenza teso-elastica di tipo parenchimoso, risulta mobile rispetto ai piani anatomici sottostanti, pesa circa 15-20 g ed è vascolarizzata dall'arteria tiroidea superiore (un ramo della carotide esterna) e dalla tiroidea inferiore (ramo della succlavia).

L'unità funzionale della tiroide è il follicolo tiroideo, struttura rivestita da un monostrato di tireociti, contenente la colloide, sostanza costituita principalmente da tireoglobulina, una glicoproteina che funge da precursore nella sintesi degli ormoni tiroidei, tiroxina (T4) e triiodotironina (T3).

Sono presenti sulla membrana basale dei follicoli tiroidei delle cellule neuroendocrine, dette cellule parafollicolari o cellule C, che producono l'ormone calcitonina, responsabile della regolazione del calcio.

Il tireocita, o cellula follicolare, è una cellula epiteliale specializzata polarizzata che presenta due compartimenti distinguibili anatomicamente e funzionalmente. La polarizzazione è fondamentale per il funzionamento del follicolo tiroideo. Ciascun tireocita è legato a quello accanto da giunzioni strette, posizionate nel terzo superiore. All'altezza delle giunzioni si individua la separazione tra il

compartimento apicale, che guarda verso la colloide, ed il compartimento baso-laterale, circondato da vasi sanguigni.

Nel compartimento baso-laterale si trovano:

- **Pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasi:** trasporta fuori 3 ioni  $\text{Na}^+$  e dentro 2 ioni  $\text{K}^+$ .
- **Trasportatore NIS** (sodium-iodide symporter): NIS consente il passaggio all'interno della cellula di uno ione iodio controgradiente e di due ioni sodio secondo gradiente, quest'ultimo prodotto dalla  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasi.
- **Recettore del TSH (TSHR):** proteina a sette domini transmembrana, che viene attivata dal legame con TSH. L'interazione attiva l'enzima adenilato ciclasi, che converte l'ATP in AMP ciclico (cAMP). Quest'ultimo attiva la proteina chinasi A (PKA), favorendo l'espressione e l'inserimento sulla membrana cellulare del NIS.

Nel compartimento apicale si trovano:

- **Pendrina:** glicoproteina che agisce come scambiatore di anioni. Mediante trasporto facilitato lo ione ioduro ( $\text{I}^-$ ) viene liberato nell'interfaccia cellula-colloide in cambio di uno ione cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), che viene introdotto nella cellula.
- **Tireoperossidasi (TPO):** capta lo iodio e lo utilizza per la produzione di ormoni tiroidei; è un enzima che ossida lo iodio e lo coniuga ai residui tirosinici legati alla tireoglobulina. (1,2)

## L'Asse Ipotalamo-Ipofisi-Tiroide (HPT)

Il funzionamento della tiroide è quello di una ghiandola periferica controllata centralmente da ipotalamo ed ipofisi. La regolazione è affidata a un sistema di controllo gerarchico a "cascata", che permette di mantenere i livelli ormonali circolanti entro un intervallo fisiologico estremamente ristretto.

Il controllo inizia a livello ipotalamico con la secrezione di tireoliberina (TRH o Thyrotropin-Releasing Hormone), tripeptide prodotto dall'ipotalamo, rilasciato nel sistema portale ipofisario in risposta a stimoli centrali, come il freddo e segnali metabolici, o a bassi livelli di ormoni tiroidei circolanti. Il TRH raggiunge l'ipofisi

anteriore (adenoipofisi), dove stimola le cellule tireotrope a produrre e secernere l'ormone tireotropina (Thyroid-Stimulating Hormone, TSH).

Il TSH è il principale regolatore della tiroide e rappresenta un indicatore fisiologico chiave della funzione tiroidea. È costituito da due subunità: una subunità  $\alpha$  comune ad altri ormoni glicoproteici (come LH, FSH e hCG) e una subunità  $\beta$  che conferisce specificità funzionale e che permette il legame con il recettore TSH-R. Tale legame costituisce il passaggio fondamentale per la sintesi e liberazione degli ormoni tiroidei.

A livello tiroideo, sotto lo stimolo del TSH, la ghiandola rilascia prevalentemente T4 (circa il 90%) e una minor quota di T3 (10%). Una volta in circolo, la maggior parte di T4 viene convertita nei tessuti periferici (fegato, reni, muscoli) in T3, che rappresenta la forma ormonale biologicamente attiva capace di legarsi a specifici recettori nucleari (TR $\alpha$  e TR $\beta$ ) nelle cellule target.

Il sistema è regolato da un meccanismo di feedback negativo preciso. Quando i livelli di T4 e T3 libera (fT4 e fT3) aumentano nel sangue, questi ormoni agiscono inibendo “a monte” l'ipofisi e l'ipotalamo, riducendo la secrezione di TSH e TRH. Inoltre, il TSH può contribuire a ridurre la secrezione di TRH, mentre il TRH può limitare la sua stessa produzione attraverso una regolazione autocrina. In questo modo, la produzione di ormoni tiroidei si riduce non appena le necessità metaboliche dell'organismo sono soddisfatte. (2)(3)

## **Sintesi degli ormoni tiroidei**

La sintesi degli ormoni tiroidei è un processo biochimico complesso e altamente specializzato che ha luogo all'interno dei follicoli tiroidei. Richiede l'integrità strutturale della ghiandola e un apporto costante di iodio esogeno ( *Figura 1*).

Attraverso la dieta, lo iodio viene assunto prevalentemente sotto forma di ioduro e iodato (IO $_3^-$ ), quest'ultimo rapidamente ridotto a I $^-$  nel tratto gastrointestinale prima dell'assorbimento. Oltre il 90% dello I $^-$  viene assorbito a livello dello stomaco e del duodeno, grazie alla sua elevata biodisponibilità. Una volta entrato nel circolo ematico, lo ioduro inorganico plasmatico viene distribuito ai vari tessuti e captato dalla tiroide in proporzioni variabili (dal 5% fino al 100% dello iodio assorbito), in funzione dell'apporto iodico complessivo. (4)

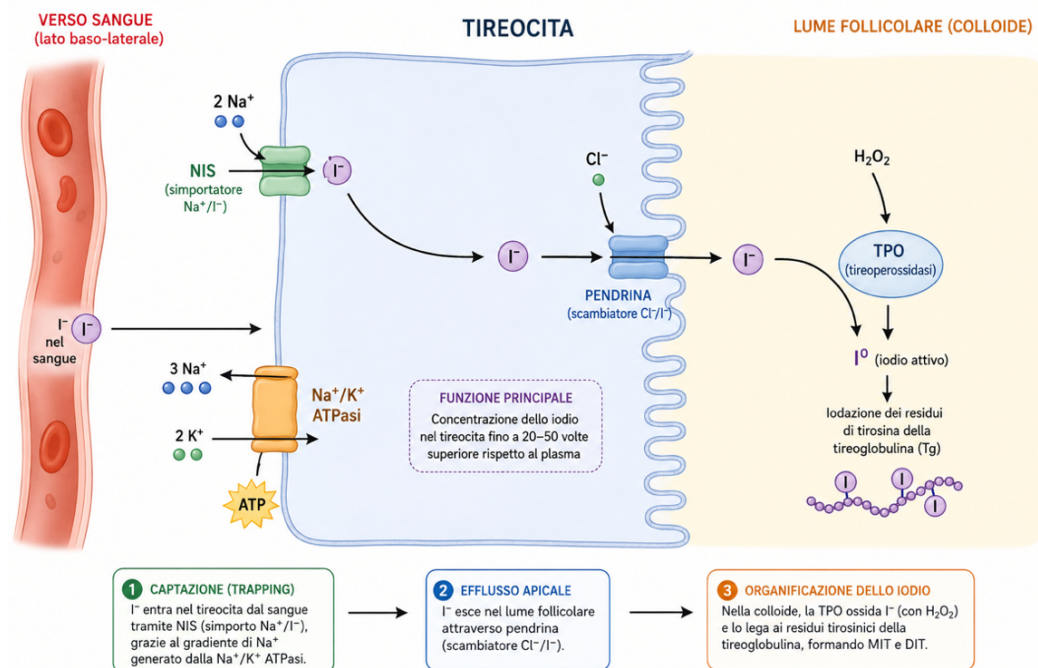


Figura 1. Iodio nel tireocita: captazione, trasporto e sintesi degli ormoni tiroidei

Il processo ha inizio con il "trapping" dello ioduro, ovvero la captazione attiva dello iodio dal flusso ematico verso il citoplasma dei tireociti tramite il simporto NIS, regolato principalmente dall'ormone tireostimolante. Il TSH, infatti, lega il recettore TSH-R sulla membrana del tireocita attivando una cascata del segnale, cAMP mediata, che porta a diverse azioni biologiche: aumenta la vascolarizzazione della tiroide, l'espressione di NIS, il trasporto di iodio, la trascrizione di pendrina e di tireoperossidasi.

L'attività del NIS, sfruttando il gradiente del sodio generato dalla pompa  $Na^+/K^+$  ATPasi, consente di concentrare lo iodio all'interno della ghiandola fino a livelli 20-50 volte superiori rispetto a quelli plasmatici.

Una volta all'interno del citoplasma, lo  $I^-$  migra verso il polo apicale della cellula. L'efflusso nel lume follicolare verso l'interfaccia cellula-colloide avviene attraverso la pendrina con scambio  $Cl^-/I^-$ . Contemporaneamente, il reticolo endoplasmatico e l'apparato di Golgi del tireocita sintetizzano la tireoglobulina (Tg), una glicoproteina ricca di residui di tirosina, che viene secreta per esocitosi nella colloide.

Nella colloide si trova la TPO, che catalizza l'ossidazione dello ioduro in presenza di perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ). Questo processo porta alla formazione di specie reattive dell'ossigeno che, se non venissero neutralizzate con l'enzima glutazione perossidasi, potrebbero danneggiare il tireocita fino a indurlo all'apoptosi.

Dopo l'ossidazione, lo iodio diventa altamente reattivo e si lega rapidamente ai residui di tirosina della tireoglobulina, passaggio che prende il nome di organificazione dello iodio e che porta alla formazione dei residui iodotirosinici, moniodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT), precursori degli ormoni tiroidei. Attraverso reazioni di accoppiamento catalizzate dalla TPO, due molecole di DIT si combinano per formare la T4, mentre una molecola di MIT e una di DIT danno origine alla T3. Gli ormoni T3 e T4 così formati vengono immagazzinati nel lume follicolare legati alla tireoglobulina. (5)(6)

A differenza di altre ghiandole endocrine, la tiroide immagazzina grandi quantità di ormoni pre-sintetizzati all'interno della colloide. Quando l'organismo richiede ormoni tiroidei, sotto l'azione di TSH, il tireocita emette degli pseudopodi per inglobare porzioni di colloide tramite pinocitosi. Le vescicole endocitiche si fondono con i lisosomi, i cui enzimi proteolitici scindono i legami tra gli ormoni e la Tg. (7)

La T4 e la T3 vengono secrete nel torrente circolatorio attraverso la membrana basolaterale per espletare le loro funzioni metaboliche sistemiche. L'eccesso di iodio non impiegato dalla tiroide viene eliminato prevalentemente per via urinaria.

Nel sangue, la T4 è l'ormone tiroideo maggiormente secreto rispetto a T3 (rapporto circa 20:1). Solo una minima parte (0,02% per T4 e 0,3% per T3) è libera e biologicamente attiva, mentre la restante circola legata a proteine carrier, come transtiretina, albumina e globulina legante la tiroxina (TBG), che ne garantiscono la solubilità e ne regolano la frazione libera. (8)

L'ingresso nella cellula target è mediato da trasportatori transmembrana specifici, tra cui i trasportatori di amminoacidi monocarbossilati (come MCT8 e MCT10) e i polipeptidi trasportatori di anioni organici (OATP).

All'interno del citoplasma, la T4 viene convertita in T3 mediante l'azione delle deiodinasi periferiche. Questi enzimi rimuovono un atomo di iodio dalla T4, convertendola in T3, che rappresenta la forma biologicamente attiva in grado di legarsi ai recettori e svolgere i suoi effetti nei diversi tessuti. (9)

Esistono 3 tipi di deiodinasi selenio-dipendenti:

- D1: prevalenti in fegato, rene e tiroide, bassa affinità.

- D2: attive in cervello, ipofisi e tessuto bruno, fondamentali per la regolazione intracellulare.
- D3: inattivanti, producono rT3.

La T3 migra quindi nel nucleo cellulare, dove si lega ai recettori nucleari dell'ormone tiroideo (TR). Questo complesso ormone-recettore interagisce con specifiche sequenze di DNA, note come elementi di risposta all'ormone tiroideo (TRE), situati nelle regioni promotrici dei geni bersaglio. Il legame della T3 induce un cambiamento conformazionale che favorisce il rilascio dei corepressori e il reclutamento di coattivatori, innescando la sintesi di RNA messaggero (mRNA) e la conseguente produzione di proteine specifiche che mediano la risposta cellulare. Questo meccanismo genomico è alla base della regolazione della sintesi proteica e del controllo dei processi fisiologici fondamentali. (7,10,11)

### **Funzioni degli ormoni tiroidei**

Gli ormoni tiroidei hanno un comportamento misto tra gli ormoni proteici e gli ormoni steroidei. Gli ormoni tiroidei riconoscono un recettore di membrana a livello dei tessuti periferici come gli ormoni proteici. T3 però non attiva una cascata del segnale, ma entra esso stesso nella cellula e lega un recettore nucleare, come gli ormoni steroidei. Il pro-ormone e l'ormone attivo presentano un'emivita di durata differente: T4 ha un'emivita lunga, di 7-8 giorni, mentre T3 ha un'emivita molto breve, meno di un giorno.

Gli ormoni tiroidei svolgono un ruolo centrale nella regolazione del metabolismo energetico, nella crescita e nello sviluppo, influenzando numerosi sistemi fisiologici. (1)(12)

- **A livello metabolico:** aumentano il metabolismo basale, stimolando il consumo di ossigeno e la produzione di energia nelle cellule. Favoriscono la glicogenolisi, la gluconeogenesi e la lipolisi per soddisfare le necessità energetiche dell'organismo, contribuendo al controllo dei livelli energetici e del colesterolo nel sangue.
- **Termogenesi:** favoriscono la produzione di calore corporeo attraverso l'aumento dell'attività metabolica, aiutando il mantenimento della temperatura corporea.

- **Accrescimento e sviluppo:** collaborano con l'ormone della crescita (GH) per garantire il corretto sviluppo osseo e corporeo durante l'età evolutiva.
- **Sistema nervoso centrale:** favoriscono lo sviluppo cerebrale e la maturazione del sistema nervoso, soprattutto durante la vita fetale e l'infanzia. Nell'adulto regolano attenzione, memoria, concentrazione e tono dell'umore.
- **Apparato cardiovascolare:** incrementano la frequenza cardiaca, la forza di contrazione del cuore e la gittata cardiaca, contribuendo a una maggiore circolazione del sangue e ossigenazione dei tessuti.
- **Apparato muscolo-scheletrico:** regolano il tono e l'efficienza muscolare; stimolano il turn-over osseo sia da un punto di vista catabolico che da un punto di vista della neoformazione.
- **Apparato gastrointestinale:** stimolano la motilità intestinale e la digestione, favorendo il corretto transito del contenuto intestinale, l'assorbimento del ferro e della vitamina B12.
- **Apparato riproduttivo:** contribuiscono al normale funzionamento dell'apparato sessuale e alla regolazione della fertilità sia maschile che femminile.
- **Durante la gestazione:** promuovono l'accrescimento scheletrico e l'evoluzione del SNC del feto (migrazione neuronale, formazione di sinapsi e interazioni tra i vari neuroni).

### **Indagini di laboratorio per la funzionalità tiroidea**

La valutazione della funzionalità della tiroide si basa innanzitutto su indagini di laboratorio (*Figura 2*), che rappresentano esami di prima linea fondamentali per identificare eventuali alterazioni della produzione ormonale e contribuire a definirne l'eziologia.

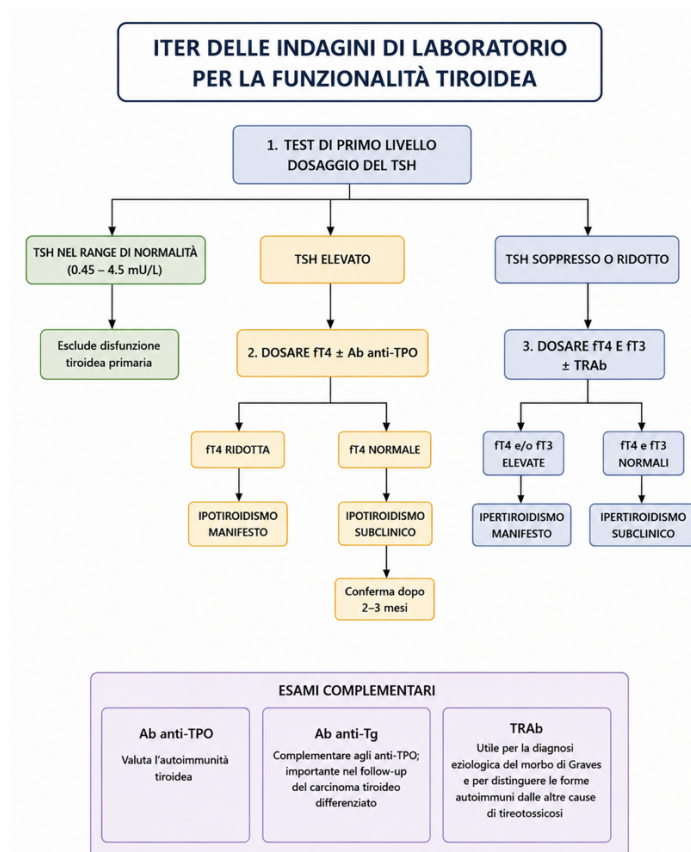


Figura 2: flowchart esami laboratoristici per la funzionalità tiroidea

Il test di primo livello è rappresentato dal dosaggio del TSH, considerato il più sensibile per lo screening delle disfunzioni tiroidee primitive. In presenza di valori di TSH compresi nell'intervallo di normalità (negli adulti 0.45-4.5 mU/L) è generalmente possibile escludere una disfunzione tiroidea primaria.

Qualora il TSH risulti elevato, lo step successivo consiste nella misurazione della fT4, eventualmente associata alla ricerca degli anticorpi anti-tireoperossidasi (Ab anti-TPO) per valutare una possibile origine autoimmune. Un aumento del TSH associato a ridotti livelli di fT4 è indicativo di ipotiroidismo manifesto, mentre la presenza di fT4 nei limiti di norma configura un quadro di ipotiroidismo subclinico, che richiede generalmente una conferma laboratoristica dopo 2–3 mesi.

Nel caso di TSH soppresso o ridotto, è indicato il dosaggio combinato di fT4 e fT3, soprattutto quando si sospetta un quadro di ipertiroidismo. La concomitante elevazione di fT4 e fT3 identifica un ipertiroidismo manifesto, mentre valori normali degli ormoni tiroidei in presenza di TSH basso definiscono un ipertiroidismo subclinico. In tale contesto, il dosaggio degli anticorpi anti-recettore del TSH (TRAb) risulta particolarmente utile per la diagnosi eziologica del morbo

di Graves e per distinguere le forme autoimmuni dalle altre cause di tireotossicosi. (13,14)

Gli anticorpi anti-tireoglobulina (Ab anti-Tg) rappresentano invece un esame complementare agli anti-TPO nella valutazione dell'autoimmunità tiroidea e assumono particolare importanza nel follow-up del carcinoma tiroideo differenziato, poiché possono interferire con il dosaggio della Tg. (15)(16)

In situazioni particolari, come il sospetto di patologia ipofisaria o di resistenza agli ormoni tiroidei, il solo TSH non è sufficiente e deve essere interpretato contestualmente ai valori di fT4, poiché possono essere presenti alterazioni centrali della regolazione endocrina. È inoltre necessario considerare alcune condizioni fisiologiche e fattori interferenti che possono modificare l'interpretazione dei risultati laboratoristici. Durante la gravidanza, ad esempio, i valori di riferimento del TSH variano in maniera trimestre-specifica (il range di normalità per una donna gravida è simile a quello dell'ipertiroidismo generale: i livelli di TSH di una donna al primo trimestre sono di 0.1-0.3 mIU/L) e gli immunodosaggi della fT4 possono risultare meno affidabili; per tale motivo è spesso preferibile il dosaggio della T4 totale. Anche l'età avanzata può influenzare i livelli di TSH, che tendono fisiologicamente ad aumentare nei soggetti anziani. Infine, sostanze come la biotina, la presenza di anticorpi eterofili o di macro-TSH possono determinare risultati falsamente alterati, rendendo necessaria una correlazione clinico-biochimica accurata. (17)

Ogni determinato soggetto presenta il proprio setpoint, tarato in condizioni di normalità su un certo livello di TSH e un certo livello di ormone tiroideo. Il setpoint corrisponde a un punto di equilibrio molto preciso caratteristico per ogni individuo, il quale può presentare dei valori ormonali che, pur rientrando nel range di valori della popolazione normale (*Tabella I*) risultano troppo alti o troppo bassi per il proprio setpoint. (6–8)

| <b>Esame</b> | <b>Valori di riferimento (adulti)</b> |
|--------------|---------------------------------------|
| TSH          | 0.45 – 4.5 mIU/L                      |
| fT4          | 11 – 22 pmol/L                        |
| fT3          | 3.5 – 6.5 pmol/L                      |

*Tabella I: valori di riferimento della funzionalità tiroidea*

## IODIO

Lo iodio è un oligoelemento essenziale presente in tracce nell'organismo umano.

Poiché l'organismo non è in grado di sintetizzarlo autonomamente, la disponibilità dello iodio dipende dalle fonti alimentari, a loro volta influenzate dal contenuto di iodio del suolo.

Dal punto di vista ambientale, lo iodio è parte integrante di un ciclo biogeochimico complesso. Esso è presente principalmente in alcuni depositi salini come iodato di sodio e negli oceani sotto forma di ioduro e iodato. Attraverso processi biologici e chimico-fisici, lo iodio può essere volatilizzato nell'atmosfera sotto forma di composti organoiodurati o iodio molecolare, per poi ritornare al suolo tramite deposizione atmosferica con le precipitazioni. I suoli, in particolare quelli lontani dalle zone costiere, tendono a essere poveri di iodio, il che si riflette nella concentrazione dell'elemento negli alimenti di origine vegetale e animale. Le aree maggiormente carenti di iodio nel mondo sono quelle montuose (come Alpi, Ande, Himalaya), continentali e aree soggette ad alluvioni ed inondazioni (Asia orientale). Tuttavia, anche il resto del mondo, comprese le aree costiere e insulari, come l'Italia, possono essere iodocarenti, poiché il ciclo naturale dello iodio può non essere sufficiente a reintegrare i suoli che ne sono poveri.

L'organismo umano contiene circa 20-50 mg di iodio, che si presenta in diverse forme chimiche: lo ioduro ( $I^-$ ), lo iodio molecolare ( $I_2$ ), il triioduro ( $I_3^-$ ), specie anioniche idratate (come  $HI_2O^-$ ) e molecole leganti lo iodio, come gli iodolipidi.

Lo iodio è prevalentemente concentrato nella tiroide (30%) e negli ormoni tiroidei (rappresenta il 65% del peso molecolare di T4 e il 59% di T3), ma si trova anche in altri tessuti, come le ghiandole salivari, la mucosa gastrica, il tessuto mammario, l'ovaio, la prostata e il pancreas. Oltre al NIS e alla pendrina, sono stati identificati infatti ulteriori trasportatori coinvolti nel metabolismo dello iodio, come il regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR), l'anocamina 1 (ANO1) e il trasportatore sodio-multivitaminico (SMVT). La presenza di questi sistemi suggerisce che lo iodio può esercitare anche effetti extratiroidici, ampliando il suo ruolo biologico oltre la sintesi degli ormoni tiroidei.

(18)

Sia la carenza che l'eccesso di iodio possono portare a una compromissione della funzione della ghiandola tiroidea e, di conseguenza, a un alterato funzionamento dell'intero organismo. Una dieta carente di iodio può causare ritardo mentale, ipotiroidismo, anomalie congenite, gozzo e alterazioni della fertilità, mentre l'eccesso di iodio può provocare ipertiroidismo indotto da iodio.

I disturbi da carenza iodica (*Iodine Deficiency Disorders*, IDD) costituiscono una delle principali cause prevenibili di disfunzione tiroidea e rappresentano tuttora un problema di sanità pubblica a livello globale. (19)

Negli ultimi anni, numerosi studi hanno evidenziato come lo iodio non sia limitato alla sola funzione tiroidea, ma svolga anche ruoli extratiroidei rilevanti. In particolare, è stato dimostrato che può agire come antiossidante, contribuendo alla neutralizzazione delle specie reattive dell'ossigeno, come modulatore del sistema immunitario e come fattore coinvolto nei processi di differenziazione cellulare in diversi tessuti. (20)

### **Fabbisogno iodico e valutazione dello status iodico della popolazione**

Il fabbisogno iodico varia in relazione all'età e alle condizioni fisiologiche dell'individuo. Nella popolazione generale adulta e nei bambini oltre i due anni, l'adequatezza iodica viene perseguita principalmente attraverso la iodoprofilassi universale mediante sale iodato.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e la National Academy of Medicine (NAM) raccomandano un'assunzione giornaliera di iodio pari a:

- 110-130 µg/die nei lattanti fino a 12 mesi;
- 90-130 µg/die nei bambini fino a 13 anni;
- 150 µg/die negli adulti e negli anziani;
- 220 µg/die nelle donne in gravidanza;
- 290 µg/die durante l'allattamento. (21)

Nelle donne in età fertile tale fabbisogno risulta particolarmente rilevante, poiché uno stato iodico subottimale può compromettere la funzione tiroidea anche in

assenza di alterazioni biochimiche evidenti. Per questo motivo, le linee guida sottolineano l'importanza di garantire un adeguato apporto di iodio già nel periodo preconcezionale, soprattutto nelle donne che intraprendono percorsi di procreazione medicalmente assistita (PMA).

Durante la gravidanza e l'allattamento, il fabbisogno aumenta significativamente a causa dell'incremento della sintesi ormonale materna, dell'aumentata escrezione renale di iodio e delle necessità fetali e neonatali. (22)

La valutazione dello status iodico della popolazione costituisce uno strumento fondamentale per monitorare l'efficacia dei programmi di iodoprofilassi e identificare eventuali gruppi a rischio. L'OMS ha individuato diversi indicatori per la valutazione dello stato iodico, tra cui la concentrazione urinaria di iodio (*Urinary Iodine Concentration*, UIC), la tireoglobulina sierica, il volume della tiroide e il TSH neonatale. (23)

L'UIC è considerata dall'OMS il principale biomarcatore dello stato iodico recente per la sorveglianza epidemiologica. Poiché oltre il 90% dello iodio introdotto viene eliminato con le urine entro 24-48 ore, la ioduria riflette in maniera affidabile l'introito iodico a breve termine. La valutazione viene effettuato mediante campioni urinari spot raccolti su ampie popolazioni, interpretando la mediana della UIC (mUIC) piuttosto che il singolo valore individuale.

Dal punto di vista metodologico, è importante sottolineare che la ioduria spot non deve essere utilizzata come test diagnostico individuale, ma esclusivamente come strumento epidemiologico di popolazione, poiché influenzata da notevoli variazioni intraindividuali giornaliere legate all'introito alimentare e alla diluizione urinaria. Per questo motivo, l'interpretazione corretta richiede campioni numerosi e analisi statistiche della distribuzione dei valori.

Secondo i criteri dell'OMS, uno stato iodico adeguato è definito da valori di mUIC:

- 100-199 µg/L nei bambini in età scolare e negli adulti;
- 150-249 µg/L nelle donne in gravidanza;
- superiori a 100 µg/L nelle donne in allattamento.

Oltre alla mUIC, vengono utilizzati ulteriori indicatori complementari per monitorare l'efficacia dei programmi di iodoprofilassi e distinguere le carenze recenti da quelle croniche.

La tireoglobulina rappresenta infatti un biomarcatore funzionale dello stato iodico nel medio-lungo termine, fornendo informazioni sull'esposizione allo iodio nel corso di mesi o anni. In presenza di un adeguato apporto iodico, i livelli sierici di tireoglobulina rimangono bassi; al contrario, aumentano sia in condizioni di carenza iodica sia in caso di eccessivo introito.

Storicamente, anche la prevalenza del gozzo è stata utilizzata come indicatore epidemiologico di carenza iodica cronica. Il gozzo deriva dalla stimolazione compensatoria della ghiandola tiroidea mediata dal TSH in risposta a un insufficiente apporto di iodio.

Attualmente, la valutazione ecografica del volume tiroideo ha progressivamente sostituito la palpazione clinica, offrendo maggiore sensibilità e accuratezza diagnostica. Anche il dosaggio del TSH neonatale viene utilizzato in alcuni programmi di screening come indicatore indiretto dello stato iodico materno durante la gravidanza.

L'assessment dello stato iodico comprende anche la valutazione delle abitudini alimentari della popolazione mediante questionari di frequenza alimentare e diari alimentari, strumenti utili per stimare il consumo di alimenti ricchi di iodio e l'utilizzo di sale iodato. Tali indagini risultano particolarmente importanti per identificare gruppi vulnerabili, quali donne in gravidanza, soggetti che seguono diete restrittive o vegane e individui con basso consumo di prodotti ittici e lattiero-caseari. (24)

### **Disturbi da apporto inadeguato**

La tiroide è dotata di efficaci meccanismi di autoregolazione che consentono di mantenere una produzione adeguata di ormoni tiroidei nonostante ampie variazioni dell'apporto iodico. Sebbene esista un intervallo di tolleranza entro il quale le fluttuazioni dell'apporto iodico non determinano alterazioni funzionali significative, condizioni di carenza o eccesso persistenti possono compromettere l'omeostasi tiroidea e favorire l'insorgenza di patologie. Questa associazione tra

introito iodico e malattie tiroidee è descritta da una relazione a “U”: il rischio minimo si osserva in corrispondenza di un apporto ottimale. (25)

### **Disturbi da difetto di iodio (IDD)**

La fisiopatologia dei disordini correlati a un apporto inadeguato di iodio si inserisce in modo diretto nella regolazione dell’asse ipotalamo–ipofisi–tiroide e presenta implicazioni particolarmente rilevanti nelle donne in età fertile.

La carenza nutrizionale di iodio costituisce uno dei più gravi problemi di salute pubblica secondo le stime dell’OMS. Per il ruolo svolto dagli ormoni tiroidei, gli effetti della carenza di iodio possono interessare tutte le fasi della vita, anche se gravidanza e prima infanzia rappresentano le fasi in cui gli effetti possono essere più gravi.

La gravità della carenza iodica viene generalmente definita sulla base della UIC. Secondo la World Health Organization (WHO), valori  $\geq 100 \mu\text{g/L}$  indicano un apporto adeguato nella popolazione generale, mentre livelli inferiori riflettono diversi gradi di deficit.

Una carenza lieve (UIC  $50\text{--}99 \mu\text{g/L}$ ) è spesso subclinica, ma può associarsi a un modesto aumento del TSH e a un’iniziale ipertrofia tiroidea, con possibili effetti sottili sulla funzione cognitiva e riproduttiva. Un deficit subclinico di iodio in età adulta è responsabile anche di sintomi come stanchezza cronica, calvizie precoce ed astenia.

La carenza moderata (UIC  $20\text{--}49 \mu\text{g/L}$ ) comporta una più marcata riduzione della sintesi di T3 e T4, con incremento del TSH, sviluppo di gozzo evidente e comparsa di ipotiroidismo subclinico o manifesto; in ambito riproduttivo può determinare cicli anovulatori e ridotta fertilità.

La carenza severa (UIC  $<20 \mu\text{g/L}$ ) provoca un’insufficiente produzione di ormoni tiroidei con ipotiroidismo franco, gozzo endemico e, nei casi più gravi, compromissione dello sviluppo neurologico; nelle donne in età fertile è associata a elevato rischio di infertilità, aborto spontaneo e complicanze ostetriche. (26)

La carenza grave di iodio ha diversi effetti negativi in termini di crescita e di sviluppo. Questa situazione estrema può condurre a una produzione insufficiente di ormoni tiroidei che, durante la gravidanza e la prima infanzia, può causare gravi conseguenze quali abortività e cretinismo (ritardo mentale, distensione addominale,

pelle secca e facies tipica con edema periorbitale e macroglossia). Nei bambini, l'ipotiroidismo può manifestarsi con bassa statura, ritardo della maturazione sessuale e della pubertà, difficoltà nell'apprendimento, apatia e letargia.

Questa condizione si associa spesso al gozzo, un tentativo di adattamento fisiologico della tiroide che, aumentando di dimensione, cerca di captare più iodio dal sangue. Una carenza cronica e severa determina inoltre un aumento del rischio di cancro follicolare alla tiroide.

A livello molecolare, la diminuzione degli ormoni tiroidei altera l'espressione genica coinvolta nel metabolismo energetico, nella maturazione follicolare e nella funzione ovarica. Nelle donne, ciò può tradursi in disfunzioni ovulatorie, irregolarità mestruali e riduzione della qualità ovocitaria, contribuendo a quadri di infertilità. Inoltre, condizioni di ipotiroidismo, anche subclinico, sono associate a un aumentato rischio di aborto spontaneo e a esiti sfavorevoli della gravidanza. (27)

### **Disturbi da eccesso iodico**

L'eccesso di iodio rappresenta una condizione meno frequente rispetto alla carenza, ma clinicamente rilevante per le sue potenziali ripercussioni sulla funzione tiroidea e sull'equilibrio endocrino generale. Può essere conseguenza di un'elevata introduzione alimentare di iodio (come nel caso di un consumo eccessivo di alghe), dell'assunzione di integratori iodici oppure dell'esposizione a farmaci o mezzi di contrasto iodati.

La ghiandola tiroidea possiede meccanismi regolatori intrinseci protettivi qualora ci sia un eccesso iodico. Attraverso il cosiddetto effetto di *Wolff-Chaikoff*, un meccanismo autoregolatorio che riduce l'organificazione dello iodio all'interno della tiroide riducendo l'attività della tireoperossidasi (TPO), induce una temporanea inibizione della sintesi degli ormoni tiroidei.

In condizioni normali, questo blocco è transitorio ed è seguito da un *escape* che ristabilisce la produzione ormonale.

Il mancato *escape* può determinare uno stato di ipotiroidismo iodio-indotto, transitorio o permanente in individui suscettibili (ad esempio con patologie tiroidee preesistenti o autoimmunità). Poiché lo iodio viene eliminato principalmente per via renale, anche i pazienti con insufficienza renale presentano un rischio aumentato di ipotiroidismo indotto da mezzi di contrasto iodati. (28)

Un eccesso di iodio può determinare tuttavia anche uno stato di ipertiroidismo iodio-indotto con aumento della produzione di T3 e T4 indipendente dal controllo del TSH, detto fenomeno di *Jod-Basedow*. Esso rappresenta un fallimento del normale effetto di *Wolff-Chaikoff* e si verifica con una produzione e liberazione eccessiva di ormoni tiroidei, spesso dovuta all'attivazione di noduli tiroidei autonomi improvvisamente esposti a elevate quantità di iodio. Questa condizione è più frequente nei soggetti con gozzo nodulare non tossico o con noduli tiroidei autonomi, ma può manifestarsi anche in individui con malattia di *Graves* eutiroidea, in particolare dopo trattamento con farmaci antitiroidei, e in popolazioni residenti in aree a lungo carenti di iodio esposte a un improvviso incremento dell'apporto iodico. (18)

Gli effetti sistemici dell'eccesso iodico riflettono dunque uno spettro variabile di alterazioni tiroidee. L'ipotiroidismo si manifesta con rallentamento del metabolismo, affaticamento, aumento di peso e alterazioni del ciclo mestruale, mentre l'ipertiroidismo può causare perdita di peso, tachicardia, nervosismo e irregolarità mestruali. Inoltre, un apporto eccessivo di iodio è associato a un aumento del rischio di tiroiditi autoimmuni, verosimilmente per un effetto di stimolo antigenico sulla tireoglobulina. (29)

### **Abitudini alimentari**

Le abitudini alimentari rappresentano un determinante fondamentale dello stato nutrizionale di iodio nella popolazione, in quanto l'apporto di questo micronutriente dipende quasi esclusivamente dalle scelte dietetiche e dalla disponibilità di alimenti iodati.

A differenza di altri nutrienti, lo iodio non è distribuito in modo uniforme negli alimenti e nel territorio: la sua presenza varia significativamente in funzione delle caratteristiche geografiche del suolo e delle pratiche di produzione e trasformazione degli alimenti.

La correlazione tra abitudini alimentari e livelli di iodio è complicata da variabili legate allo stile di vita e a parametri fisiologici, quali età, stato di gravidanza, indice di massa corporea (BMI) e fumo. L'obesità, spesso associata a una dieta di scarsa qualità nutrizionale, sembra influenzare negativamente l'omeostasi tiroidea, sebbene i meccanismi di questa interazione siano ancora oggetto di studio (30).

Parallelamente, il fumo di sigaretta agisce come un potente antagonista nutrizionale; il tiocianato, un sottoprodotto del fumo, compete con lo iodio per l'ingresso nella ghiandola tiroidea, annullando di fatto i benefici di una dieta potenzialmente corretta. Questa dinamica sottolinea che la semplice ingestione di iodio non garantisce necessariamente il suo utilizzo biologico se il contesto metabolico e le abitudini del soggetto sono sfavorevoli. (31)

Un ulteriore elemento di complessità è rappresentato dalle differenze sociodemografiche e culturali che influenzano le scelte alimentari, determinando variazioni nell'assunzione di iodio tra diversi gruppi di popolazione. I cambiamenti nei modelli alimentari osservati negli ultimi decenni, caratterizzati da una crescente diffusione di alimenti trasformati, da modifiche nelle abitudini di consumo domestico e da una maggiore attenzione alla riduzione dell'apporto di sale, hanno avuto un impatto rilevante sull'assunzione di iodio. (4)

Per i motivi citati, l'analisi delle abitudini alimentari correlate al consumo di iodio assume un ruolo centrale per comprendere i determinanti dell'apporto iodico e per orientare interventi di prevenzione efficaci.

Studi condotti sulla popolazione adulta italiana hanno permesso di quantificare il contributo relativo delle diverse fonti alimentari, stimando che circa il 57% dell'introito totale derivi dagli alimenti, mentre il restante 43% sia fornito dal sale iodato. All'interno della quota alimentare, i principali vettori sono rappresentati da latte e derivati caseari (22-29%), seguiti da prodotti ittici (20-22%), carne, uova e, in misura minore, da alcuni alimenti di origine vegetale (*Tabella II*). Tuttavia, il contenuto iodico degli alimenti può variare significativamente in base alla concentrazione di iodio nel suolo, all'alimentazione degli animali e ai processi di lavorazione. (32,33)

La letteratura scientifica recente ha ampiamente documentato come la scelta di un modello alimentare influenzi in modo determinante lo stato iodico di un individuo. Sebbene la iodoprofilassi universale basata sul sale iodato rimanga il pilastro della prevenzione, l'apporto derivante dagli alimenti naturali gioca un ruolo discriminante nel determinare l'adeguatezza nutrizionale, creando una gerarchia di rischio tra i diversi regimi dietetici.

Nella dieta onnivora, la stabilità dei livelli di ioduria è garantita dalla varietà delle fonti. Il pesce e i frutti di mare rappresentano i serbatoi naturali più ricchi di iodio e con la biodisponibilità più elevata (110-250 µg/100g), svolgendo un ruolo insostituibile nel mantenimento dell'eutirodismo, grazie alla capacità intrinseca di bioaccumulare lo iodio presente nell'ambiente marino, dove l'elemento si trova in concentrazioni significativamente superiori rispetto ai suoli terrestri.

Tuttavia, l'apporto derivante dal comparto ittico è caratterizzato da un'elevata variabilità che dipende strettamente dalla specie, dall'habitat e dalle modalità di preparazione alimentare. I pesci di mare, in particolare le specie magre, presentano livelli sensibilmente più alti di iodio rispetto ai pesci d'acqua dolce o alle specie grasse. Un ulteriore fattore di distinzione risiede nell'origine del prodotto: studi comparativi indicano che il pesce selvaggio tende a possedere concentrazioni iodiche superiori rispetto alle varietà di allevamento (acquacoltura), a causa delle differenze nella dieta naturale e nella composizione dei mangimi.

Le abitudini alimentari contemporanee mostrano una correlazione diretta tra la frequenza di consumo ittico e la stabilità della funzione tiroidea, specialmente nelle donne in età fertile. È stato dimostrato che una dieta che include almeno due o tre porzioni di pesce a settimana contribuisce in modo determinante al raggiungimento del fabbisogno giornaliero raccomandato di iodio per l'adulto. La letteratura evidenzia come l'inclusione sistematica di prodotti ittici nella dieta quotidiana sia correlata a livelli di ioduria ottimali, fungendo da protezione contro gli IDD. (4,33,34)

La carne contribuisce all'apporto totale di iodio, pur rappresentando una fonte secondaria, grazie all'utilizzo di mangimi iodati negli allevamenti.

Questo trasferimento "passivo" di iodio attraverso la catena alimentare garantisce alla popolazione con dieta onnivora una rete di sicurezza nutrizionale, che mantiene un apporto iodico medio giornaliero di circa 200 µg/die (con un range stimato tra 204 e 217 µg/die). (4,24,32,35)

Il passaggio a una dieta vegetariana sposta l'intero carico dell'apporto iodico alimentare non discrezionale sui prodotti lattiero-caseari e sulle uova. In questo contesto, il latte vaccino e i suoi derivati diventano i principali determinanti dello stato iodico, il cui valore medio scende a 164 ( $\pm$  68) µg/die. Come evidenziato da diversi studi epidemiologici, i vegetariani che mantengono un elevato consumo di

latte e yogurt (che forniscono mediamente 20-45 µg/100g) riescono a mantenere livelli di ioduria entro i limiti della sufficienza. Tuttavia, circa il 44% dei vegetariani non riesce a raggiungere la soglia minima raccomandata di 150 µg/die. (35)

Il latte non è una fonte intrinsecamente stabile di iodio, ma agisce come un "vettore", la cui concentrazione dipende da un complesso processo che va dall'alimentazione dell'animale fino al consumo del prodotto finito (approccio *feed-to-fork*).

La trasformazione del latte in derivati come formaggio e burro, durante il processo di caseificazione, modifica ulteriormente la concentrazione dell'elemento, che viene perso nel siero di latte, rendendo i formaggi meno densi di iodio rispetto al latte liquido di partenza. Lo yogurt, invece, mantiene generalmente concentrazioni simili a quelle del latte crudo, rendendolo un'ottima alternativa per l'integrazione dietetica. (36)

Numerosi studi hanno dimostrato che nei paesi occidentali i prodotti lattiero-caseari costituiscono una delle più importanti fonti alimentari di iodio, anche più rilevanti rispetto ai prodotti ittici, poiché consumati con maggiore frequenza all'interno della dieta quotidiana.

Tuttavia, negli ultimi anni è emersa una crescente attenzione nei confronti del possibile aumento del rischio di insufficiente apporto correlato alla diffusione delle bevande vegetali alternative al latte vaccino. Tali prodotti, se non fortificati, contengono quantità di iodio notevolmente inferiori, talvolta pari a meno del 2% del contenuto iodico del latte animale. La progressiva diffusione di questi sostituti potrebbe quindi rappresentare un ulteriore fattore di rischio per lo sviluppo di carenza. (37)

Le uova rappresentano una fonte di iodio significativa e costante, classificandosi subito dopo i prodotti ittici e i latticini per importanza nutrizionale. Il contenuto di un uovo intero oscilla mediamente tra 25 e 35 µg/100g, il che significa che il consumo di un singolo uovo di grandi dimensioni può coprire circa il 10-15% del fabbisogno giornaliero di un adulto.

La popolazione vegana rappresenta il gruppo a più alto rischio di carenza iodica cronica. I vegani dipendono quasi esclusivamente dallo iodio presente nei vegetali, il cui contenuto è però estremamente variabile e strettamente legato alla concentrazione di iodio nel suolo, generalmente insufficiente a coprire il

fabbisogno. In questa categoria, l'introito iodico medio crolla a  $93 (\pm 45) \mu\text{g}/\text{die}$ , con una percentuale allarmante del 92% dei soggetti che non soddisfa i requisiti minimi per una corretta funzione tiroidea.

L'intake iodico può essere supportato soprattutto dal consumo di alghe marine (nori, wakame e kombu), che rappresentano le principali fonti vegetali di iodio.

Un fattore critico emergente nel settore dei "food veg" è la mancanza di fortificazione sistematica. Mentre le bevande vegetali (soia, avena, mandorla) e le alternative alla carne (*plant-based meat*) sono spesso arricchite con calcio, vitamina D e B12, raramente contengono iodio aggiunto. (35,38,39)

Inoltre, l'elevato consumo di alimenti gozzigeni può interferire ulteriormente con l'assorbimento dello iodio a livello tiroideo, esacerbando una carenza già latente. Le sostanze gozzigene (o goitrogene) sono composti naturali che interferiscono con la produzione di ormoni tiroidei, inibendo l'assorbimento dello iodio. Hanno azione gozzigena: verdure crucifere (cavoli, broccoli, rape, rucola), soia, miglio, alcune radici (manioca, tapioca, rafano), condimenti come senape e wasabi e oli vegetali quali l'olio di colza. Questi alimenti sono ampiamente consumati in Europa, Asia e Nord America e rappresentano una ricca fonte di composti solforati, in particolare glucosinolati (GLS). Quest'ultimi e i loro derivati, come isotiocianati (ITC) e tiocianati, possono interferire con la funzione tiroidea attraverso l'inibizione del NIS e dell'enzima TPO, determinando possibili alterazioni della captazione iodica, della morfologia ghiandolare e dei livelli ormonali. (40)

| Alimento              | Contenuto medio di Iodio ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) |
|-----------------------|--------------------------------------------------------|
| Pesce di mare         | 110 - 250                                              |
| Crostacei e molluschi | 90 - 160                                               |
| Latte vaccino         | 20 - 45                                                |
| Yogurt                | 25 - 40                                                |
| Uova (intere)         | 25 - 35                                                |
| Formaggi stagionati   | 15 - 35                                                |
| Carne (rossa/bianca)  | 5 - 15                                                 |
| Vegetali e Frutta     | 1 - 10                                                 |

Tabella II: contenuto iodico medio ( $\mu\text{g}$ ) in 100g di prodotto

In relazione alle abitudini alimentari che concorrono a determinare l'intake iodico, emerge il ruolo del sale iodato quale principale strumento di sanità pubblica per il raggiungimento di un adeguato apporto di iodio nella popolazione.

Il sale arricchito di iodio fornisce 30 µg/g in aggiunta a quello già fornito con la dieta, una quantità che, in base alle nostre abitudini alimentari, contribuisce al 40-50% del fabbisogno giornaliero.

Il sale è considerato un veicolo appropriato per la fortificazione dello iodio per le seguenti ragioni:

- la sua capillarità di diffusione lo rende ampiamente consumato da quasi tutti i gruppi di popolazione in tutti i Paesi, con scarse variazioni stagionali nel consumo;
- l'assunzione di sale è proporzionale all'apporto energetico e ai fabbisogni energetici;
- in molti Paesi, la produzione di sale è concentrata in pochi centri, il che facilita il controllo della qualità;
- la tecnologia necessaria per la iodazione del sale è ben consolidata, economica e relativamente facile da trasferire nei diversi contesti a livello globale;
- l'aggiunta di iodato o ioduro al sale non ne altera il gusto né l'odore, né modifica le caratteristiche organolettiche degli alimenti che lo contengono, garantendo un'elevata accettabilità da parte dei consumatori. Inoltre, lo iodio, principalmente sotto forma di iodato, si mantiene negli alimenti trasformati (dadi da brodo, condimenti), che contengono il sale come ingrediente principale, rendendo tali prodotti ulteriori fonti di iodio;
- la concentrazione di iodio nel sale può essere facilmente modulata per adeguarsi a misure di prevenzione finalizzate alla riduzione del consumo di sale. L'obiettivo fissato dall'OMS di ridurre l'introito di sale al di sotto dei 5 g/die non è in conflitto con la fortificazione: è tuttavia necessario un monitoraggio costante dei livelli di sodio e iodio a livello nazionale per calibrare le concentrazioni di fortificante. Tale monitoraggio permette di garantire un apporto iodico sufficiente anche nelle fasce di popolazione con i consumi di sale più bassi. (41)

Nonostante l'efficacia, i dati epidemiologici evidenziano alcune criticità.

1. I livelli di adeguatezza di iodio fissati dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) sono raggiunti più frequentemente dagli uomini rispetto alle donne, principalmente a causa di un maggiore consumo totale di cibo e sale.
2. Il sale iodato rappresenta solo il 24% del consumo totale di sale (incluso sia il sale discrezionale aggiunto a tavola che quello non discrezionale presente nei cibi processati). Questo suggerisce una persistente sottoutilizzazione della fortificazione.
3. I soggetti che aderiscono alla raccomandazione di consumare meno di 5 g di sale al giorno spesso non riescono a raggiungere l'apporto iodico ottimale se non integrano la dieta con fonti alimentari particolarmente ricche o se il sale utilizzato non è adeguatamente fortificato.

In aggiunta alle fonti alimentari e alla fortificazione del sale, un ulteriore contributo all'apporto iodico può derivare dall'impiego di integratori alimentari. Secondo la normativa vigente, gli integratori sono definiti come prodotti destinati a integrare la dieta, costituiti da fonti concentrate di nutrienti, tra cui vitamine e minerali, presentati in forme predosate. Nel contesto italiano, gli integratori contenenti iodio possono fornire quantità variabili comprese tra il 15% e il 150% della dose giornaliera raccomandata, corrispondenti per l'adulto a un intervallo indicativo di circa 22,5–225 µg/die. L'utilizzo di tali prodotti risulta particolarmente rilevante in condizioni di aumentato fabbisogno, come la gravidanza e l'allattamento. (27)(37)

## **Iodoprofilassi**

La prevenzione dei IDD si basa sulla correzione del deficit nutrizionale di iodio. La strategia raccomandata dall'OMS, Iodine Global Network e UNICEF è centrata sulla fortificazione universale del sale alimentare. Secondo le attuali linee guida, tutto il sale destinato al consumo domestico e alla trasformazione industriale dovrebbe essere addizionato a iodio, rappresentando una strategia sicura ed efficace sia in contesti di stabilità che in situazioni di emergenza. Grazie a queste politiche, oggi circa il 70% delle famiglie in oltre 120 paesi ha accesso al sale iodato, un progresso enorme rispetto al 1990, quando tale quota era inferiore al 10%.

In Italia, il programma di iodoprofilassi su base volontaria è stato introdotto nel 2005 con l'approvazione della Legge n. 55 *“Disposizioni finalizzate alla prevenzione del gozzo endemico e di altre patologie da carenza iodica”*, che definisce le modalità di utilizzo e di vendita del sale iodato destinato al consumo diretto oppure impiegato nella preparazione e conservazione dei prodotti alimentari. La legge prevede la disponibilità obbligatoria del sale iodato in tutti i punti vendita e la possibilità del suo utilizzo nella ristorazione e nell'industria alimentare.

Al fine di verificare l'efficienza e l'efficacia del programma di iodoprofilassi e al fine di fornire informazioni utili per eventuali azioni correttive, nel periodo 2007–2012 è stata condotta dall'Osservatorio Nazionale per il Monitoraggio della Iodoprofilassi in Italia (OSNAMI) presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) una prima sorveglianza che aveva confermato il persistere di iodocarenza su gran parte del territorio nazionale.

I risultati avevano chiaramente mostrato che uno dei principali fattori che aveva rallentato il successo della iodoprofilassi era il persistere di ingiustificate resistenze nel raccomandare il sale iodato a tutta la popolazione. Per superare tale ostacolo, la Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione (DGISAN) e l'ISS attraverso l'OSNAMI hanno deciso di intensificare le campagne informative per la promozione del programma di iodoprofilassi. A tal fine, il 6 aprile 2017 è stato siglato un documento di consenso nel raccomandare l'utilizzo del sale iodato in età adulta e in età pediatrica, dichiarando che tutti possono usare il sale iodato, anche soggetti affetti da patologie tiroidee. In condizioni fisiologiche la tiroide è in grado di tollerare fino a 1mg (1000 µg) di iodio al giorno senza che si verifichino effetti avversi, in quanto l'eccesso di iodio viene escreto con le urine; persone con patologie tiroidee su base autoimmune possono tollerare quantità lievemente inferiori di iodio. Nonostante questa minore tolleranza, il rischio di eccesso di iodio è praticamente inesistente in quanto il consumo di sale iodato raramente aggiunge più di 300 µg di iodio alla dieta giornaliera. (42–44)

Nel periodo 2015–2019, l'OSNAMI ha condotto una seconda sorveglianza nazionale con l'obiettivo di valutare lo stato nutrizionale iodico della popolazione italiana.

In primo luogo, è stata valutata la validità della iodoprofilassi, rispettivamente attraverso l'analisi dei dati di consumo di sale iodato e attraverso la valutazione della riduzione della frequenza delle patologie connesse alla carenza nutrizionale di iodio nella popolazione. I dati hanno mostrato un progressivo aumento dell'utilizzo di sale iodato con una percentuale del 54% nel 2015 e del 71% nel quadriennio 2016–2019.

In secondo luogo, si sono valutati eventuali effetti avversi del programma di iodoprofilassi, quali l'aumento dell'incidenza di ipertiroidismo e dell'autoimmunità tiroidea.

Oltre all'attività di monitoraggio, ulteriore compito dell'OSNAMI è quello di promuovere la iodoprofilassi attraverso attività di formazione e informazione della popolazione. Con lo scopo di incrementare l'informazione su questo importante tema di salute pubblica, per il triennio 2016–2019 è stato siglato un Protocollo di Intesa, che ha previsto il progetto formativo *“Progetto iodoprofilassi nelle scuole”* con l'obiettivo di consentire la formazione degli insegnanti sul tema della prevenzione dei disordini da carenza iodica, affinché formassero i loro studenti e questi, a loro volta, trasferissero le informazioni alle loro famiglie. (42,45)

## INFERTILITA' FEMMINILE

L'infertilità rappresenta una condizione clinica e sociale di crescente rilevanza, riconosciuta dal WHO come una vera e propria condizione patologica dell'apparato riproduttivo, che può interessare sia il sesso femminile sia quello maschile.

Secondo l'ultima definizione dell'OMS, l'infertilità è definita *“malattia dell'apparato riproduttivo caratterizzata dall'incapacità di ottenere una gravidanza clinica dopo 12 mesi o più di rapporti sessuali regolari e non protetti”*.

Dopo 12 cicli senza gravidanza, il 10% delle coppie è considerato infertile, ma oltre il 50% può comunque ottenere una gravidanza entro i successivi 36 mesi. Dopo 48 mesi, la probabilità di gravidanza spontanea è quasi nulla.

L'infertilità può essere suddivisa in primaria e secondaria. Si parla di infertilità primaria quando la donna non ha mai ottenuto una gravidanza clinicamente documentata, pur soddisfacendo i criteri temporali per la diagnosi. L'infertilità secondaria, invece, si riferisce all'impossibilità di ottenere una nuova gravidanza dopo che una gravidanza clinica è già stata diagnosticata in precedenza. La stessa classificazione può essere applicata anche al partner maschile in relazione al suo contributo al concepimento. (46)

È importante distinguere il concetto di infertilità da quello di sterilità. Mentre l'infertilità indica una ridotta capacità riproduttiva, che può comunque consentire il concepimento spontaneo o tramite trattamenti medici, la sterilità si riferisce invece all'impossibilità assoluta e irreversibile di concepire. Questa distinzione risulta fondamentale sia dal punto di vista clinico sia nell'ambito dell'approccio diagnostico-terapeutico, poiché orienta il percorso clinico della coppia ed eventuali strategie di procreazione medicalmente assistita.

A livello globale, si stima che l'infertilità interessi tra l'8% e il 12% delle coppie in età riproduttiva, con l'incidenza in aumento soprattutto nei paesi occidentali a causa di fattori di rischio quali età materna avanzata, obesità, inquinamento, alimentazione scorretta, malattie sessualmente trasmesse (*Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*) e diminuita qualità dell'eiaculato (oligoteratoastenozoospermia) rispetto al passato. (47)

## **Eziologia dell'infertilità**

L'infertilità è una condizione multifattoriale nella quale possono coesistere alterazioni femminili, maschili o miste.

I principali determinanti di mancato concepimento sono:

### **1. Età della partner femminile**

La fertilità femminile inizia a declinare già tra i 25 e i 30 anni, con una marcata riduzione dopo i 35 anni. La probabilità di concepimento diminuisce progressivamente: il tasso di perdita della fertilità è del 4,5% a 25 anni, 7% a 30 anni, 12% a 35 anni, e 50% a 41 anni, arrivando a quasi il 100% a 50 anni. Tale declino è legato alla riduzione quantitativa e qualitativa del patrimonio follicolare, a disfunzioni ovulatorie e alterazioni della fase luteale, con conseguente riduzione della fertilità spontanea e della risposta alla stimolazione ovarica. (48)

### **2. Patologie correlate alla funzione riproduttiva femminile**

Le cause femminili di infertilità rappresentano circa il 35–40% dei casi e possono interessare differenti livelli dell'apparato riproduttivo, classificandosi in cause endocrine, tubaro-pelviche, uterine, cervicali e vaginale.

Le più frequenti (40%) sono le endocrine, che indicano un malfunzionamento a livello ovulatorio, con alterazioni nella maturazione follicolare e nel rilascio dell'ovocita. In tale categoria rientrano condizioni endocrine ovariche ed extraovariche, quali la Sindrome Ovarica Poliendocrino-Metabolica (PMOS), la policisti ovarica, l'iperprolattinemia, le disfunzioni tiroidee e l'insufficienza ovarica prematura (POI). Quest'ultima è caratterizzata dalla cessazione delle mestruazioni prima dei 40 anni e può essere causata da fattori genetici (come la sindrome di Turner), autoimmuni o iatrogeni (come farmaci, chirurgia, radiazioni).

Le cause tubarico-pelviche (30-35%) comportano alterazioni strutturali o funzionali delle tube di Falloppio, principalmente conseguenza di infezioni pelviche (PID), malattie sessualmente trasmissibili, precedenti interventi chirurgici o patologie infiammatorie. L'endometriosi, patologia infiammatoria cronica caratterizzata dalla presenza di tessuto endometriale

ectopico, può compromettere la fertilità attraverso alterazioni anatomiche pelviche e delle tube, processi infiammatori cronici e riduzione della qualità ovocitaria.

Anche le anomalie uterine (10%), come fibromi uterini, polipi endometriali, sinechie uterine e malformazioni congenite, possono alterare la recettività endometriale e ridurre le probabilità di concepimento.

Infine, ci sono le cause vaginali e cervicali che comprendono condizioni che ostacolano il passaggio degli spermatozoi attraverso il tratto genitale inferiore o compromettono l'ambiente necessario alla fecondazione. Le cause vaginali includono malformazioni congenite, setti vaginali, vaginismo, stenosi o alterazioni infiammatorie e infettive che rendono difficoltoso il rapporto sessuale o riducono la sopravvivenza degli spermatozoi. Le cause cervicali riguardano invece alterazioni della cervice uterina e del muco cervicale, come stenosi del canale cervicale, esiti cicatriziali da interventi chirurgici o infezioni, insufficiente produzione di muco periovulatorio e modificazioni qualitative del muco che impediscono la progressione degli spermatozoi. (47)

### **3. Patologie correlate alla funzione riproduttiva maschile**

Tra le cause di infertilità maschile (35%) risultano rilevanti il varicocele, le infezioni genitali, le alterazioni ormonali e le anomalie genetiche che influenzano la spermatogenesi.

L'infertilità maschile può dipendere da cause congenite o acquisite, classificate anche in base alla sede fisiopatologica del danno.

Le forme pre-testicolari comprendono alterazioni endocrine dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, come l'ipogonadismo ipogonadotropo, congenite oppure secondarie a tumori, traumi o farmaci.

Le cause testicolari derivano invece da un danno diretto del testicolo e includono anomalie genetiche congenite (ad esempio sindrome di Klinefelter o criptorchidismo) e condizioni acquisite come varicocele, orchiti, torsione testicolare, esposizione a tossici, chemioterapia o radioterapia.

Le forme post-testicolari riguardano infine alterazioni del trasporto degli spermatozoi, dovute a ostruzioni congenite dei dotti deferenti oppure a infezioni, interventi chirurgici o eiaculazione retrograda.

Anche fattori immunologici, metabolici e ambientali possono alterare la qualità seminale (in termini di concentrazione, motilità e morfologia degli spermatozoi). (49)

#### 4. **Fattori legati allo stile di vita**

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

#### 5. **Malattie sistemiche, genetiche e infettive**

Tra le patologie sistemiche e metaboliche ci sono diabete mellito, obesità, insufficienza renale o epatica cronica e malattie tiroidee che interferiscono con la produzione di gameti e con i meccanismi endocrini della riproduzione.

Le cause genetiche comprendono anomalie cromosomiche e mutazioni responsabili di disfunzioni gonadiche, come la sindrome di Klinefelter nell'uomo e la sindrome di Turner nella donna e le mutazioni del gene CFTR associate alla fibrosi cistica, che possono determinare agenesia congenita dei dotti deferenti e influire sulla fertilità femminile tramite la produzione di muco cervicale denso.

Le infezioni dell'apparato genito-urinario, come orchiti, epididimiti, prostatiti e malattia infiammatoria pelvica, possono causare danni ai tessuti riproduttivi e ostruzioni delle vie genitali.

Anche malattie autoimmuni e stati infiammatori cronici contribuiscono all'infertilità attraverso meccanismi immunologici, infiammatori e ossidativi che compromettono la qualità dei gameti e l'impianto embrionale.

In circa il 10–20% delle coppie infertili non è possibile identificare una causa precisa nonostante approfondite indagini diagnostiche. In questi casi si parla di infertilità idiopatica o inspiegata. Tale condizione rappresenta una delle principali sfide cliniche in medicina della riproduzione, poiché potrebbe dipendere da alterazioni subcliniche non rilevabili con gli strumenti diagnostici convenzionali. (46) (50)

## **Valutazione diagnostica della coppia infertile**

La valutazione diagnostica della coppia infertile richiede un approccio multidisciplinare e sistematico finalizzato all'identificazione dei fattori responsabili dell'infertilità. Le linee guida internazionali raccomandano di iniziare il percorso diagnostico dopo 12 mesi di rapporti sessuali regolari e non protetti in assenza di concepimento, oppure dopo 6 mesi nelle donne di età superiore ai 35 anni. L'iter diagnostico deve coinvolgere simultaneamente entrambi i partner, considerando la frequente multifattorialità della condizione infertile.

Nell'uomo devono essere valutati precedenti infezioni urogenitali, traumi testicolari, criptorchidismo o esposizione a sostanze tossiche. L'esame cardine nella valutazione del partner maschile è lo spermioγραμμα, eseguito secondo i criteri definiti dall'WHO. Tale esame analizza il volume dell'eiaculato, la concentrazione spermatica, la motilità e la morfologia degli spermatozoi. In presenza di alterazioni seminali possono essere richiesti approfondimenti diagnostici quali dosaggi ormonali, ecografia testicolare, spermiocoltura o test di frammentazione del DNA spermatico. (51)

Nella valutazione diagnostica della donna, le linee guida WHO 2025 (52) raccomandano che l'iter diagnostico includa:

- Anamnesi medica e valutazione clinica-riproduttiva: risultano rilevanti informazioni relative all'anamnesi mestruale (dismenorrea), alla storia riproduttiva (parità, aborti, procedure uterine) e a fattori di rischio (PID, endometriosi, gravidanza ectopica).
- Valutazione della funzionalità ovulatoria attraverso il dosaggio del progesterone nella fase luteale e del profilo ormonale (FSH, LH, TSH, estradiolo, prolattina) in fase follicolare precoce.
- Valutazione della riserva ovarica. I fattori predittori maggiori sono l'età della donna, il dosaggio sierico dell'ormone Anti-Mulleriano (AMH) e la conta dei follicoli antrali (AFC) attraverso monitoraggio ecografico follicolare transvaginale.
- Valutazione della pervietà tubarica attraverso l'isterosalpingografia (HSG).
- Valutazione della cavità uterina con ecografia 2D o 3D fino a isteroscopia.

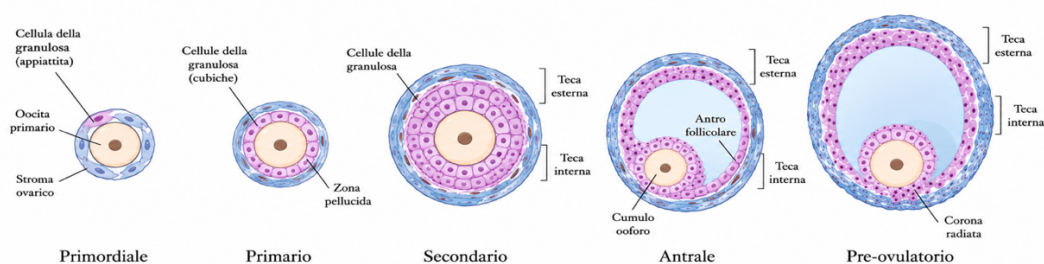
## Riserva ovarica

L'unità funzionale dell'ovaio è rappresentata dal follicolo ovarico, costituito da un ovocita circondato da cellule della granulosa. Durante il suo sviluppo (*Figura 3*), il follicolo attraversa quattro principali stadi maturativi: primordiale, primario, secondario e terziario (antrale).

La riserva ovarica corrisponde al numero di follicoli primordiali presenti alla nascita, che va incontro a un fisiologico declino con l'età. Questi follicoli, di dimensioni inferiori a 0,05 mm, non sono rilevabili tramite ecografia transvaginale. I follicoli primordiali, in stato di quiescenza, sono formati da un ovocita circondato da un singolo strato di cellule piatte della granulosa. Il loro passaggio allo stadio successivo dipende da un delicato equilibrio tra segnali di crescita e meccanismi apoptotici.

Con l'attivazione, si formano i follicoli primari: le cellule della granulosa iniziano a proliferare diventando cubiche e si sviluppa la zona pellucida, una membrana glicoproteica che isola l'ovocita. Nei follicoli secondari, la componente stromale si differenzia in teca interna e teca esterna, separate da una rete vascolare.

La comparsa di una cavità piena di liquido, denominata antro follicolare, caratterizza il follicolo terziario o antrale. Tali follicoli diventano visibili all'ecografia solo quando raggiungono un diametro  $\geq 2$  mm, momento in cui acquisiscono maggiore sensibilità alla stimolazione da parte dell'FSH. I follicoli con diametro 2-10 mm vengono definiti reclutabili, mentre quelli di dimensioni superiori ( $>10$  mm) sono considerati dominanti. (1)(53)



*Figura 3. Fasi dello sviluppo del follicolo ovarico*

Nell'ambito dell'inquadramento diagnostico dell'infertilità femminile è fondamentale la valutazione della riserva ovarica, intesa come quantità e qualità dei follicoli primordiali. Tale parametro fornisce una stima indiretta del patrimonio

follicolare residuo e del potenziale riproduttivo della donna, permettendo di orientare le strategie terapeutiche nei percorsi di PMA.

A tal fine, sono stati sviluppati dei marcatori biochimici e strumentali, tra cui l'ormone Antimulleriano (AMH) e la conta dei follicoli antrali (AFC), attualmente considerati i parametri più affidabili per valutare la riserva ovarica femminile e dare una accurata prognosi riproduttiva femminile. (54)

### **Ormone Antimulleriano**

L'AMH è una glicoproteina appartenente alla famiglia del fattore di crescita trasformante beta (TGF- $\beta$ ). È prodotto dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici in fase di crescita, dallo stadio primordiale fino al follicolo antrale di piccole dimensioni. A differenza di altri ormoni, i livelli di AMH presentano una variabilità intra-ciclo limitata, consentendo il dosaggio in qualsiasi fase del ciclo mestruale.

Generalmente, valori sierici di AMH compresi tra 1,0 e 4,0 ng/mL sono considerati fisiologici e indicativi di una buona riserva ovarica. Valori inferiori a 1,0–1,1 ng/mL sono associati a ridotta riserva ovarica e a una minore risposta alla stimolazione, mentre livelli superiori a 4–5 ng/mL possono essere correlati a condizioni patologiche come la PMOS e a rischio aumentato di iperstimolazione ovarica.

I livelli di AMH tendono a decrescere con l'età, iniziando a calare intorno ai 25 anni, fino a diventare non rilevabili alla menopausa.

Diversi fattori estrinseci influenzano i livelli di AMH. È stata osservata una correlazione inversa con il BMI: l'obesità può ridurre i livelli di AMH senza necessariamente riflettere una reale diminuzione della riserva funzionale. (55)

La vitamina D è stata associata alla regolazione dell'AMH, tramite un possibile effetto positivo sulla sopravvivenza dei follicoli preantrali. Significative variazioni interindividuali sono state osservate anche tra donne della stessa età con differenze etniche documentate: le donne di etnia cinese tendono ad avere livelli più elevati di AMH ma una diminuzione più marcata nel tempo, mentre le donne afroamericane mostrano valori generalmente più bassi, ma con un declino più lento.

Dal punto di vista clinico, l'AMH riflette principalmente la riserva ovarica funzionale (FOR), composta dai follicoli di 2–5 mm di diametro, potenzialmente reclutabili tramite la stimolazione con FSH. Per questo motivo è uno dei marcatori

più affidabili della riserva ovarica, permettendo di valutarla ai fini di un percorso di PMA e identificando sia pazienti a rischio di scarsa risposta sia quelle con possibile iper-risposta. Tuttavia, pur essendo un indicatore quantitativo della riserva ovarica, l'AMH non fornisce informazioni dirette sulla qualità ovocitaria, né sulla riserva ovarica totale, né rappresenta un predittore assoluto della probabilità di gravidanza. (56) (57)

### **Conta dei follicoli antrali**

L'AFC consiste, attraverso ecografia transvaginale, nella valutazione del numero di follicoli antrali presenti nelle ovaie, generalmente di dimensioni comprese tra 2 e 10 mm. Valori di AFC minori di 5–7 follicoli sono associati a una bassa risposta ovarica, minore numero di ovociti recuperati e tassi di gravidanza inferiori. Al contrario, valori pari o superiori a 20 follicoli sono correlati a una risposta ovarica eccessiva, con conseguente rischio aumentato di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS).

L'AFC è ampiamente riconosciuta come uno dei parametri più affidabili per la valutazione della riserva ovarica funzionale e correla strettamente con i livelli di AMH (58). Rappresenta uno strumento predittivo importante in termini quantitativi: consente di anticipare il numero di ovociti che verranno presumibilmente prelevati dopo la stimolazione ovarica con gonadotropine e quindi il potenziale tasso di successo di un ciclo IVF, anche nel lungo termine (tasso cumulativo di gravidanza).

Il conteggio follicolare è particolarmente indicato nelle donne con età superiore ai 35 anni, che cercano una gravidanza da oltre sei mesi, o in quelle a rischio di avere una diminuita riserva ovarica, come in caso di pregressi trattamenti gonadotossici (chemioterapia, radioterapia) o interventi chirurgici sull'ovaio. Inoltre, l'AFC può essere utilizzato per affinare la predizione del rischio di aneuploidie fetali e per stimare l'età della menopausa: un  $AFC \leq 4$  è associato a un rischio maggiore di menopausa entro 7 anni (35%) rispetto a un  $AFC > 4$  (13%). (59)

## PERCORSO DI PMA

Le tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) definiscono l'insieme dei trattamenti medici e delle procedure tecnologiche che implicano la manipolazione *in vitro* di gameti maschili (spermatozoi), femminili (ovociti) o di embrioni, nell'ambito di un percorso clinico multidisciplinare finalizzato al superamento dell'infertilità di coppia e al conseguimento di una gravidanza a termine.

La classificazione ufficiale delle tecniche di procreazione assistita in primo, secondo e terzo livello si fonda su rigidi criteri di complessità procedurale, necessità assistenziale e grado di invasività tecnica. Le linee guida delle principali società scientifiche internazionali, quali l'ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*) e l'ASRM (*American Society for Reproductive Medicine*), adottano il principio etico e clinico della gradualità terapeutica. Secondo tale principio, il percorso terapeutico deve privilegiare, in prima istanza, le opzioni diagnostico-terapeutiche più semplici, meno invasive e a minor impatto economico ed emotivo per la coppia.

Tuttavia, l'applicazione di questo algoritmo sequenziale non è assoluta: la prognosi riproduttiva e la scelta immediata del livello di accesso alla PMA sono determinate da eziologia specifica (tubarica, genetica, immunologica o maschile severa) e da fattori tempo-dipendenti, tra cui spiccano l'età materna avanzata (associata al fisiologico declino qualitativo e quantitativo della riserva ovarica) e la durata dell'infertilità. Inoltre, la ricerca recente evidenzia come il successo di queste tecniche sia correlato all'omeostasi metabolica ed endocrina della paziente: alterazioni sistemiche, come le disfunzioni latenti dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, possono inficiare i tassi di impianto embrionale e di *live birth* (nati vivi), configurandosi come biomarcatori cruciali da correggere già nelle fasi preliminari di qualunque protocollo di stimolazione.

### **Tecniche di I livello: Procedure a bassa complessità**

Le tecniche di primo livello si caratterizzano per un approccio terapeutico a bassa invasività, eseguibile interamente in regime ambulatoriale e con una manipolazione *in vitro* dei gameti nulla o estremamente ridotta. Queste metodiche mirano a

ottimizzare l'incontro spontaneo dei gameti *in vivo* all'interno delle vie genitali femminili.

La procedura principale è rappresentata dall'inseminazione intrauterina (IUI), che può essere eseguita sia su ciclo spontaneo sia, più frequentemente, in associazione a protocolli di stimolazione ovarica controllata d'intensità lieve, per indurre la maturazione di un massimo di 1-2 follicoli e minimizzare il rischio di gravidanze multiple.

Dal punto di vista del laboratorio, l'intervento cardine consiste nella preparazione del liquido seminale mediante tecniche di centrifugazione su gradienti di densità o *swim-up*. Gli spermatozoi vengono separati dal plasma seminale, isolando la frazione a maggior motilità progressiva e morfologia normale, inducendone al contempo la capacitazione. Il campione così trattato viene inoculato direttamente nella cavità uterina con un'inseminazione sopracervicale tramite un catetere flessibile ecoguidato.

Varianti tecniche meno comuni della via intrauterina comprendono l'inseminazione intraperitoneale (IPI) o la perfusione tubarica selettiva (FSP), volte a depositare il campione in prossimità del sito fisiologico di fecondazione. L'accesso alle tecniche di I livello è clinicamente indicato nei casi di infertilità idiopatica, fattore maschile lieve, disfunzioni ovulatorie o fattore cervicale, a condizione che sia documentata la pervietà tubarica bilaterale e l'età materna non sia avanzata. (50)

### **Tecniche di II livello: Procedure in vitro a media complessità**

Le tecniche di secondo livello costituiscono il nucleo centrale della medicina della riproduzione e prevedono la fecondazione propriamente detta *in vitro*, ovvero all'esterno del corpo materno, con la successiva coltura e il trasferimento in utero degli embrioni ottenuti. Trattandosi di procedure a media complessità, che richiedono il prelievo chirurgico transvaginale degli ovociti (*pick-up*), esse vengono condotte in ambiente chirurgico ambulatoriale o in *day-surgery*, sotto anestesia locale o in sedazione profonda. Le due metodiche principali si differenziano per la modalità di inseminazione in laboratorio. La scelta tra la fecondazione in vitro ed embryo transfer convenzionale (FIVET) e l'iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI) è guidata principalmente dai parametri seminali e dalla concentrazione di spermatozoi mobili recuperati post-processamento. (50,53)

Nella FIVET, l'inseminazione avviene 4–6 ore dopo il pick-up, combinando in piastra di coltura per 12–18 ore l'ovocita maturo denudato con una concentrazione definita di spermatozoi capacitati, generalmente 50.000–100.000 mobili/mL. Lo spermatozoo deve penetrare autonomamente le barriere ovocitarie (cumulo e zona pellucida) e la fecondazione è confermata dopo circa 18 ore dal riscontro di due pronuclei (PN) e dall'espulsione del secondo globulo polare, con tasso di fecondazione tra 50-65% e tassi di successo di gravidanza al primo tentativo di circa il 40%, che aumenta fino a quasi l'80% al terzo tentativo.

La tecnica ICSI rappresenta invece la scelta d'elezione in presenza di grave infertilità maschile come azoospermia ostruttiva o oligoastenoteratozoospermia grave. Questa metodica microchirurgica bypassa completamente le barriere naturali dell'ovocita, inserendo un singolo spermatozoo, morfologicamente normale e mobile, direttamente all'interno del citoplasma dell'ovocita. Prima della microiniezione, l'ovocita deve essere privato del cumulo ooforo (denudazione) tramite digestione enzimatica con ialuronidasi; tale passaggio è indispensabile sia per verificare l'effettiva maturità meiotica del gamete (presenza del primo globulo polare, in metafase II), sia per garantire la perfetta visibilità delle strutture cellulari durante l'iniezione. La ICSI ha un tasso di fecondazione di circa il 75%. (41)

Il secondo livello include inoltre procedure fondamentali come il prelievo dei gameti maschili per via percutanea o microchirurgica (PESA, TESE) in caso di azoospermia, la crioconservazione mediante vitrificazione di gameti ed embrioni sovranumerari, e tecniche altamente specifiche di trasferimento intratubarico guidato (GIFT per i gameti, ZIFT per gli zigoti, TET per gli embrioni), eseguite per via transvaginale ecoguidata o isteroscopica.

### **Tecniche di III livello: Procedure chirurgiche ad alta complessità**

I trattamenti di terzo livello comprendono interventi di procreazione assistita ad alta complessità procedurale e strutturale. Queste tecniche si rendono necessarie in condizioni anatomiche o patologiche severe che impediscono l'accesso transvaginale o che richiedono un approccio microchirurgico invasivo sui tessuti riproduttivi.

Sotto il profilo del fattore maschile, il terzo livello include il prelievo microchirurgico avanzato di gameti dal testicolo (Micro-TESE). Mediante l'ausilio

di un microscopio operatore, il chirurgo effettua una dissezione mirata dei tubuli seminiferi alla ricerca di foci isolati di spermatogenesi in pazienti affetti da azoospermia non ostruttiva.

Per la componente femminile, il terzo livello comprende il prelievo laparoscopico degli ovociti, una metodica chirurgica un tempo standard ma oggi limitata a casi eccezionali, come la presenza di gravi aderenze pelviche, anomalie anatomiche congenite o dislocazione atipica delle ovaie.

Infine, rientrano in questo livello le procedure di trasferimento intratubarico di gameti, zigoti o embrioni (GIFT, ZIFT, TET) eseguite per via laparoscopica, sfruttando la fisiologia della tuba di Falloppio. Sono indicate in casi selezionati in cui l'accesso transcervicale uterino è tecnicamente fallimentare, ma è conservata la pervietà tubarica. (50)

### **Stimolazione Ovarica Controllata**

Il ciclo mestruale è un processo fisiologico regolato da una complessa interazione ormonale lungo l'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio e si articola in quattro fasi principali: mestruale, follicolare, ovulatoria e luteale.

Nella fase follicolare, l'ipotalamo secerne l'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), il quale stimola l'ipofisi anteriore a produrre l'ormone follicolo-stimolante (FSH), che promuove la crescita e la maturazione dei follicoli ovarici. Durante questa fase, un singolo follicolo diventa dominante e inizia a produrre quote crescenti di estradiolo. Verso la metà del ciclo, quando l'estradiolo raggiunge una soglia critica, si innesca un feedback positivo che determina un picco di ormone luteinizzante (LH). Questo picco induce l'ovulazione, processo fisiologico che prevede la rottura del follicolo dominante e la liberazione dell'ovocita maturo nella tuba di Falloppio.

Nella successiva fase luteale, il follicolo svuotato si trasforma in corpo luteo, che secerne progesterone per preparare l'endometrio all'impianto. In assenza di fecondazione, il corpo luteo regredisce, determinando un crollo del progesterone che esita nella mestruazione. (1)

La stimolazione ovarica controllata (COS) emula e modula la fisiologia di questo asse. Essa rappresenta la fase cardine dei protocolli di PMA, mirata a indurre una

crescita follicolare multipla per aumentare il numero di ovociti recuperabili, per compensare le limitazioni legate alla coltura embrionale, alla selezione degli embrioni da trasferire e al successivo impianto. Una risposta inadeguata riflette una ridotta attività follicolare, con conseguente diminuzione del numero di ovociti recuperati.

Il processo si articola in tre momenti terapeutici fondamentali.

1. Somministrazione di **gonadotropine esogene**.

Le gonadotropine impiegate comprendono preparazioni urinarie, come la gonadotropina menopausale umana (hMG, contenente sia FSH che LH) e le forme purificate o altamente purificate di FSH (p-FSH e hp-FSH), accanto a formulazioni ricombinanti di FSH (rFSH) e LH (rLH). Durante questa fase, lo scopo è indurre lo sviluppo multifollicolare e ottenere un numero maggiore di ovociti maturi rispetto a quanto avviene nel ciclo naturale. La risposta ovarica viene monitorata mediante controlli ecografici e dosaggi ormonali. (60)

2. Utilizzo di **analoghi del GnRH (agonisti o antagonisti)**.

Per prevenire un picco endogeno prematuro di LH che comprometterebbe il ciclo terapeutico, si sopprime la funzione ipofisaria attraverso un protocollo lungo o corto.

Per la soppressione ipofisaria, nel "protocollo lungo" si somministra un agonista del GnRH generalmente nella fase luteale del ciclo precedente alla stimolazione ovarica. In una fase iniziale si verifica un aumento transitorio della secrezione di FSH e LH da parte dell'ipofisi (effetto *flare-up*), seguito da una desensibilizzazione dei recettori ipofisari e dalla conseguente soppressione della produzione endogena di gonadotropine. Una volta ottenuto il blocco ipofisario, si avvia la somministrazione di gonadotropine esogene per stimolare la crescita follicolare in un contesto ormonale controllato.

Nel "protocollo corto", l'agonista viene somministrato in concomitanza con le gonadotropine, nei primi giorni del ciclo mestruale. Si sfrutta l'effetto iniziale *flare-up* di stimolazione ipofisaria, che determina un aumento della secrezione endogena di FSH e LH e può favorire il reclutamento follicolare. Successivamente interviene la desensibilizzazione ipofisaria, che impedisce

il verificarsi di un picco prematuro di LH. Questo protocollo, a oggi preferito, viene utilizzato nelle pazienti con ridotta riserva ovarica o con precedenti risposte insufficienti alla stimolazione, poiché l'effetto *flare-up* può contribuire a potenziare la risposta follicolare.

### 3. **Induzione della maturazione ovocitaria finale** (*trigger*).

Viene indotta 36–38 ore prima del prelievo, per sincronizzare l'ovulazione e ottimizzare il recupero di cellule uovo mature, simulando il picco di LH tramite la somministrazione di gonadotropina corionica umana (hCG) o, nei protocolli con antagonista, mediante un bolo di agonista del GnRH. (60)

Una volta verificata la maturazione follicolare mediante monitoraggio ecografico e dosaggio dell'estradiolo, si procede al prelievo ovocitario (*pick-up* o *Oocyte Pick-Up*, OPU), pianificato rigidamente 34–36 ore dopo il trigger (prolungabile a 36–39 ore in pazienti con tendenza alla maturazione incompleta).

## **Poor Ovarian Responders (POR)**

La risposta ovarica può presentare un'elevata variabilità interindividuale. In una quota di pazienti, infatti, si osserva una ridotta risposta alla stimolazione farmacologica, con un numero limitato di ovociti recuperati all'OPU. Tali condizioni rientrano nella definizione di Poor Ovarian Response (POR).

Secondo i "*criteri di Bologna*", introdotti nel 2011 dall'ESHRE, la diagnosi di risposta ovarica ridotta richiede la presenza di almeno due dei seguenti parametri:

1. Età materna avanzata ( $\geq 40$  anni) o presenza di altri fattori di rischio noti per POR (es. pregressa chirurgia ovarica, endometriosi).
2. Precedente risposta inadeguata, definita dal recupero di  $\leq 3$  ovociti a seguito di un protocollo di stimolazione convenzionale massimale.
3. Test di riserva ovarica alterato, caratterizzato da  $AFC < 5-7$  o da livelli di  $AMH < 0.5-1.1$  ng/ml.

Due cicli consecutivi con ridotta risposta sotto stimolazione massimale sono sufficienti per porre diagnosi anche in assenza di età avanzata o marker alterati. Nelle pazienti sopra i 40 anni che presentano contemporaneamente marker di riserva alterati, si parla invece di "*expected POR*" (risposta scarsa attesa), poiché i parametri basali costituiscono già un forte indicatore prognostico negativo. (61)

## Pick-up ovarico e fecondazione

Completata la COS e verificata la maturazione follicolare, si procede con il prelievo ovocitario, 34–36 ore dopo il trigger. Sebbene storicamente eseguito in laparoscopia, l'OPU standard attuale prevede l'aspirazione transvaginale ecoguidata dei follicoli, eseguita in regime ambulatoriale sotto sedazione cosciente (nel 95% dei casi) o anestesia locale, epidurale, spinale o generale, in base alle pratiche regionali e alle preferenze del centro.

I liquidi follicolari aspirati vengono immediatamente trasferiti in laboratorio in terreni di coltura tamponati con HEPES per mantenere il pH fisiologico. Sotto microscopio, i complessi cumulo-ovocita (COC) vengono isolati da coaguli ematici e detriti e classificati morfologicamente. La valutazione della maturità ovocitaria si basa su criteri morfologici: gli ovociti immaturi (in fase di vescicola germinativa o Metafase I) si presentano circondati da un cumulo compatto, mentre quelli maturi (in Metafase II) mostrano un'espansione delle cellule del cumulo e uno strato coronale ben visibile. I COC in MII vengono quindi incubati a 37 °C con il 5% di CO<sub>2</sub>.

Nel frattempo, il campione seminale viene preparato tramite tecniche di *swim-up* o gradienti di densità per isolare la frazione di spermatozoi a maggior motilità e qualità morfologica, attivando la capacitazione in vitro tramite incubazione in terreni arricchiti di proteine per un tempo compreso tra 30 minuti e 4 ore. (53)

Una volta completata la preparazione dei gameti, si procede alla fase di inseminazione. Nel caso della FIVET gli ovociti vengono posti in coltura insieme agli spermatozoi opportunamente preparati, consentendo la fecondazione spontanea. Nella ICSI, invece, un singolo spermatozoo viene selezionato e iniettato direttamente all'interno dell'ovocita maturo.

Il processo biologico ha inizio immediatamente dopo la penetrazione dello spermatozoo nell'ovocita. Quest'ultimo completa la seconda divisione meiotica, espelle il secondo globulo polare e va incontro a una serie di modificazioni biochimiche e strutturali della zona pellucida volte a impedire la polispermia. La testa dello spermatozoo si separa dalla coda e si decondensa dando origine al pronucleo maschile, che si affianca al pronucleo femminile. La corretta

fecondazione viene valutata dopo circa 16–18 ore mediante l'osservazione della presenza dei due pronuclei (2PN).

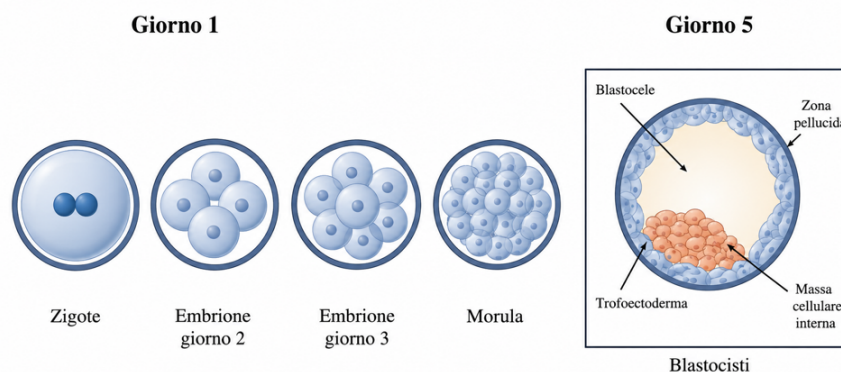
A seguito della replicazione del DNA di entrambi i corredi polari, avviene la fusione dei pronuclei e lo zigote compie la sua prima divisione mitotica entro 24–30 ore dall'inseminazione, generando i primi due blastomeri.

Nelle giornate successive, si susseguono divisioni mitotiche, fase detta segmentazione che porta a stadi progressivi. (*Figura 4*)

Entro il terzo giorno, l'embrione raggiunge lo stadio di morula (8-16 cellule), fase critica in cui le cellule iniziano a manifestare i primi processi di compattazione cellulare mediati dalle molecole di adesione E-caderina.

Al quarto giorno (32–64 cellule), si assiste alla progressiva cavitazione della morula con formazione di una cavità interna, detta blastocele. Ciò determina la riorganizzazione e differenziazione tra due popolazioni cellulari, che segna la transizione a blastocisti. Le cellule esterne destinate a costituire il trofoblasto, che contribuirà alla formazione della placenta e delle strutture extraembrionali, e il cluster cellulare interno, noto come massa cellulare interna (ICM), da cui deriverà l'embrione propriamente detto. (62)

Gli embrioni così ottenuti vengono quindi monitorati nei giorni successivi per valutarne la qualità e la capacità di sviluppo, fino allo stadio di cleavage o di blastocisti, momento in cui possono essere selezionati per il trasferimento in utero o per la crioconservazione. (63)



*Figura 4. Stadi dello sviluppo embrionale (Giorno 1-5)*

## Qualità ovocitaria ed embrionale nei cicli di PMA

### Qualità degli Ovociti

L'ovocita umano maturo presenta un diametro complessivo di circa 150  $\mu\text{m}$ . Il corpo cellulare (ooplasma, 110–115  $\mu\text{m}$ ) è racchiuso nella zona pellucida, un rivestimento glicoproteico dello spessore di 15–20  $\mu\text{m}$ , separata dall'ooplasma dallo spazio perivitellino. L'ooplasma ospita il corredo di mitocondri, reticolo endoplasmatico, apparato di Golgi necessari a sostenere le prime divisioni embrionali.

Esternamente, l'ovocita è circondato dal cumulo ooforo che supporta metabolicamente il gamete. Durante l'ovulazione o la stimolazione con hCG, il cumulo si espande e si separa dalla zona pellucida, segnando la preparazione alla fecondazione. La valutazione della morfologia ovocitaria tradizionale si basa sull'espansione di questo complesso, sebbene talvolta il processo di maturazione nucleare e del cumulo non risultino sincroni (ad esempio, a causa di fluttuazioni repentine dell'estradiolo), inficiandone l'accuratezza.

I parametri standardizzati correnti per la definizione della qualità ovocitaria includono:

- **Complesso cumulo-ovocitario:** grado di spessore e compattezza del cumulo, luminosità del citoplasma.
- **Citoplasma:** colore, assenza di vacuoli o di aggregati di reticolo endoplasmatico, granularità omogenea.
- **Globulo polare:** integrità della membrana, dimensione e forma regolare.
- **Zona pellucida:** spessore costante e assenza di colorazioni anomale.
- **Spazio perivitellino:** ampiezza regolare, assenza di detriti o granuli.
- **Fuso meiotico:** rifrangenza e corretto allineamento rispetto al globulo polare.

Un ovocita MII di alta qualità si distingue per un citoplasma chiaro e finemente granuloso, uno spazio perivitellino ridotto, un globulo polare singolo e integro e una zona pellucida trasparente. I gameti bloccati in Metafase I o in Profase I presentano tassi di fecondazione drasticamente ridotti o nulli, mentre anomalie

dimensionali macroscopiche, ad esempio ovociti giganti, predispongono ad anomalie di ploidia e devono essere scartati. (53)(64)

### **Qualità dell'Embrione**

Il monitoraggio morfologico e cinetico dello sviluppo embrionale *in vitro* rappresenta uno dei pilastri fondamentali nei laboratori di PMA, finalizzato a identificare l'embrione con il più alto potenziale di impianto.

La valutazione della qualità embrionale si basa su un sistema integrato di parametri morfologici e cinetici, tra cui la sincronia e regolarità delle divisioni, la tempistica della segmentazione, il numero e la simmetria dei blastomeri, la distribuzione degli organelli intracellulari, l'assenza di vacuoli e, in modo critico, la percentuale di frammentazione citoplasmatica anucleata.

Nella pratica clinica, i due momenti principali per la selezione finalizzata al trasferimento in utero (*embryo transfer*) o alla crioconservazione sono lo stadio di clivaggio in terza giornata e lo stadio di blastocisti in quinta/sesta giornata. Il trasferimento allo stadio di blastocisti offre tassi di impianto e di gravidanza clinica significativamente superiori, poiché garantisce una migliore sincronizzazione biologica con la finestra di recettività dell'endometrio rispetto agli embrioni in fase di clivaggio precoce.

### **Criteri di classificazione allo stadio di clivaggio (Day 3)**

La valutazione morfologica al terzo giorno post-inseminazione analizza il tasso di clivaggio attraverso il conteggio dei blastomeri e il grado di frammentazione. Secondo i criteri proposti da *Van Royen*, condivisi in letteratura, un "embrione di alta qualità" (top quality) in terza giornata deve presentare:

- una conta cellulare compresa tra 7 e 9 blastomeri, con l'ottimale rappresentato da 8 cellule, indice di una corretta velocità di divisione;
- una percentuale di frammentazione citoplasmatica inferiore al 20%;
- assenza totale di blastomeri multinucleati; la multinucleazione correla fortemente con anomalie cromosomiche e aneuploidie;
- una progressione regolare che mostri già 4-5 blastomeri al giorno 2.

Deviazioni numeriche (<7 o >9 cellule) o tassi di frammentazione superiori al 50% riducono drasticamente la capacità dell'embrione di raggiungere lo stadio di

blastocisti e ne compromettono l'evoluzione clinica. L'efficacia della selezione basata su questi parametri ha permesso l'applicazione clinica del trasferimento di un singolo embrione di alta qualità, riducendo drasticamente l'incidenza di gravidanze multiple senza penalizzare il successo riproduttivo cumulativo della coppia. (53)(64)

### **Criteri di classificazione allo stadio di Blastocisti (Day 5–6)**

Per la standardizzazione morfologica delle blastocisti viene utilizzato universalmente il sistema di punteggio di *Gardner e Schoolcraft*, che valuta la struttura secondo tre parametri distinti:

- **Grado di espansione e *hatching***, viene espresso con un punteggio numerico da 1 a 6. Descrive il volume del blastocele e la pressione esercitata sulla zona pellucida, dal grado 1 (blastocelo iniziale inferiore alla metà del volume dell'embrione) fino al grado 6 (blastocisti completamente fuoriuscita, o *hatched*, dalla zona pellucida).
- **Qualità della ICM**, espressa con lettere A, B, C. Valuta l'aspetto delle cellule che danno origine al feto.  
 Il grado A indica una massa compatta formata da numerose cellule.  
 Il grado B descrive una coesione intermedia con cellule raggruppate in modo più lasso.  
 Il grado C presenta una struttura scarsamente organizzata e con pochissime cellule.
- **Qualità del Trofoectoderma (TE)**, espresso con lettere A, B, C. Valuta lo strato cellulare monocromatico periferico deputato alla formazione degli annessi placentari.  
 Il grado A ha un epitelio coeso e regolare formato da molte cellule.  
 Il grado B mostra un tessuto parzialmente organizzato con cellule meno numerose.  
 Il grado C evidenzia un trofoectoderma frammentario, lasso e con scarso numero cellulare. (53)(64)

Questo sistema multidimensionale consente una selezione raffinata e predittiva delle blastocisti migliori (es. blastocisti classificate come 4AA o 5AA), ottimizzando l'efficacia del trasferimento endometriale. (65)

## INFERTILITA', DISFUNZIONI TIROIDEE E IODIO

### Tiroide e fertilità femminile

La corretta funzione della ghiandola tiroide è essenziale per il mantenimento dell'equilibrio ormonale femminile, per la fertilità e per il regolare andamento della gravidanza.

Gli ormoni tiroidei contribuiscono al corretto funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio attraverso i seguenti meccanismi.

- Regolano la maturazione follicolare, modulando la risposta delle cellule della granulosa e della teca dei follicoli ovarici. L'espressione dei recettori degli ormoni tiroidei (TSH-R, TR $\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2 e TR $\beta$ 1), presenti sulla superficie delle cellule epiteliali ovariche e delle cellule della granulosa, varia nel corso della follicologenesi, indicando un ruolo dinamico degli ormoni nella differenziazione follicolare e un'azione diretta sul microambiente ovarico. (66)

Recenti evidenze hanno documentato, in diverse specie animali, la presenza nel liquido follicolare di un'attività di 5'-monodeiodinasi (5'MD), un enzima in grado di convertire T4 in T3 mediante la deiodinazione dell'anello esterno. Questa attività consente una produzione locale di T3 a livello ovarico, definita "*ovarian-born*", indipendente dai livelli circolanti di ormoni tiroidei. Sebbene questo meccanismo non sia ancora stato confermato con certezza nell'essere umano, suggerisce l'esistenza di una possibile regolazione intraovarica mediata da T3 e T4. (67)

- Potenziano l'azione dell'FSH nell'attivazione delle cellule della granulosa, favorendo così il processo di differenziazione cellulare e riducendo l'apoptosi.
- Aumentano l'espressione dei recettori per l'LH e stimolano l'attività di enzimi come la 3 $\beta$ -idrossisteroidodeidrogenasi (3 $\beta$ -HSD) e l'aromatasi, con un conseguente incremento dei livelli di estrogeni circolanti, con un impatto diretto sulla qualità ovocitaria, sulla preparazione dell'endometrio all'impianto e sulla regolarità del ciclo mestruale.
- Agiscono anche indirettamente sull'asse gonadotropo, regolando la secrezione di prolattina (PRL), gonadotropin-releasing hormone (GnRH) e

proteine di trasporto degli ormoni sessuali come la Sex Hormone Binding Globulin (SHBG). (66)

### **Disfunzioni tiroidee e infertilità**

Nelle donne in età fertile, l'eccesso di ormoni tiroidei caratterizzante l'ipertiroidismo stimola la sintesi epatica della SHBG attraverso meccanismi mediati dal fattore nucleare epatico HNF-4 $\alpha$ , determinando un incremento dei livelli circolanti totali di estrogeni, in particolare di estradiolo. Inoltre, può aumentare l'attività aromatasica periferica, favorendo la conversione degli androgeni in estrogeni.

Dal punto di vista funzionale, livelli elevati e persistenti di estradiolo possono interferire con l'asse ipotalamo-ipofisario, sopprimendo mediante feedback negativo la secrezione pulsatile di GnRH e quindi di FSH e LH, necessari per una corretta maturazione follicolare. Questi squilibri ormonali sono responsabili di un'incidenza di irregolarità mestruali (oligomenorrea e amenorrea) significativamente più alta, stimata fino a 2,5 volte rispetto alla popolazione generale, anovularietà e disfunzione ovulatoria.

Un altro aspetto rilevante è l'effetto sull'endometrio: livelli cronicamente elevati di estrogeni, non adeguatamente bilanciati dal progesterone, possono determinare una proliferazione endometriale disorganizzata, riducendo la recettività endometriale e quindi le probabilità di impianto.

Infine, nelle pazienti è stata osservata una secrezione aumentata dell'LH rispetto ai soggetti eutiroidei, che genera un'alterazione del picco preovulatorio di esso compromettendo il tempo dell'ovulazione e la qualità ovocitaria.

Nelle donne in età fertile, l'eziologia più comune dell'ipertiroidismo è la malattia di *Basedow-Graves* (GD), con una prevalenza stimata tra lo 0,4% e l'1,0% nel periodo pregravidico, e pari a circa lo 0,2% durante la gravidanza. (68)

Altre cause sono adenoma tossico, gozzo multinodulare tossico, tiroiditi subacute, forme rare come adenomi ipofisari TSH-secernti, struma ovarii, assunzione esogena di ormoni tiroidei, tireotossicosi hCG-mediata (ad esempio gravidanza multipla, mola idatiforme e corioncarcinoma).

Se l'ipertiroidismo si associa a un'alterazione della funzione riproduttiva prevalentemente mediata da un quadro di iperestrogenismo e disfunzione

ovulatoria, anche l'ipotiroidismo interferisce con l'equilibrio del sistema riproduttivo femminile attraverso molteplici meccanismi.

La ridotta produzione di ormoni tiroidei determina un aumento compensatorio del TSH e del TRH, quest'ultimo responsabile anche di una maggiore secrezione di prolattina. L'iperprolattinemia può inibire la secrezione pulsatile di GnRH, con conseguente riduzione di FSH e LH e alterata maturazione follicolare. (69)

Inoltre, si osserva uno stato di iperandrogenismo funzionale determinato dalla riduzione della clearance metabolica di androstenedione ed estrone, dall'aumento dell'aromatizzazione periferica delle frazioni libere di testosterone ed estradiolo e da una riduzione della SHBG. Tale quadro può ulteriormente compromettere la maturazione follicolare con possibile aumento di piccoli follicoli ("*PMOS-like*"), alterando la regolarità ovulatoria (disturbo mestruale presente in circa l'80% delle donne ipotiroidiche). (56)

A livello endometriale, l'ipotiroidismo è associato a una ridotta recettività uterina. La carenza di ormoni tiroidei interferisce con l'espressione di molecole chiave per l'impianto, come integrine e fattori di crescita.

Per quanto riguarda la riserva ovarica, l'ipotiroidismo, soprattutto se associato ad autoimmunità tiroidea, è stato correlato a livelli più bassi di AMH e a una possibile riduzione della qualità ovocitaria, verosimilmente mediata da un ambiente metabolico e infiammatorio sfavorevole. Diversi studi hanno evidenziato come un aumento dei livelli di TSH possa essere correlato a una riduzione della funzionalità ovarica, testimoniata da valori elevati di FSH al terzo giorno del ciclo ( $>14$  IU/L), ridotto numero di follicoli antrali (AFC  $<5$ ) e bassa risposta a stimolazione ovarica controllata. Inoltre, la disfunzione tiroidea può alterare la steroidogenesi ovarica e la dinamica follicolare, con ripercussioni sulla risposta ovarica, anche nei cicli di procreazione medicalmente assistiti (70). Un'ampia indagine retrospettiva condotta su donne sottoposte a PMA ha confermato che le pazienti con ipotiroidismo subclinico e età  $\geq 35$  anni presentano livelli più elevati di FSH, un minor numero di follicoli antrali e valori di AMH significativamente ridotti rispetto ai controlli eutiroidei. (71)(72)

Considerando la variabilità fisiologica del TSH e le evidenze disponibili, può essere opportuno consigliare la somministrazione di Levotiroxina (LT4) nelle pazienti con TSH  $> 2,5$  mIU/L che si sottopongono a tecniche di PMA.

In questo ambito, un'analisi retrospettiva ha riportato un tasso di concepimento dell'84,1% in donne con ipotiroidismo subclinico ( $TSH > 3,0$  mIU/L) trattate con LT4, evidenziando una riduzione della durata dell'infertilità. Il trattamento, inoltre, sembra associarsi non solo a un miglioramento del tasso di gravidanza clinica, ma anche a una diminuzione del rischio di aborto spontaneo e a un aumento del tasso di nati vivi.

Le eziologie dell'ipotiroidismo differiscono in base allo stato iodico della popolazione: nelle aree a sufficienza iodica prevalgono le forme autoimmuni, mentre nelle regioni con carenza iodica persistente, la deficienza nutrizionale rappresenta la causa più rilevante. (68)(56)

L'ipotiroidismo da deficit iodico compromette processi chiave per la fertilità, tra cui la follicologenesi, l'ovulazione, la funzione luteale e l'impianto embrionale. (73)

Oltre agli effetti mediati dagli ormoni tiroidei, evidenze recenti suggeriscono un possibile ruolo diretto dello iodio a livello ovarico. Studi sperimentali hanno dimostrato la presenza di meccanismi di captazione dello iodio nel tessuto ovarico, verosimilmente mediati dal trasportatore NIS, nonché una distribuzione dinamica dello iodio all'interno delle strutture follicolari durante la follicogenesi. Tali osservazioni supportano l'ipotesi che lo iodio possa contribuire alla regolazione dell'ambiente follicolare e, di conseguenza, alla qualità ovocitaria. (67)

Evidenze cliniche hanno dimostrato che donne caratterizzate da deficit iodici moderati-severi pre-concezionali hanno una FOR (riserva ovarica funzionale) ridotta, che aumenta i tempi per ottenere una gravidanza e abbassa la probabilità di concepimento del 46% rispetto a donne aventi normoioduria (69).

Nella tiroidite autoimmune (TAI), in particolare la tiroidite di *Hashimoto*, la presenza di autoanticorpi anti-TPO e anti-TgAb riflette un processo autoimmune cronico che sembra possa esercitare un impatto negativo sull'ambiente ovarico attraverso meccanismi immunologici sistemici. È stata documentata l'espressione della TPO nelle cellule della granulosa mature, suggerendo un possibile coinvolgimento diretto della TAI nella fisiologia e patologia ovarica. Le ipotesi patogenetiche principali includono:

1. Autoimmunità sistemica con attivazione delle cellule Natural Killer;

2. Un effetto diretto degli autoanticorpi tiroidei sul tessuto ovarico;
3. Una compromissione della fertilità secondaria al deterioramento progressivo della funzione tiroidea. (70)

A supporto di queste ipotesi, una meta-analisi condotta su quattro studi ha evidenziato una maggiore prevalenza di subfertilità nelle donne positive agli autoanticorpi tiroidei rispetto ai controlli, con un Odds Ratio pari a 1,5 (IC 95%: 1,1–2,0). Questo dato rafforza il sospetto di un'associazione tra TAI e infertilità idiopatica, sottolineando l'importanza della valutazione della funzionalità tiroidea e della presenza di autoimmunità, anche in assenza di segni clinici conclamati. (74)

### **Disfunzioni tiroidee e deficit iodico nei cicli di PMA**

Le donne con diagnosi di infertilità che accedono alla PMA costituiscono una popolazione particolarmente sensibile, nella quale condizioni borderline quali una lieve carenza iodica o un'alterata omeostasi tiroidea possono contribuire a ridurre le probabilità di successo del trattamento. Come anticipato nel paragrafo precedente, lo stato iodico e la funzione tiroidea rappresentano due fattori di rilievo per il loro potenziale impatto sugli esiti riproduttivi.

L'attenzione verso questi aspetti trova una giustificazione epidemiologica, poiché il ricorso alle tecniche di PMA è in costante aumento. A conferma della diffusione di tali tecniche, la ESHRE ha recentemente stimato che una quota compresa tra lo 0,8% e il 4,1% dei nati in Europa è concepita mediante fecondazione in vitro (75).

Durante i cicli di PMA, e in particolare nel corso della COS, sono state documentate variazioni significative della funzione tiroidea, caratterizzate da una riduzione dei livelli di fT4 e da un incremento del TSH, indicando una minore disponibilità di ormoni tiroidei a livello tissutale. Tali modificazioni sono verosimilmente secondarie all'aumento degli estrogeni circolanti, i quali stimolano la sintesi della globulina legante la tiroxina (TBG), che aumentando la sua emivita determina una riduzione della frazione libera di T4, con conseguente incremento compensatorio del TSH (76). Parallelamente, l'impiego di hCG per il trigger ovulatorio esercita un effetto tireostimolante che attenua parzialmente la caduta della fT4.

Ne consegue che la stimolazione ovarica impone alla tiroide un carico funzionale aggiuntivo, rendendo plausibile che un assetto tiroideo o iodico subottimale possa tradursi in una risposta inadeguata.

Uno studio recente ha valutato l'effetto della supplementazione iodica come possibile fattore modulante sulla funzione tiroidea in donne eutiroidee sottoposte a COS.

Da un lato, la carenza iodica può compromettere la sintesi ormonale e ripercuotersi negativamente sulla risposta alla stimolazione ovarica, sulla qualità embrionaria, sulla recettività endometriale e sui processi di impianto. Tali alterazioni sono state associate a un aumentato rischio di infertilità, aborto precoce e fallimento dell'impianto.

D'altra parte, un eccesso di iodio potrebbe alterare i delicati meccanismi di autoregolazione tiroidea. In soggetti suscettibili, una supplementazione iodica prolungata è stata associata a un aumento del TSH, particolarmente evidente durante la stimolazione ovarica e nel periodo peri-impianto, suggerendo un possibile quadro di ipotiroidismo subclinico. Tale fenomeno potrebbe riflettere un'alterata capacità di adattamento della tiroide alle aumentate richieste ormonali, verosimilmente legata a un mancato escape dall'effetto di *Wolff-Chaikoff*; le concomitanti alterazioni della tireoglobulina e la risposta attenuata nei casi di gravidanza suggeriscono inoltre una compromissione della riserva funzionale tiroidea. Pur in assenza di un impatto significativo sui parametri embriologici, in queste pazienti è stato osservato un trend verso un aumento delle perdite precoci di gravidanza, mentre una supplementazione più breve sembrerebbe associarsi a esiti riproduttivi migliori. (77)

In conclusione, un assetto tiroideo non ottimale, in particolare valori alterati di TSH e la presenza di autoimmunità tiroidea talora associati a squilibri dell'apporto iodico, può ridurre le probabilità di successo dei trattamenti di PMA, influenzando sia la risposta alla stimolazione ovarica sia l'impianto embrionale. La valutazione e l'eventuale correzione dello stato iodico e della funzione tiroidea prima dell'avvio dei protocolli si configurano pertanto come elementi rilevanti in un approccio terapeutico completo alla gestione dell'infertilità.

## **Disfunzioni tiroidee e deficit iodico in gravidanza**

Sebbene il presente lavoro si concentri principalmente sulla fase pre-concezionale, è opportuno ricordare che la funzione tiroidea e lo stato iodico assumono un ruolo critico anche nel corso della gravidanza.

Durante la gestazione, gli ormoni tiroidei svolgono un ruolo cruciale nel sostenere l'adattamento metabolico materno e nel garantire un ambiente favorevole alla crescita fetale. Partecipano al corretto funzionamento della placenta, mediante la modulazione dell'invasività dei trofoblasti extravillosi, contribuendo agli scambi di ossigeno e nutrienti tra madre e feto. Sono essenziali per l'impianto embrionale e per le prime fasi di sviluppo fetale. Nel primo trimestre, il feto dipende quasi completamente dagli ormoni tiroidei materni, fondamentali per lo sviluppo neurologico e cerebrale, poiché la tiroide fetale comincia a funzionare intorno alla dodicesima settimana di gestazione.

La gravidanza comporta importanti modifiche fisiologiche in grado di influenzare la funzione tiroidea, che va incontro a un adattamento dinamico che coinvolge il metabolismo ormonale, l'assorbimento dello iodio e la regolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide. Tra queste si includono l'aumento dell'escrezione renale di iodio, la maggiore produzione di ormoni tiroidei e della TBG, nonché l'azione stimolante esercitata da hCG sui recettori del TSH.

Nel primo trimestre è fisiologica una riduzione dei livelli di TSH per l'azione tireostimolante dell'hCG, la cui struttura simile a quella del TSH permette di legarsi debolmente al recettore tiroideo stimolandone l'attività. L'aumento dei livelli di hCG, con picco intorno alla 10<sup>a</sup>–12<sup>a</sup> settimana, induce quindi un incremento transitorio della produzione di ormoni tiroidei fT4 e fT3, che esercitano un feedback negativo sull'ipofisi determinando una soppressione del TSH, spesso entro valori inferiori ai range di normalità per la popolazione generale. Fino al 15% delle donne in gravidanza presenta valori di TSH inferiori a 0,4 mIU/L nel primo trimestre, percentuale che tende a ridursi nel secondo (circa 10%) e nel terzo trimestre (circa 5%).

In presenza di TSH soppresso, è necessario valutare fT4 e fT3 per distinguere la tireotossicosi fisiologica da quella patologica.

Questa condizione, definita come tireotossicosi transitoria gestazionale, è caratterizzata da TSH soppresso e lieve aumento degli ormoni tiroidei in assenza di

patologia tiroidea autoimmune. È generalmente autolimitante, colpisce l'1–3% delle gravidanze e si associa spesso a iperemesi gravidica, una condizione caratterizzata da vomito severo, perdita di peso, disidratazione e chetonuria.

Inoltre, livelli elevati di ormoni tiroidei materni possono attraversare la placenta e influenzare il feto, con possibili effetti sullo sviluppo.

A differenza della tireotossicosi gestazionale, generalmente transitoria e legata agli adattamenti fisiologici indotti dall'hCG, l'ipotiroidismo materno rappresenta una condizione clinicamente più rilevante. Esso si distingue in forma manifesta (TSH elevato e fT4 ridotto) e subclinica (TSH elevato con fT4 normale); la prevalenza stimata è rispettivamente dello 0,3–0,5% e del 2–5% dei casi.

L'ipotiroidismo manifesto è associato a un aumentato rischio di complicanze ostetriche (aborto spontaneo, parto prematuro, basso peso alla nascita, ipertensione gestazionale) e a effetti negativi sullo sviluppo neurocognitivo del feto, soprattutto in assenza di un trattamento adeguato.

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

Un'ulteriore condizione da considerare è l'ipotiroidemia isolata, caratterizzata da fT4 basso con TSH normale, in cui sono stati riscontrati possibili effetti negativi sullo sviluppo neurologico del bambino; le implicazioni ostetriche rimangono incerte.

Nel quadro gestazionale, un ruolo fondamentale lo riveste lo stato iodico materno. Il fabbisogno delle donne in gravidanza aumenta a 220 µg/die. (21,22)

La carenza di iodio determina un quadro di ipotiroidismo che compromette la sintesi degli ormoni tiroidei sia materni sia fetali, determinando un aumento compensatorio della secrezione di TSH e una conseguente iperplasia tiroidea, che può manifestarsi con gozzo materno e fetale.

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

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

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

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

Otto trial controllati condotti su donne gravide europee con carenza iodica da lieve a moderata hanno documentato una riduzione costante dei volumi tiroidei materni e neonatali e dei livelli di tireoglobulina (Tg) in risposta alla supplementazione iodica. Tuttavia, gli effetti sulla funzione tiroidea materna sono stati eterogenei: una riduzione significativa del TSH materno è stata riscontrata in quattro degli otto studi, mentre l'aumento del T4/FT4 materno è stato riportato solo in due. (78)

## **SCOPO DELLO STUDIO**

Il presente studio si propone di approfondire il possibile coinvolgimento dello stato iodico nella funzione riproduttiva e nella fisiopatologia dell'infertilità femminile, valutandone l'impatto sugli esiti di PMA. L'obiettivo principale è valutare se la disponibilità di iodio, stimata attraverso la misurazione della ioduria, abbia correlazione con i principali parametri endocrini di funzionalità tiroidea e riproduttivi.

L'indagine è stata condotta in due momenti distinti del percorso clinico. In una prima fase, sono stati analizzati i dati raccolti in condizioni basali, prima dell'avvio del trattamento di PMA, al fine di valutare la relazione tra ioduria basale, funzionalità tiroidea e riserva ovarica. Quest'ultima è stata stimata mediante AFC e livelli sierici di AMH, considerati i principali indicatori del potenziale riproduttivo femminile.

In una seconda fase, lo studio ha esaminato un sottogruppo di pazienti sottoposte a stimolazione ovarica controllata e successivo prelievo ovocitario, valutando l'associazione tra stato iodico, funzionalità tiroidea e parametri biologici correlati agli esiti della PMA. In particolare, sono stati analizzati il numero e la maturità degli ovociti recuperati, nonché la qualità e la capacità di sviluppo embrionario osservate in laboratorio.

Parallelamente, alle partecipanti è stato somministrato un questionario dedicato alle abitudini alimentari, con l'obiettivo di esplorare possibili correlazioni tra l'apporto dietetico di iodio, i livelli di ioduria, la funzionalità tiroidea, la riserva ovarica e gli outcomes della PMA.

Nel complesso, lo studio mira a chiarire le interazioni tra metabolismo iodico, funzione tiroidea e funzione riproduttiva femminile, sia nella fase preliminare di valutazione della fertilità sia durante il percorso di PMA, contribuendo a identificare eventuali fattori modificabili in grado di influenzare la qualità ovocitaria ed embrionaria e, più in generale, il successo riproduttivo.

## **OUTCOMES DI INTERESSE**

Il presente studio si propone di perseguire i seguenti obiettivi.

1. Descrivere lo stato iodico della popolazione in studio mediante la valutazione della ioduria, analizzandone la distribuzione in una popolazione di donne infertili candidate a percorsi di PMA di II livello e classificando le partecipanti in categorie di stato iodico secondo i criteri internazionalmente riconosciuti.
2. Valutare l'associazione tra stato iodico basale e parametri clinici ed endocrino-riproduttivi rilevati nella fase preliminare del percorso di PMA, con particolare riferimento alla funzionalità tiroidea (TSH, fT3 e presenza di autoimmunità tiroidea) e alla riserva ovarica, stimata mediante i parametri AMH e AFC. Nell'ambito di tale analisi, le pazienti saranno inoltre classificate secondo i criteri di *Bologna* in Poor Ovarian Responder (POR) e Normal Ovarian Responder (NOR), al fine di esplorare eventuali differenze dello stato iodico tra i diversi profili di risposta ovarica.
3. Analizzare la relazione tra ioduria basale, ioduria misurata durante la stimolazione ovarica controllata e gli esiti dei trattamenti di PMA, valutando parametri quali il numero totale di ovociti recuperati al pick-up ovocitario, il numero di ovociti maturi, il numero di embrioni ottenuti, il giorno di sviluppo embrionario e la qualità morfologica embrionaria, al fine di indagare il possibile impatto delle variazioni dello stato iodico nel corso del trattamento sulla risposta ovarica e sullo sviluppo embrionario.
4. Esaminare le variazioni della funzionalità tiroidea durante il percorso di PMA, confrontando i valori di TSH rilevati in condizioni basali e durante la COS, valutandone la relazione con lo stato iodico.
5. Analizzare le abitudini alimentari e gli stili di vita delle partecipanti mediante questionario dedicato, con particolare riferimento al consumo di alimenti fonte di iodio, al consumo di alimenti potenzialmente gozzigeni e all'abitudine tabagica. Tali informazioni saranno utilizzate per esplorare possibili associazioni tra apporto alimentare di iodio, livelli di ioduria, funzionalità tiroidea, riserva ovarica e outcomes della PMA.
6. Valutare il grado di conoscenza delle pazienti riguardo alle strategie di iodoprofilassi adottate in Italia e verificare l'eventuale associazione tra livello di consapevolezza, abitudini alimentari e stato iodico.

## MATERIALI E METODI

Il presente lavoro consiste in uno studio osservazionale monocentrico, condotto presso l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale (UOSD) di Procreazione Medicalmente Assistita dell'Azienda Ospedaliera dell'Università di Padova. La raccolta dati ha coinvolto pazienti di sesso femminile con diagnosi di infertilità, che si sono rivolte al centro per intraprendere un percorso di PMA di II livello tra febbraio 2024 e maggio 2026.

La raccolta dei dati è stata effettuata mediante un approccio combinato, comprendente una componente prospettica e una componente retrospettiva. In particolare, le informazioni relative alle abitudini alimentari correlate all'intake iodico sono state raccolte prospetticamente attraverso la somministrazione di un questionario dedicato. Contestualmente, i dati clinici anamnestici, laboratoristici ed ecografici sono stati acquisiti retrospettivamente mediante revisione delle cartelle cliniche delle pazienti, tramite le piattaforme *Galileo* e *Fertilab*.

### **RACCOLTA DEI DATI**

La popolazione in studio è costituita da 392 donne, di cui 202 hanno risposto al questionario fornito sulle abitudini alimentari.

L'età media delle pazienti è pari a 35,8 anni con mediana di 36 [33-39] e l'indice di massa corporea (BMI) medio risulta pari a 23,7 kg/m<sup>2</sup> con mediana 22,9 kg/m<sup>2</sup> [20,7-25,9]).

Per quanto riguarda la distribuzione etnica, la popolazione è prevalentemente composta da donne di etnia caucasica (84,4%). Nel complesso, il campione appare omogeneo dal punto di vista antropometrico e sufficientemente rappresentativo della popolazione tipicamente afferente ai centri di PMA del contesto italiano, con una predominanza di soggetti in età riproduttiva avanzata e con BMI mediamente nei range di normopeso, fattori entrambi rilevanti nella valutazione degli outcomes riproduttivi.

Ai fini dell'analisi, la popolazione è stata suddivisa in due gruppi in base al livello di approfondimento del percorso di PMA e alla disponibilità di dati clinici e laboratoristici.

Il gruppo A, formato da 196 pazienti, comprende coloro che hanno svolto esclusivamente la valutazione preliminare, durante la quale sono stati raccolti i dati antropometrici e anamnestici, i livelli di ioduria basale, i parametri di funzionalità tiroidea (TSH, fT3 e autoimmunità tiroidea) e gli indicatori della riserva ovarica (AMH e AFC). Questo gruppo rappresenta la fase diagnostico-valutativa iniziale del percorso riproduttivo, in cui sono disponibili esclusivamente i dati di uno status basale.

Il gruppo B comprende 196 pazienti che hanno completato un ciclo di fecondazione in vitro mediante tecnica FIVET o ICSI. Per queste pazienti, oltre ai dati basali, sono stati raccolti i valori di TSH rilevati durante la COS e gli outcomes del percorso di PMA.

Sulla base della disponibilità delle determinazioni di ioduria, il gruppo B è stato suddiviso in tre sottogruppi.

- **Gruppo B1:** 89 pazienti (45,4%) con le misurazioni sia della ioduria basale sia della ioduria effettuata durante la stimolazione ovarica.
- **Gruppo B2:** 58 pazienti (29,6%) con esclusivamente la determinazione della ioduria basale.
- **Gruppo B3:** 49 pazienti (25%) con solo la misurazione della ioduria durante la stimolazione ovarica.

Questa suddivisione ha consentito di effettuare analisi dedicate sia sull'intera coorte sia sui sottogruppi specifici, al fine di valutare le associazioni tra stato iodico, abitudini alimentari, funzionalità tiroidea, riserva ovarica e outcomes della PMA nelle diverse fasi del percorso riproduttivo.

La valutazione dello stato iodico è stata effettuata mediante il dosaggio della ioduria, considerata il principale biomarcatore dello stato nutrizionale iodico a livello di popolazione. Il campione urinario è stato raccolto in condizioni basali, prima dell'inizio della stimolazione ovarica, e in un sottogruppo di pazienti anche durante la COS.

La determinazione della ioduria spot è stata utilizzata come indice indiretto dell'apporto iodico recente, in quanto riflette l'assunzione alimentare di iodio nei giorni precedenti il prelievo. I valori ottenuti sono stati espressi secondo le unità di

misura standard utilizzate dal laboratorio di riferimento ( $\mu\text{g/L}$ ) e interpretati in base ai cut-off internazionali proposti dall'OMS per la valutazione dello stato iodico nella popolazione, classificando in:

- deficit iodico severo per valori di UIC  $< 50 \mu\text{g/L}$ ;
- deficit lieve per valori compresi tra  $50\text{-}100 \mu\text{g/L}$ ;
- adeguato introito per valori di UIC  $> 100 \mu\text{g/L}$ .

In particolare, i livelli di ioduria sono stati analizzati sia come variabile continua sia, quando necessario, categorizzati in classi di adeguatezza.

Il questionario somministrato, finalizzato alla raccolta di informazioni sulle abitudini alimentari, sullo stile di vita e su alcuni fattori anamnestici delle partecipanti, ha indagato la frequenza di consumo delle principali fonti alimentari di iodio e di alimenti potenzialmente interferenti con il suo metabolismo. Tra questi sono stati inclusi: consumo di acqua, utilizzo di sale iodato, latte e derivati, carni bianche e rosse, uova, pesce e alghe. Sono stati inoltre valutati alimenti appartenenti alla famiglia delle crucifere e altri vegetali potenzialmente gozzigeni, quali cavoli, rape, senape, rafano e tapioca.

Il questionario ha inoltre raccolto informazioni relative all'abitudine al fumo di sigaretta, all'uso di integratori a base di iodio, al numero di gravidanze precedenti e al numero di aborti spontanei o interruzioni di gravidanza.

Infine, una sezione specifica è stata dedicata alla valutazione del livello di conoscenza delle pazienti riguardo alla campagna di iodoprofilassi in Italia.

Tale sezione ha permesso di esplorare il grado di consapevolezza delle partecipanti rispetto all'importanza dello iodio nella prevenzione dei disturbi tiroidei e nella salute riproduttiva.

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

- TSH sierico: nella popolazione generale è considerato fisiologico un intervallo compreso tra  $0,4\text{-}4 \text{ mIU/L}$ .  
Le linee guida internazionali raccomandano, nel periodo preconcezionale, il mantenimento di valori inferiori a  $2,5 \text{ mIU/L}$ , date le implicazioni

negative che un ipotiroidismo, anche subclinico, può esercitare sugli esiti della gravidanza. (79)(80)

Nell'analisi, il TSH è stato misurato sia nella fase basale sia durante la COS per il gruppo B, al fine di valutarne eventuali variazioni correlate al trattamento.

- fT3: i valori sono stati valutati allo stato basale secondo i range di riferimento (3,9 e 6,8 pmol/L) del laboratorio analisi di AOPD
- AbTg e AbTPO sierici: l'autoimmunità tiroidea è stata considerata come una variabile dicotomica, definita in base alla presenza o assenza degli autoanticorpi.

Lo stato di fertilità delle pazienti è stato valutato attraverso due parametri utili alla stima della riserva ovarica: AMH e AFC. Applicando i criteri di *Bologna*, le pazienti sono state classificando in base alla loro riserva ovarica in NOR e POR.

Nelle pazienti sottoposte a stimolazione ovarica controllata (gruppo B) sono stati analizzati diversi parametri chiave, al fine di valutare l'efficacia e la qualità del trattamento di PMA. In particolare, sono stati considerati:

- Numero totale di ovociti recuperati, corrispondente alla quantità di ovociti prelevati mediante aspirazione follicolare durante la procedura di pick-up.
- Numero di ovociti maturi, indicativo degli ovociti in uno stato di maturazione adeguato alla fertilizzazione (Metafase II).
- Tecnica di fertilizzazione utilizzata, distinguendo tra FIVET e ICSI.
- Numero totale di embrioni ottenuti, risultanti dal processo di fertilizzazione.
- Giornate di vita degli embrioni, riferite al numero di giorni di coltura in vitro (day 3 o day 5) prima del trasferimento o della crioconservazione; parametro utile per valutare la tempistica della coltura embrionale.
- Qualità degli embrioni, definita "top quality" per gli embrioni allo stadio di clivaggio (giorno 3) caratterizzati da cellule simmetriche, frammentazione <10% e assenza di anomalie morfologiche visibili, e per le blastocisti (giorno 5) classificate come 4AA o 5AA, secondo il sistema di classificazione Gardner-Schoolcraft.

## ANALISI DEI DATI

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software *MedCalc*<sup>®</sup> (version 23.5.3).

I dati raccolti dalle piattaforme *Fertilab* e *Galileo* sono stati preliminarmente sottoposti a una verifica di qualità, con esclusione dei casi caratterizzati da dati mancanti non recuperabili per le variabili chiave. Successivamente, il dataset è stato sottoposto a un processo di *data cleaning*, che ha previsto l'identificazione e l'esclusione dei valori outlier, al fine di ridurre possibili distorsioni nei risultati. Le variabili continue basali e in fase di stimolazione (età, BMI, ioduria, TSH, fT3, AMH, AFC e parametri relativi agli esiti di PMA) sono state preliminarmente valutate per la distribuzione mediante test di normalità *Shapiro-Wilk* e riportate con la mediana e intervallo interquartile (IQR 25°–75° percentile), in considerazione della distribuzione non Gaussiana. È stata condotta un'analisi descrittiva completa, accompagnata da rappresentazioni grafiche *Box and Whisker plot*, per valutarne la distribuzione e la variabilità.

Le correlazioni bivariate tra le principali variabili di interesse sono state analizzate mediante coefficiente di correlazione di *Spearman*, con particolare attenzione all'associazione tra stato iodico, abitudini alimentari, funzionalità tiroidea (TSH e fT3), riserva ovarica (AMH e AFC) e parametri della PMA (numero di ovociti totali e maturi, embrioni ottenuti e qualità embrionaria). I risultati sono stati espressi mediante il coefficiente  $r$  e il relativo *p-value*, considerando statisticamente significativi i valori di  $p < 0.05$ .

Per le correlazioni statisticamente significative di rilevanza clinica per gli obiettivi dello studio, è stata eseguita un'analisi di regressione lineare semplice, al fine di valutare il potere predittivo delle variabili indipendenti sulle variazioni sulle variabili dipendenti, stimandone l'andamento lineare.

Le variabili sono state opportunamente categorizzate per alcune analisi, includendo la classificazione della ioduria in classi di deficit e la dicotomizzazione di variabili quali riserva ovarica e qualità embrionaria.

Il confronto tra gruppi per variabili continue è stato effettuato mediante test non parametrici: *Mann–Whitney U test* per confronti a due gruppi e *Kruskal–Wallis test*

per confronti multipli. Le variabili categoriali tra loro sono state analizzate mediante *test del chi-quadrato*.

Nel sottogruppo B1, in cui erano disponibili sia i valori basali sia quelli relativi alla COS, è stata effettuata un'analisi intraindividuale mediante *test di Wilcoxon* per dati appaiati. Inoltre, il confronto tra iodurie dicotomizzate ai tempi T0 e T1 è stato eseguito mediante *test di McNemar*.

Le informazioni relative alle abitudini alimentari sono state ricodificate in forma dicotomica, distinguendo tra consumo frequente e consumo saltuario/assente, e analizzate mediante *test non parametrico di Mann-Whitney* per valutare l'eventuale associazione tra il consumo di specifici alimenti e i livelli di ioduria.

Infine, i dati sono stati rappresentati graficamente mediante tabelle e grafici (*scatter plot, bar chart e violin dots plot*), al fine di facilitarne l'interpretazione e visualizzare la distribuzione delle osservazioni.

## RISULTATI

In questo capitolo vengono presentati i risultati ottenuti dall'analisi dei dati raccolti nello studio. I risultati sono riportati in forma descrittiva e analitica mediante tabelle e grafici, al fine di evidenziare le principali caratteristiche del campione e le associazioni osservate tra le variabili investigate. L'interpretazione critica dei risultati e il loro confronto con la letteratura scientifica saranno trattati nel capitolo successivo.

In una prima fase sono state analizzate le variabili demografiche, antropometriche e cliniche (funzionalità tiroidea e riserva ovarica) dell'intera coorte e dei principali sottogruppi di studio (gruppo A e gruppo B), presenti in *Tabella III*. Il confronto tra il gruppo A e il gruppo B non ha evidenziato differenze statisticamente significative per le variabili basali analizzate, suggerendo una sostanziale omogeneità delle due coorti in termini di caratteristiche cliniche e biochimiche.

Per le variabili continue incluse nell'analisi, i dati sono stati descritti mediante mediana e IQR, in considerazione della distribuzione non Gaussiana delle stesse.

| <b>Variabile</b>         | <b>Totale (n=392)</b> | <b>Gruppo A<br/>(n=196)</b> | <b>Gruppo B<br/>(n=196)</b> |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Età (anni)               | 36 [33-39]            | 36 [32-39]                  | 35,5 [33-39]                |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 22,9 [20,7-25,9]      | 23 [20,6-26,4]              | 22,9 [20,7-25,7]            |
| Etnia caucasica (%)      | 84,4% (331/392)       | 78,6% (154/196)             | 90% (177/196)               |
| Ioduria (µg/L)           | 68 [30-136]           | 70 [30-148]                 | 65 [30-122]                 |
| TSH (mIU/L)              | 2,02 [1,39-2,77]      | 2,03 [1,38-2,8]             | 2 [1,41-2,71]               |
| ft3 (pmol/L)             | 5,02 [4,58-5,51]      | 5,06 [4,6-5,47]             | 4,99 [4,58-5,55]            |
| AMH (pmol/L)             | 11,7 [5,35-22,83]     | 11,25 [3,8-23,35]           | 12,3 [6,9-22,1]             |
| AFC                      | 12 [7-21]             | 11 [6-20]                   | 13 [7-21]                   |
| POR (%)                  | 25,8% (101/392)       | 28,6% (56/196)              | 23% (45/196)                |
| Anti-TPO (%)             | 15,5% (61/392)        | 13% (25/196)                | 18% (36/196)                |
| Anti-TG (%)              | 7% (27/392)           | 7% (14/196)                 | 6,5% (13/196)               |

*Tabella III: mediana [IQR] e % dei valori basali della coorte, del gruppo A e gruppo B*

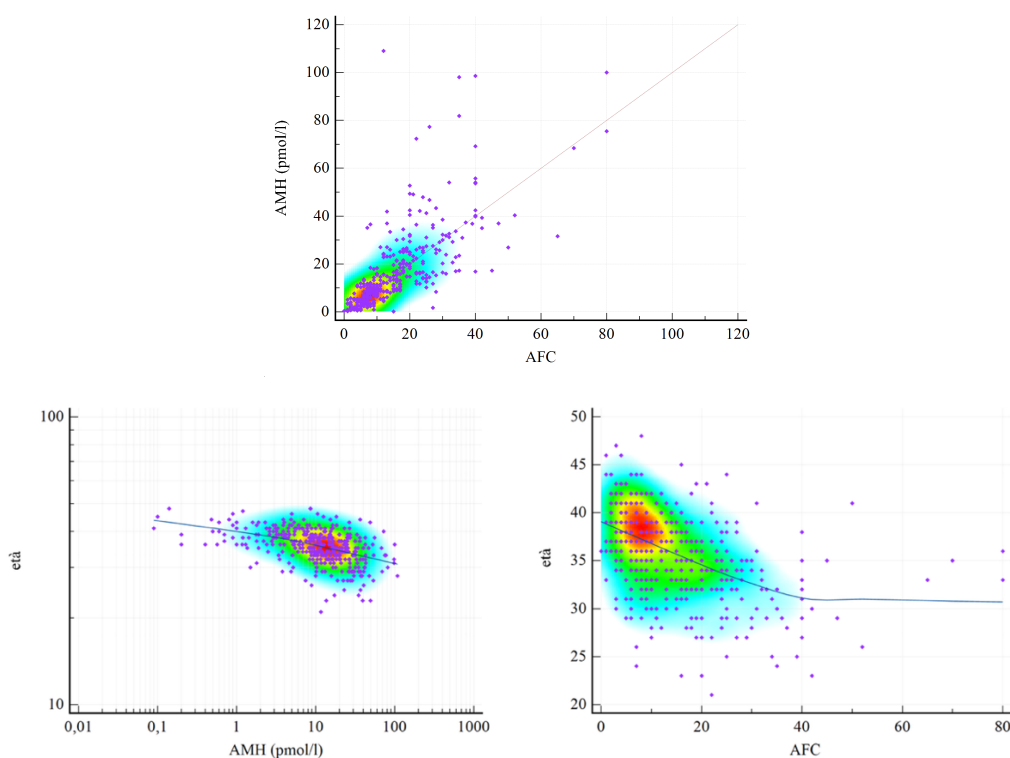
In considerazione della distribuzione non Normale delle variabili ed esclusi alcuni valori outlier di ioduria basale, le correlazioni tra variabili continue sono state analizzate utilizzando il coefficiente di *Spearman*; quelle risultate con correlazione significativa sono riportate in *Figura 5*. L'analisi ha evidenziato una correlazione positiva tra AMH e AFC ( $r = 0,71$ ,  $p < 0,0001$ ) e una correlazione inversa tra età e AMH ( $r = -0,39$ ,  $p < 0,0001$ ) e tra età e AFC ( $r = -0,39$ ,  $p < 0,0001$ ), in linea con la nota riduzione della riserva ovarica con l'avanzare dell'età.

I due parametri della riserva ovarica sono stati inoltre correlati con il parametro BMI, evidenziando rilevanza statistica: BMI-AMH ( $p=0,04$   $r=0,1$ ) e BMI-AFC ( $p=0,028$  e  $r=0,1$ ).

È stata osservata una correlazione positiva tra ioduria e AFC ( $r = 0,13$ ;  $p = 0,023$ ) e tra ioduria e i livelli di AMH ( $r = 0,17$ ;  $p = 0,002$ ). In entrambi i casi si osserva un'associazione, sebbene di modesta intensità.

È stata inoltre osservata una tendenza positiva tra AMH e TSH, suggerendo una possibile interazione tra asse tiroideo e funzione ovarica, che tuttavia non ha raggiunto la significatività statistica ( $p = 0,06$ ).

Le restanti correlazioni non hanno mostrato associazioni tra le variabili considerate.



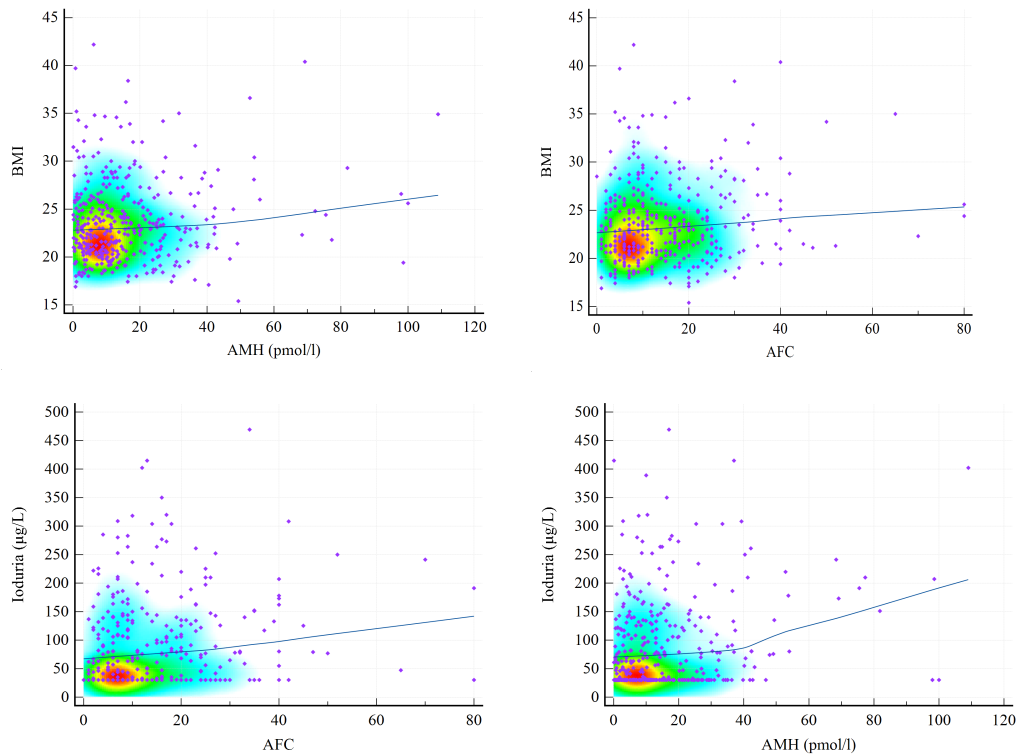


Figura 5. Scatter plot con heat map delle correlazioni statisticamente significative: AFC-AMH, AMH-età, AFC-età, AMH-BMI, AFC-BMI, AFC-Ioduria, AMH-Ioduria

Per l'analisi di correlazione bivariata tra ioduria e parametri di riserva ovarica, è stata fatta un'analisi di regressione lineare semplice, che ha confermato il ruolo predittivo della ioduria basale sui parametri di riserva ovarica (Figura 6). Per quanto riguarda AFC, il modello ha mostrato una relazione lineare con coefficiente  $\beta = 0,0196$  (95% CI: 0,002713-0,0365) e un  $R^2 = 0,016$ , mentre per AMH coefficiente  $\beta = 0,0346$  (95% CI: 0,0128-0,0564) e un  $R^2 = 0,029$ , indicando che la ioduria spiega solo una minima parte della variabilità della riserva ovarica

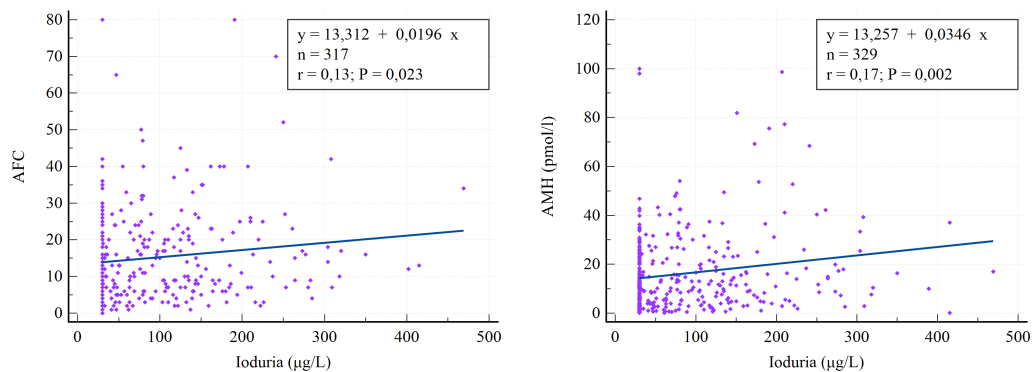


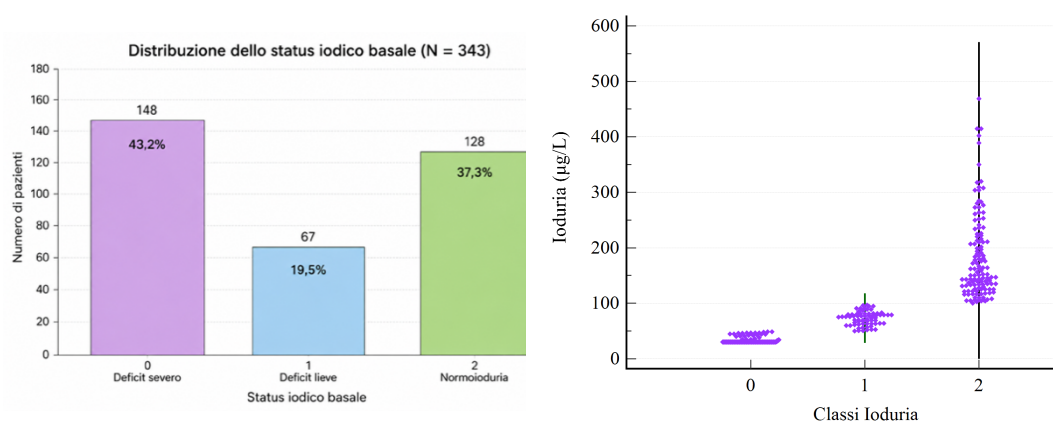
Figura 6. Scatter diagram con linea di regressione delle variabili ioduria-AFC e ioduria-AMH

Considerata la rilevanza clinica della variabile “ioduria”, le iodurie basali delle pazienti con valore disponibile, pari a 343 (gruppo A, B1, B2), sono state inizialmente dicotomizzate, distinguendo i soggetti con deficit iodico dai soggetti con valori di ioduria nella norma, rispettivamente 63% e 37%.

Successivamente, al fine di caratterizzare in maniera più dettagliata il grado di carenza iodica, la variabile è stata ripartita in tre classi con le seguenti percentuali:

- Classe 0 (severo deficit iodico con ioduria  $< 50 \mu\text{g}$ ): 43%.
- Classe 1 (deficit iodico lieve/moderato con ioduria  $50\text{-}99 \mu\text{g}$ ): 20%.
- Classe 2 (adeguato apporto iodico con ioduria  $\geq 100 \mu\text{g/L}$ ): 37%.

Questi dati (*Figura 7*) indicano che oltre il 60% delle pazienti che accedono a trattamenti di PMA ha uno stato iodico insufficiente, suggerendo una carenza iodica diffusa anche in una popolazione clinicamente selezionata.



*Figura 7. Bar chart (a sx): % di pazienti per classi di Ioduria basale. Grafico di distribuzione (a dx) dei valori di Ioduria basale per classi.*

Dopo la suddivisione nelle tre classi, è stato eseguito un confronto tra i principali parametri e le tre classi iodiche, come riportato nella *Tabella IV*.

| Variabili                | Classe 0           | Classe 1          | Classe 2           | <i>p</i> - value |
|--------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|
| n (%)                    | 43,2%<br>(148/343) | 19,5%<br>(67/343) | 37,3%<br>(128/343) | /                |
| Età                      | 36 [34-39]         | 35 [32-40]        | 35 [32-39]         | 0,23             |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 22,8 [20,7-25,5]   | 23,5 [20,5-27,9]  | 23 [21-25,9]       | 0,62             |
| TSH (mIU/L)              | 2,12 [1,31-2,78]   | 1,87 [1,39-2,49]  | 1,95 [1,47-2,92]   | 0,54             |
| ft3 (pmol/L)             | 5 [4,57-5,44]      | 5,21 [4,88-5,72]  | 4,98 [4,53-5,45]   | 0,07             |
| AMH (pmol/L)             | 11 [4,07-21,38]    | 12,9 [5,28-27,75] | 11,8 [5,5-23,18]   | 0,36             |
| AFC                      | 10 [6-18]          | 16 [6-24]         | 13 [7-22]          | 0,047            |
| POR (%)                  | 31% (46/148)       | 28% (19/67)       | 23% (30/128)       | 0,36             |

*Tabella IV: Variabili ripartite per classi di ioduria basale*

L'analisi delle variabili basali stratificate per classi di ioduria, condotta mediante il *Kruskal-Wallis test*, non ha mostrato differenze significative tra i gruppi per età, BMI, TSH, ft3 e AMH. Al contrario, per quanto riguarda l'AFC, è stata osservata una differenza statisticamente significativa tra i gruppi ( $p = 0,047$ ), con valori più elevati nei soggetti con deficit iodico lieve rispetto a quelli con normoioduria. Tuttavia, tale risultato deve essere interpretato con cautela e necessita di ulteriori approfondimenti.

La distribuzione della scarsa riserva ovarica nelle tre classi di ioduria basale, analizzata mediante *Chi-quadrato test*, sottolinea un trend decrescente della frequenza di POR con il miglioramento dello stato iodico. Tale differenza non raggiunge la significatività statistica, tuttavia la percentuale di pazienti POR risulta in calo (*Figura 8*): 31% nella classe di deficit severo, 28% nella classe di deficit lieve e 23% nei soggetti con normoioduria.

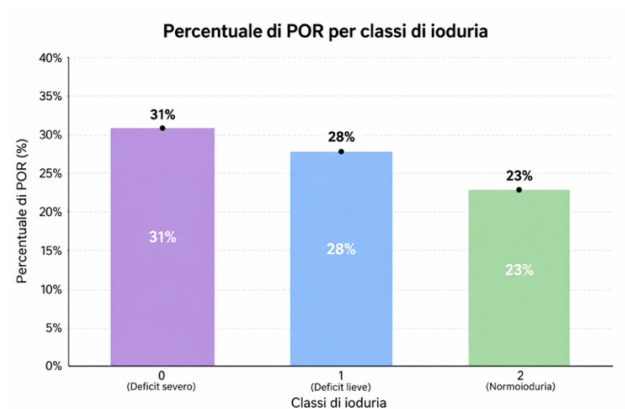


Figura 8. Bar chart: classi Ioduria basale-% POR

L'analisi è stata successivamente applicata al gruppo di pazienti sottoposto al percorso di PMA, al fine di valutare il possibile impatto dello stato iodico sugli esiti della stimolazione ovarica controllata e sugli outcomes embrionali. Nel gruppo di pazienti sottoposte a PMA (gruppo B, n=196), 31% sono state trattate mediante FIVET, mentre 65 % hanno effettuato ICSI. Nel 4% dei casi il ciclo non è stato completato, in quanto al momento del pick-up ovarico non sono stati ottenuti ovociti maturi.

Le variabili del gruppo B, dopo aver testato la normalità mediante *test di Shapiro-Wilk* e aver stabilito la distribuzione non Gaussiana, sono state rappresentate con mediana e IQR in *Tabella V*.

| Variabile                             | Gruppo B (n=196) |
|---------------------------------------|------------------|
| Ioduria stimolata ( $\mu\text{g/L}$ ) | 73 [30-132]      |
| TSH stimolato (mIU/L)                 | 2,13 [1,5-2,7]   |
| Ovociti al pick-up (OPU)              | 10 [6-16]        |
| Ovociti maturi (OMII)                 | 8 [4-12]         |
| Embrioni                              | 2 [1-4]          |
| Top quality (%)                       | 75 % (147/196)   |

Tabella V: variabili del gruppo B

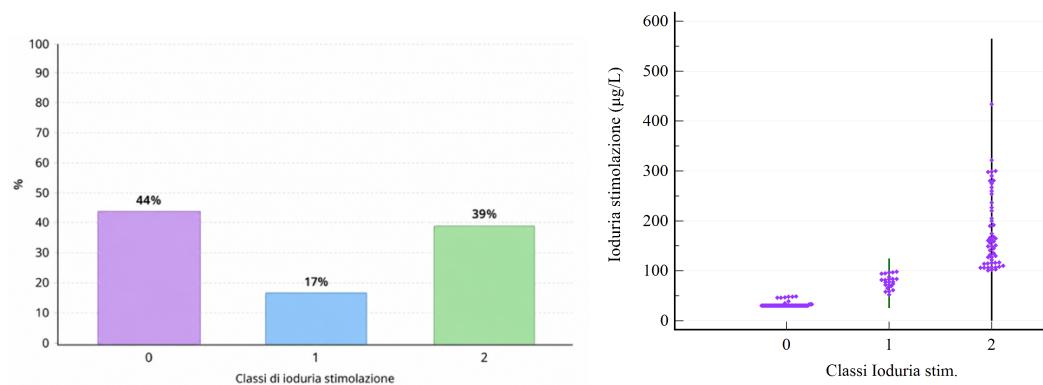
L'analisi di correlazione tra le variabili continue non ha evidenziato associazioni statisticamente significative. In particolare, la ioduria stimolata non ha mostrato correlazioni significative con il TSH stimolato ( $p=0,18$ ), con i parametri di riserva ovarica (AMH e AFC) e con gli esiti di PMA (OPU, OMII ed Embrioni), tutti con

$p > 0,05$ . Analogamente, il TSH stimolato non è risultato correlato con gli stessi parametri.

È stato inoltre analizzato il gruppo B1. È stata effettuata un'analisi intraindividuale dei valori di ioduria e TSH tra lo stato basale (T0) e durante la stimolazione ovarica (T1). Non sono emerse differenze statisticamente significative per entrambe le variabili analizzate. In particolare, i livelli di ioduria non hanno mostrato variazioni rilevanti tra i due tempi di osservazione ( $p=0,4$ ). Analogamente, anche i valori di TSH in T0 e T1 non differiscono in modo significativo ( $p=0,56$ ). Anche attraverso il *McNemar test*, non c'è differenza e la distribuzione tra i gruppi dicotomizzati di ioduria a T0 e T1 rimane sostanzialmente invariata ( $p=0,49$ ), suggerendo una sostanziale stabilità dello stato iodico.

Si è proceduto quindi a un'ulteriore analisi mediante categorizzazione della ioduria durante la COS, presente come valore nel gruppo B1 e B3 ( $n=138$ ). Suddividendo il pool con una stratificazione dicotomica e tricotomica, sulla base dei cut-off di ioduria, sono risultate le seguenti percentuali (*Figura 9*):

- 39% presenta valori di normoioduria;
- 61% presenta deficit iodico, di cui:
  - 44% deficit severo;
  - 17% deficit lieve.



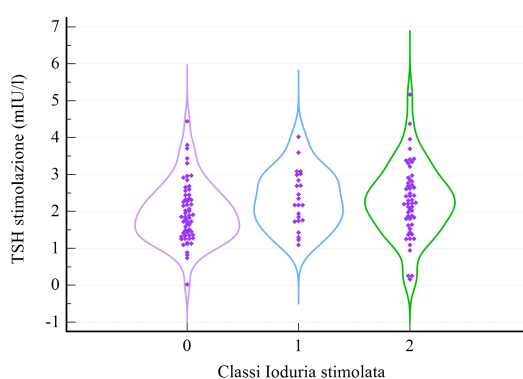
*Figura 9. Bar chart (a sx): % di pazienti per classi di Ioduria durante la COS. Grafico di distribuzione (a dx) dei valori di Ioduria in stimolazione per classi.*

L'analisi delle tre classi di ioduria in fase di stimolazione non ha mostrato associazioni statisticamente significative con le variabili considerate (*Tabella VI*). Tuttavia, i livelli di TSH durante la stimolazione hanno evidenziato una tendenza a

un'associazione positiva con le classi di ioduria, pur non raggiungendo la significatività statistica ( $p=0,054$ ) (*Figura 10*).

| Variabile          | Classe 0           | Classe 1            | Classe 2            | p-value |
|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------|
| TSH stimolato      | 1,86<br>[1,35-2,4] | 2,17<br>[1,75-2,95] | 2,23<br>[1,64-2,81] | 0,054   |
| Ovociti al pick-up | 11 [7-17]          | 7 [3-18]            | 11 [6-16]           | 0,27    |
| Ovociti maturi     | 9 [6-14]           | 4 [2-10]            | 8 [4-11]            | 0,092   |

*Tabella VI: variabili ripartite per le classi di ioduria (stimolata)*



*Figura 10. Grafico violin dots plot: trend positivo di TSH (stim.) nelle tre classi*

Successivamente, la popolazione è stata ulteriormente stratificata sulla base della riserva ovarica, definita secondo i criteri di Bologna, consentendo di suddividere la popolazione in due gruppi: 70% NOR e 26% POR (4% non aveva dati sufficienti per stabilire la Riserva Ovarica).

Il confronto tra i due gruppi, svolto con *Mann-Whitney test (independent samples)*, ha evidenziato differenze statisticamente significative per le seguenti variabili: AMH, AFC, ovociti OPU, ovociti maturi ed embrioni, evidenziate in verde nella *Tabella VII* e nei grafici della *Figura 11*. Inoltre, NOR/POR sono state messe in correlazione con i valori di Top quality dell'embrione attraverso il *Chi-squared test*, trovando significatività statistica, rappresentata nella *Figura 12*.

| <b>Variabile</b>         | <b>POR</b>       | <b>NOR</b>          | <b><i>p-value</i></b> |
|--------------------------|------------------|---------------------|-----------------------|
| n (%)                    | 26%              | 70%                 | /                     |
| Ioduria basale (µg/L)    | 53 [30-116]      | 76 [30-144]         | 0,1                   |
| TSH basale (mIU/L)       | 1,92 [1,35-2,73] | 2,06 [1,42-2,80]    | 0,38                  |
| fT3 (pmol/L)             | 4,98 [4,6-5,3]   | 5,06 [4,6-5,6]      | 0,28                  |
| AMH (pmol/L)             | 3,3 [2,79-4]     | 16,35 [14,83-18,11] | <0,0001               |
| AFC                      | 4 [3-6]          | 17 [10-25]          | <0,0001               |
| Ioduria stimolata (µg/L) | 98 [71-145]      | 52 [33-85]          | 0,099                 |
| TSH stimolata (mIU/L)    | 2,17 [1,4-2,7]   | 2,1 [1,5-2,7]       | 0,99                  |
| Ovociti OPU              | 4 [2-7]          | 13 [8-19]           | <0,0001               |
| Ovociti maturi           | 3 [1-6]          | 9 [6-13]            | <0,0001               |
| Embrioni                 | 2 [1-3]          | 2,5 [1-4]           | 0,0065                |
| Top quality (%)          | 65%              | 81%                 | 0,028                 |

*Tabella VII: Confronto delle variabili riportate tra POR e NOR*

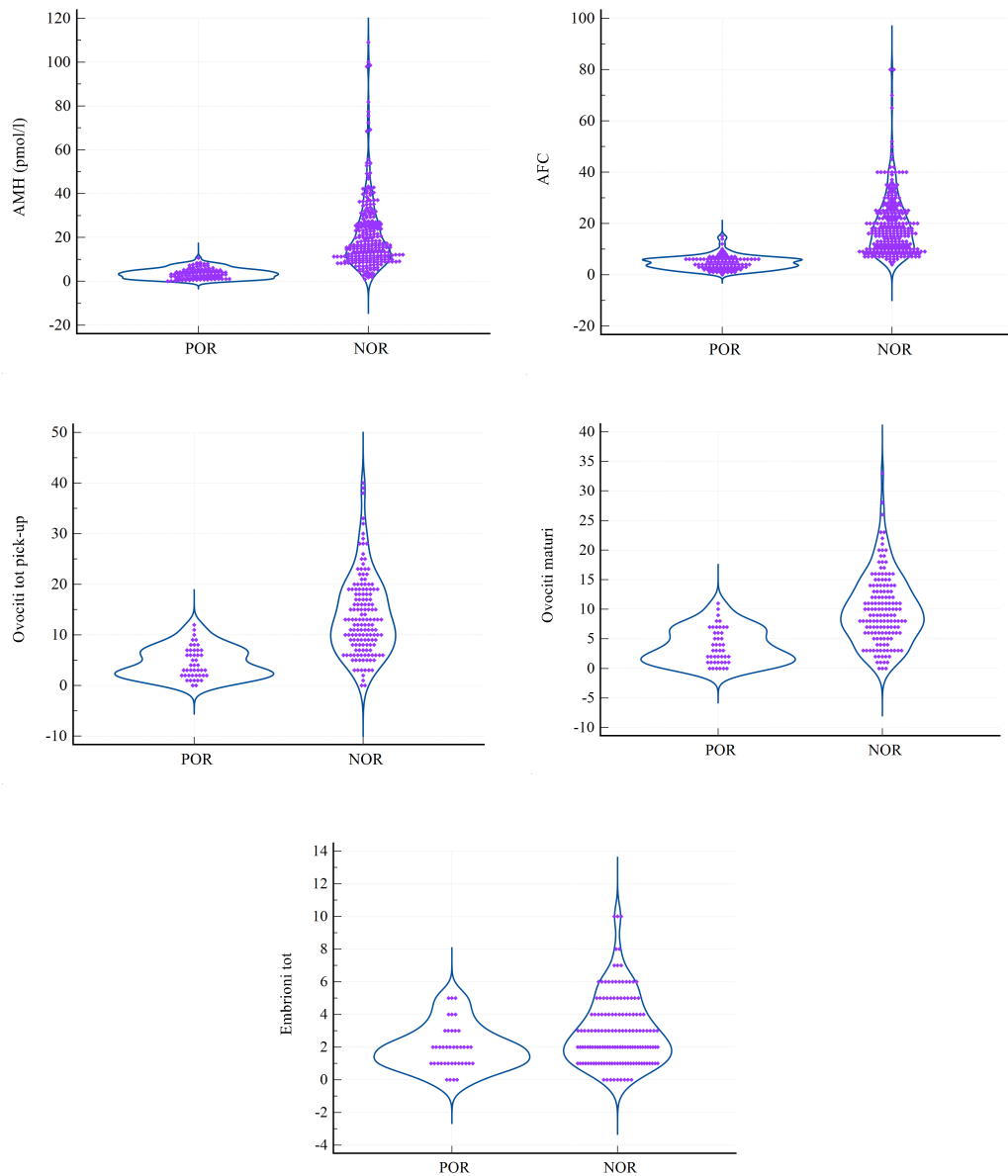


Figura 11. Violin dots plot: Distribuzione dei livelli di AMH (1), AFC (2), Ovociti al pick-up (3), Ovociti maturi (4), Embrioni tot (5), stratificati in POR e NOR, in base alla riserva ovarica.

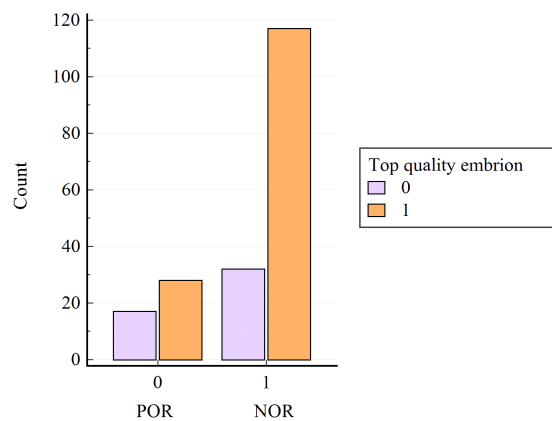


Figura 12. Frequencies chart: Riserva ovarica e Top quality embrion

Dopo l'analisi in relazione ai gruppi NOR e POR, la popolazione è stata ulteriormente stratificata in due sottogruppi in base ai seguenti parametri:

- stato autoimmune (Ab anti-TPO e Ab anti-TG presenti/assenti);
- principali indicatori di riserva ovarica, AMH e AFC, con cut-off imposti dai criteri di *Bologna (Tabella VIII)*;
- qualità embrionaria sulla base dei criteri di classificazione per gli stadi di clivaggio e di blastocisti (*Tabella IX*).

Il confronto tra i gruppi 0 e 1, definiti in base alla presenza o assenza di autoimmunità tiroidea, non ha evidenziato differenze statisticamente significative per le variabili analizzate.

Per AMH non ci sono correlazioni significative, ma si può sottolineare un trend positivo con ioduria basale e con fT3; per AFC c'è rilevanza statistica con la ioduria basale, un trend positivo con fT3 e un'associazione *bordeline* con TSH stimolata (*Figura 13*).

| Variabile                | AFC gruppo 0     | AFC gruppo 1     | p-value |
|--------------------------|------------------|------------------|---------|
| Ioduria basale (µg/L)    | 47 [30-108]      | 77 [30-144]      | 0,013   |
| Ioduria stimolata (µg/L) | 88 [30-156]      | 69 [30-127]      | 0,33    |
| TSH basale (mIU/L)       | 1,95 [1,38-2,76] | 2,05 [1,44-2,79] | 0,71    |
| TSH stimolazione (mIU/L) | 1,75 [1,35-2,49] | 2,18 [1,51-2,79] | 0,057   |
| fT3 (pmol/L)             | 4,97 [4,59-5,41] | 5,07 [4,61-5,60] | 0,14    |

| Variabile                | AMH gruppo 0     | AMH gruppo 1     | p-value |
|--------------------------|------------------|------------------|---------|
| Ioduria basale (µg/L)    | 60 [30-123]      | 76 [53-81]       | 0,24    |
| Ioduria stimolata (µg/L) | 84 [20-140]      | 59 [30-133]      | 0,47    |
| TSH basale (mIU/L)       | 1,95 [1,34-2,74] | 2,06 [1,42-2,81] | 0,5     |
| TSH stimolazione (mIU/L) | 2,15 [1,47-2,68] | 2,11 [1,49-2,71] | 0,97    |
| fT3 (pmol/L)             | 4,96 [4,64-5,34] | 5,07 [4,57-5,7]  | 0,16    |

*Tabella VIII: Confronto con il test di Mann-Witney dei valori di AFC e AMH nei gruppi 0 e 1. I dati sono espressi come mediana (IQR); il valore di p è riportato in tabella.*

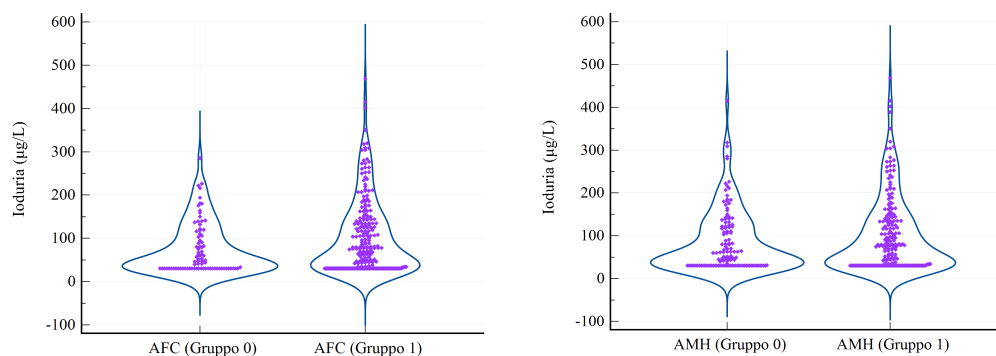


Figura 13: Violin dots plot di Ioduria stratificata nei gruppi 0/1 di AFC e AMH.

L'analisi comparativa tra i gruppi 0 e 1 di qualità embrionaria (top quality) ha evidenziato differenze statisticamente significative nei valori di TSH stimolato, AMH, AFC, numero di ovociti prelevati (OPU) e ovociti maturi (MII), indicando una diversa distribuzione di tali parametri nei due gruppi (Figura 14).

| Variabile                | Top quality 0     | Top quality 1     | p-value |
|--------------------------|-------------------|-------------------|---------|
| Ioduria basale (µg/L)    | 56,5 [30-107]     | 69 [30-125]       | 0,53    |
| Ioduria stimolata (µg/L) | 77,5 [34-115]     | 63 [30-141]       | 0,54    |
| TSH basale (mIU/L)       | 1,88 [1,39-2,69]  | 2,05 [1,41-2,75]  | 0,59    |
| TSH stimolazione (mIU/L) | 1,9 [1,39-2,31]   | 2,19 [1,56-2,82]  | 0,043   |
| fT3 (pmol/L)             | 4,98 [4,62-5,55]  | 5,01 [4,57-5,58]  | 0,95    |
| AMH (pmol/L)             | 8,57 [4,88-13,08] | 14,8 [7,88-24,65] | 0,0001  |
| AFC                      | 9 [6-17]          | 15 [9-22]         | 0,003   |
| OPU                      | 6 [2-10]          | 12 [7-18]         | <0,0001 |
| OMII                     | 3 [1-7]           | 9 [6-13]          | <0,0001 |

Tabella IX: Confronto con test di Mann-Whitney dei valori di Top quality embrionaria (gruppi 0 e 1), riportati con mediana (IQR); presente il valore di p-value.

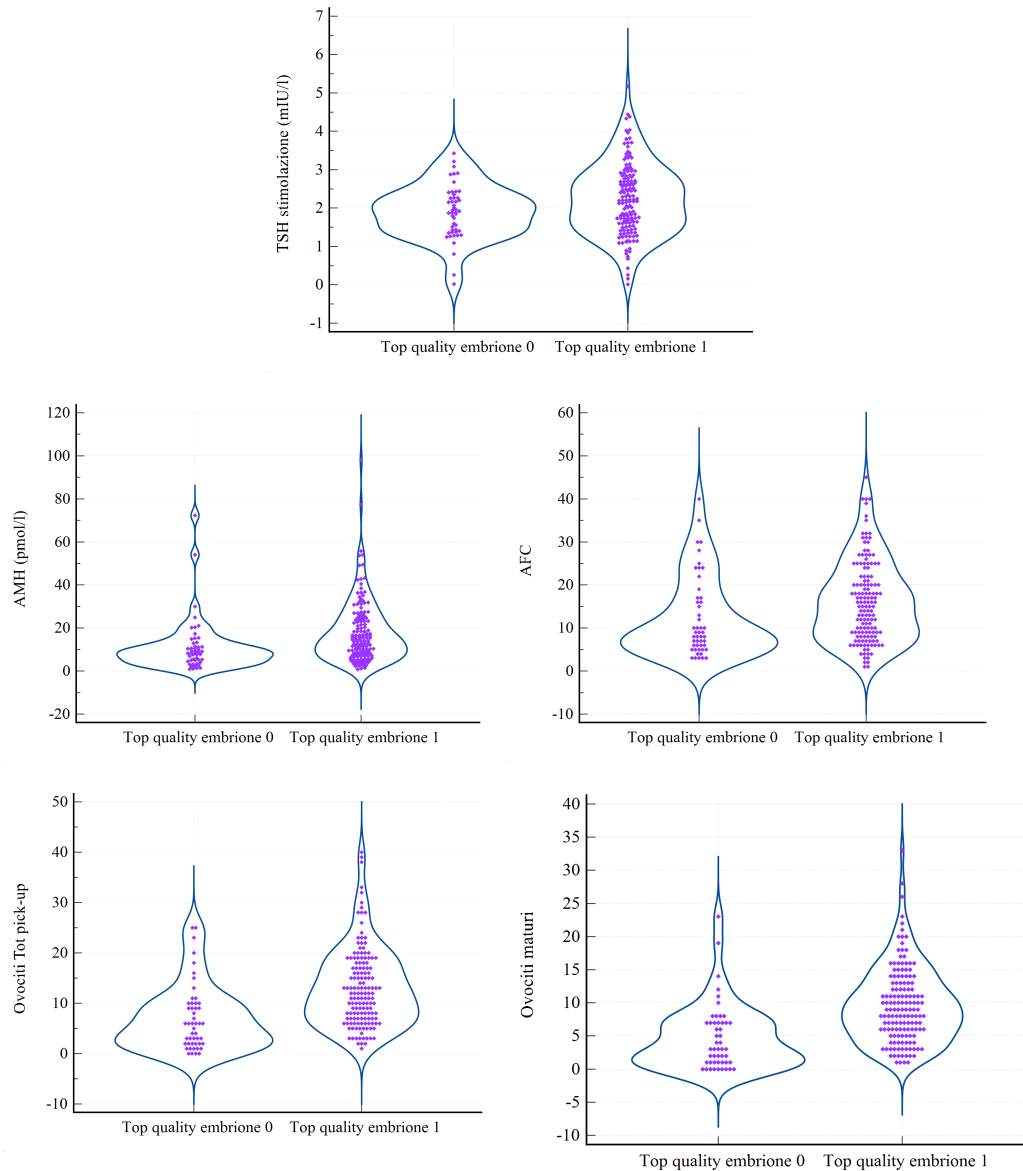


Figura 14. Violin dots plot di TSH stim (1), AMH (2), AFC (3), OPU (4), OMII (5) stratificati nei gruppi 0/1 di Top quality

Infine, vengono riportati i risultati relativi alle abitudini alimentari e alla conoscenza delle strategie di iodoprofilassi, raccolti mediante questionario dedicato.

Per ciascuna domanda relativa ai singoli alimenti, le risposte sono state ricodificate in forma dicotomica: gruppo 0, comprendente le pazienti che riferivano un consumo assente o saltuario dell'alimento, e gruppo 1, comprendente le pazienti con consumo regolare settimanale o quotidiano.

Per la variabile relativa agli alimenti ad effetto gozzigeno, sono state considerate cinque domande relative al consumo di alimenti noti per tale effetto (tapioca,

crucifere, rape, senape, rafano). Le pazienti sono state classificate nel gruppo 1 qualora riferissero un consumo positivo in almeno due delle cinque domande, mentre sono state incluse nel gruppo 0 in caso contrario.

Tale classificazione ha consentito di effettuare successive analisi comparative tra i gruppi, al fine di valutare l'eventuale associazione tra le abitudini alimentari e i livelli di ioduria basale e stimolata (*Tabella X*).

| Alimento    | Gruppo<br>0   | Gruppo<br>1    | Ioduria basale |                | p     | Ioduria stim.  |                 | p    |
|-------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-------|----------------|-----------------|------|
|             |               |                | 0              | 1              |       | 0              | 1               |      |
| Sale iodato | 94<br>(46,5%) | 108<br>(53,5%) | 53<br>[30-152] | 70<br>[30-136] | 0,67  | 51<br>[30-116] | 73<br>[30-145]  | 0,37 |
| Latte       | 154<br>(76%)  | 48<br>(24%)    | 60<br>[30-136] | 77<br>[30-147] | 0,7   | 49<br>[30-130] | 77<br>[32-106]  | 0,6  |
| Pesce       | 163<br>(81%)  | 39<br>(19%)    | 60<br>[30-132] | 76<br>[30-170] | 0,78  | 48<br>[30-116] | 106<br>[44-145] | 0,14 |
| Uova        | 133<br>(66%)  | 69<br>(34%)    | 63<br>[30-134] | 70<br>[30-149] | 0,59  | 48<br>[30-116] | 75<br>[32-164]  | 0,14 |
| Alghe       | 186<br>(92%)  | 16<br>(8%)     | 56<br>[30-140] | 79<br>[52-136] | 0,18  | 65<br>[30-116] | 115<br>[30-250] | 0,66 |
| Integratori | 145<br>(72%)  | 57<br>(28%)    | 66<br>[30-147] | 64<br>[30-132] | 0,56  | 49<br>[30-116] | 106<br>[34-123] | 0,15 |
| Gozzigeni   | 181<br>(90%)  | 21<br>(10%)    | 60<br>[30-133] | 90<br>[44-181] | 0,065 | 71<br>[30-117] | 46<br>[30-78]   | 0,47 |

*Tabella X: Distribuzione del consumo alimentare (gruppi 0 e 1) e confronto dei livelli di ioduria basale e durante stimolazione. Dati espressi con n (%) e mediana (IQR); confronto mediante test di Mann-Whitney*

L'analisi del consumo alimentare, suddiviso in gruppi 0 (uso assente/saltuario) e 1 (uso regolare), non ha evidenziato differenze statisticamente significative nei livelli di ioduria basale e durante stimolazione per nessuno degli alimenti considerati. Tuttavia, si osserva una tendenza a valori mediani di ioduria più elevati nel gruppo 1 rispetto al gruppo 0 per l'assunzione di integratori di iodio e per gli alimenti noti ad aumentare l'intake iodico: sale iodato (*Figura 15*), latte, pesce, uova, alghe. In particolare, si evidenzia un trend positivo nei valori di ioduria durante stimolazione nei gruppi con consumo regolare di pesce, uova e integratori, pur in assenza di significatività.

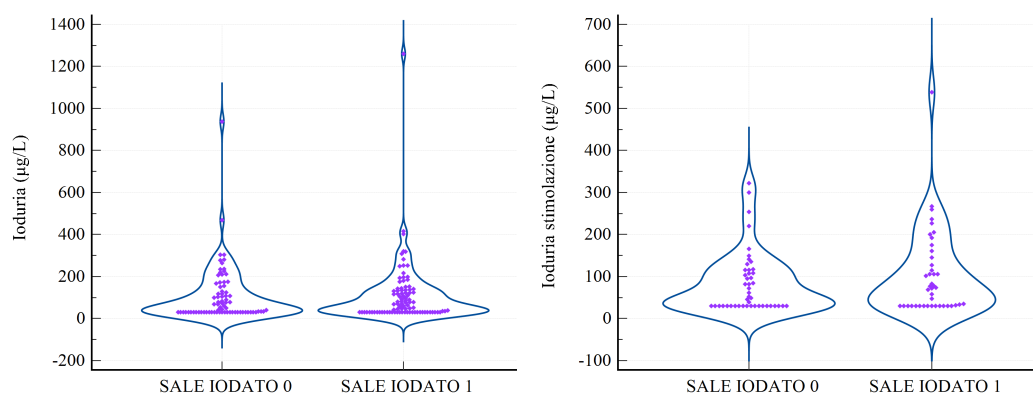


Figura 15. Violin dots plot: distribuzione di ioduria basale (a sx) e stimolata (a dx) in base all'uso di integratori di iodio

È stata inoltre condotta un'analisi mediante *test del chi-quadrato* tra il consumo di integratori (gruppo 0 vs gruppo 1) e la ioduria stimolata dicotomizzata, evidenziando un'associazione statisticamente significativa tra le due variabili ( $p = 0,033$ ) in Figura 16.

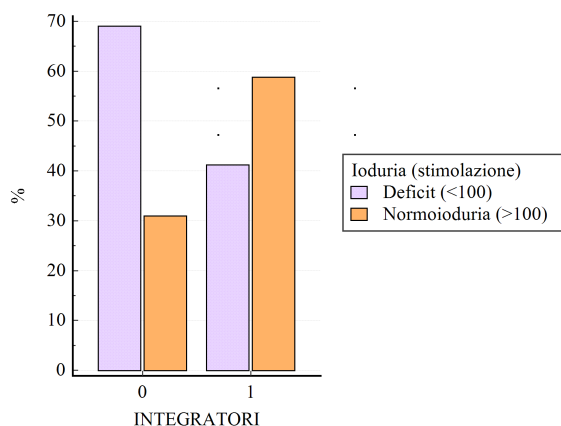


Figura 16. Bar chart: classi Ioduria stim. stratificate per uso di integratori iodici

Attraverso il questionario, si è indagata anche l'attività tabagica della popolazione, che è stata suddivisa in due gruppi: nel gruppo 0 sono stati inclusi i soggetti non fumatori e gli ex-fumatori, mentre nel gruppo 1 sono stati inseriti i soggetti fumatori attivi con consumo quotidiano.

L'analisi dell'attività tabagica non ha evidenziato differenze dal punto di vista statistico tra i due gruppi in termini di ioduria basale e livelli di TSH (rispettivamente  $p=0,88$  e  $p=0,29$ ), tuttavia i valori mediani risultano più elevati nel gruppo che non ha l'abitudine del fumo. In particolare, i soggetti non fumatori (gruppo 0) presentano valori mediani di ioduria pari a 68 [30–134] e livelli di TSH

pari a 2,03 [1,39–2,71], mentre nei fumatori (gruppo 1) si osservano valori mediani di ioduria pari a 56 [30–135] e di TSH pari a 1,7 [1,18–2,38].

Al termine dell'analisi sulle abitudini alimentare e tabagica, è stata inoltre valutata la conoscenza e la percezione delle misure di iodoprofilassi da parte delle pazienti. Dall'analisi delle risposte emerge una scarsa consapevolezza della campagna di iodoprofilassi in Italia, nota solo al 6,4% del campione (13/202), mentre il 93,6% (189/202) ne riferisce la non conoscenza. L'analisi comparativa non ha mostrato differenze statisticamente significative tra le pazienti consapevoli e quelle non consapevoli della campagna in base all'età ( $p=0,55$ ) o all'etnia ( $p=0,92$ ). Analogamente, il confronto sui valori di ioduria basale non ha raggiunto la significatività statistica ( $p=0,4$ ); tuttavia, a livello descrittivo si osserva un trend clinico con valori mediani di ioduria più bassi nel gruppo che ignorava la campagna (60  $\mu\text{g/L}$  [30-134]) rispetto al gruppo informato, che mostra una mediana di 107  $\mu\text{g/L}$  [32-146], valore quest'ultimo che si colloca al di fuori della soglia di deficit iodico. Un andamento sovrapponibile è stato riscontrato per i valori di ioduria registrati durante la stimolazione ovarica.

Per quanto riguarda gli aspetti normativi, il 35,1% delle pazienti (71/202) ritiene che i commercianti siano obbligati a vendere sale iodato, mentre il 64,9% (131/202) non ne è a conoscenza. Analogamente, il 55,4% (112/202) considera che la commercializzazione del sale iodato sia regolata da specifiche leggi, a fronte del 44,6% (90/202) che lo nega. Complessivamente, questi dati evidenziano una conoscenza limitata e frammentaria delle strategie di iodoprofilassi e della relativa normativa, suggerendo una possibile correlazione con l'elevata prevalenza di iodocarenza osservata nel campione.

## DISCUSSIONE

La presente sezione è dedicata alla discussione dei risultati ottenuti, che vengono analizzati criticamente e confrontati con le principali evidenze riportate in letteratura. Tale approccio consente di contestualizzare i dati emersi, comprenderne il significato clinico e delinearne le potenziali implicazioni nel contesto della procreazione medicalmente assistita.

Nonostante l'introduzione della profilassi iodica in Italia nel 2005, in alcune aree come il Veneto persiste una quota non trascurabile di insufficienza iodica, con circa il 26% della popolazione generale che presenta valori di UIC inferiori a 50 µg/L (81).

Nel campione clinico analizzato, tale criticità risulta ancora più evidente. La distribuzione dei valori di ioduria in classi evidenzia un'elevata prevalenza di deficit iodico, sia nel quadro clinico basale sia durante la stimolazione ovarica. In particolare, oltre il 60% delle donne infertili candidate al percorso di PMA presenta uno stato iodico insufficiente, di cui il 43% con deficit severo. Tale riscontro epidemiologico appare strettamente legato alla marcata disinformazione emersa dal questionario, in cui più del 90% delle pazienti ha dichiarato di ignorare l'esistenza della campagna di iodoprofilassi. Questi dati suggeriscono come la carenza iodica sia ampiamente diffusa anche in una popolazione clinicamente selezionata, evidenziando la necessità di una maggiore considerazione clinica di questo fattore nei percorsi di PMA e di interventi mirati di educazione sanitaria.

L'ipotiroidismo rappresenta una delle principali conseguenze della carenza iodica, soprattutto nei casi di deficit protratto o severo. In condizioni di iodiocarenza, la ghiandola tiroidea attiva meccanismi compensatori mediati dall'aumento del TSH e dalla sovraespressione di NIS, al fine di ottimizzare la captazione dello iodio e mantenere adeguata la sintesi ormonale. (82)

I valori di TSH rilevati nella popolazione studiata, con mediana pari a 2,02 mIU/L (IQR 1,39–2,77), risultano globalmente entro i limiti di riferimento, non suggerendo la presenza di quadri compatibili con ipotiroidismo conclamato. Nel campione non sono emerse associazioni significative tra ioduria e principali parametri della funzione tiroidea, quali TSH e fT3. Tale osservazione potrebbe

riflettere un meccanismo di compenso tiroideo, attraverso il quale la ghiandola è in grado di mantenere un assetto eutiroideo nonostante un apporto iodico ridotto.

In letteratura, la carenza iodica è stata inoltre associata a potenziali effetti negativi sulla fertilità. Alcuni studi hanno riportato un prolungamento del tempo di concepimento e una riduzione della probabilità di gravidanza per ciclo nelle donne con ioduria ridotta, mentre la supplementazione iodica ha mostrato effetti favorevoli sui tassi di fertilità. (69)

Oltre al noto ruolo indiretto dello iodio nella via fisiologica iodio–tiroide–funzione riproduttiva femminile, attraverso il quale possono essere influenzate follicologenesi, ovulazione e funzione luteinica, esistono evidenze che suggeriscono anche un possibile effetto diretto dello iodio a livello ovarico. In particolare, il tessuto ovarico esprime il trasportatore NIS e mostra una capacità di captazione attiva dello iodio, variabile nelle diverse fasi del ciclo riproduttivo. Nel complesso, tali evidenze supportano l'ipotesi che un adeguato stato iodico possa rivestire un ruolo rilevante nel mantenimento della fertilità femminile. (67,73)

Considerando il razionale fisiopatologico che lega lo stato iodico alla funzione riproduttiva, è stata esplorata una possibile associazione tra ioduria e outcomes della PMA. Infatti, nonostante numerosi studi abbiano valutato l'influenza della funzione tiroidea sugli esiti della PMA, associando l'ipotiroidismo subclinico e l'autoimmunità tiroidea a una ridotta qualità embrionaria, manca tuttora una chiara evidenza sul rapporto tra stato iodico ed esiti della PMA. (83,84)

In tale contesto si inseriscono i risultati del presente studio. In una prima fase, al fine di verificare la coerenza interna del campione analizzato, sono state valutate le relazioni tra i principali parametri clinici e di riserva ovarica. I risultati ottenuti confermano la coerenza interna dei parametri di riserva ovarica, evidenziando una correlazione diretta tra AMH e AFC e una correlazione inversa di entrambi con l'età, in linea con il noto declino della funzione ovarica legato all'età.

L'associazione positiva osservata tra BMI e parametri di riserva ovarica potrebbe riflettere l'influenza dello stato metabolico sull'assetto endocrino-riproduttivo, verosimilmente mediata da alterazioni dell'insulino-resistenza e della steroidogenesi ovarica, in apparente contrasto con la letteratura generale (85). Una possibile spiegazione è rappresentata da un confondimento legato alla maggiore

prevalenza di PMOS nei soggetti con BMI elevato, condizione che si associa a valori aumentati sia di AMH che di AFC.

I risultati mostrano l'esistenza di un'associazione positiva, seppur modesta, tra ioduria e i parametri della riserva ovarica, quali AMH e AFC. L'analisi di regressione lineare semplice ha infatti confermato un'associazione positiva per entrambi i parametri. Sebbene i valori di  $R^2$  evidenzino che la ioduria spiega una quota modesta della variabilità complessiva di AMH (2,9%) e AFC (1,6%), fenomeno atteso dato il ruolo predominante e multifattoriale dell'età biologica della donna su tali parametri, il riscontro di un trend lineare positivo in entrambi i modelli dimostra come questi due marker, l'uno biochimico e l'altro ecografico, si muovano coerentemente nella stessa direzione. Questo elemento è di cruciale importanza clinica: a differenza dell'età biologica, che rappresenta il principale determinante della riserva ovarica ma costituisce un fattore non modificabile, lo status iodico si configura come un fattore di rischio pienamente modificabile e correggibile mediante interventi mirati di profilassi o integrazione alimentare.

Alterazioni dello stato iodico possono infatti determinare disfunzioni tiroidee anche subcliniche, con possibili ripercussioni sull'attività delle cellule della granulosa e sulla produzione di AMH, oltre che sullo sviluppo follicolare valutato tramite AFC. Pertanto, livelli migliori di status iodico possono generare un miglior assetto endocrino generale, associandosi a valori più elevati di marker di riserva ovarica.

A supporto di questa interpretazione, l'analisi stratificata per classi di ioduria basale evidenzia un trend coerente, con una maggiore percentuale di pazienti Poor Ovarian Responder nel gruppo con deficit iodico severo rispetto alle classi con deficit lieve e normoioduria, suggerendo un possibile impatto negativo di carenza iodica marcata sulla riserva ovarica.

In linea con tali osservazioni, anche la stratificazione della popolazione secondo i criteri di *Bologna* nei gruppi NOR e POR mostra come le donne NOR presentino livelli mediani di ioduria basale più elevati rispetto alle POR, rafforzando ulteriormente l'ipotesi di un legame tra stato iodico e funzione ovarica. Questi risultati risultano coerenti con quanto riportato in letteratura, dove è stato evidenziato come alterazioni dello stato iodico possano influenzare la

follicologenesi e la risposta ovarica, sebbene i dati disponibili siano ancora limitati e talvolta non univoci. (67)(86)

Il confronto tra i gruppi POR e NOR evidenzia differenze statisticamente significative per principali parametri di risposta ovarica e per gli outcomes di PMA valutati, quali numero di ovociti recuperati al pick-up, numero di ovociti maturi e qualità embrionaria, confermando la validità clinica di tali criteri nel discriminare la competenza ovarica. Tuttavia, l'assenza di differenze per i livelli di ioduria e di funzionalità tiroidea tra i due gruppi suggerisce che l'effetto dello stato iodico non si manifesti come determinante diretto della risposta ovarica globale, ma possa agire piuttosto come modulatore fine della funzione follicolare. Tale interpretazione è coerente con l'ipotesi di un'influenza indiretta dello iodio sulla fertilità, mediata dalla regolazione dell'asse tiroideo e dall'azione locale degli ormoni tiroidei a livello ovarico.

In questo contesto, l'analisi stratificata per AFC rafforza tale interpretazione: i valori significativamente più elevati di ioduria basale nel gruppo con la conta dei follicoli antrali migliore suggeriscono che un adeguato apporto iodico possa favorire un ambiente endocrino ottimale per la follicologenesi. Dal punto di vista fisiopatologico, gli ormoni tiroidei (in particolare il T3) sono noti modulare la proliferazione delle cellule della granulosa, la sensibilità alle gonadotropine e l'espressione di fattori di crescita intraovarici; pertanto, una maggiore disponibilità di iodio potrebbe sostenere indirettamente questi processi. Il trend osservato per TSH (intra-COS) e fT3 appare in linea con tale analisi, suggerendo una possibile modulazione dell'asse tiroideo in relazione all'attività follicolare.

Analogamente, la stratificazione per AMH mostra andamenti concordanti, sebbene non significativi, tra ioduria e fT3. Questo suggerisce che l'influenza dello stato iodico sia più facilmente rilevabile su misure dirette della riserva ovarica (AFC) rispetto a marcatori indiretti (AMH), oppure che le dimensioni campionarie non siano sufficienti a evidenziare differenze statisticamente robuste.

Nel gruppo di pazienti che hanno svolto il percorso di PMA, l'analisi della qualità embrionaria evidenzia come i parametri di riserva ovarica (AMH, AFC) e di risposta alla stimolazione (numero di ovociti recuperati e maturi) si associno

significativamente alla presenza di embrioni “top quality”, confermando il ruolo centrale della quantità e qualità ovocitaria.

Il riscontro di una differenza significativa nei livelli di TSH stimolato tra gruppi caratterizzati da diversa qualità embrionaria suggerisce un possibile coinvolgimento della funzione tiroidea anche nelle fasi più precoci dello sviluppo embrionale. Questo potrebbe essere spiegato dal ruolo degli ormoni tiroidei nei processi di maturazione citoplasmatica dell'ovocita, nella regolazione del metabolismo energetico e nei processi di divisione cellulare precoce, indicando che anche variazioni sottili dell'assetto tiroideo possano influenzare la competenza embrionaria. Tale dato deve tuttavia essere interpretato, dal momento che la natura osservazionale dello studio non permette di stabilire un rapporto causale, e il TSH, pur rappresentando un indicatore sensibile della funzione tiroidea, non riflette direttamente la disponibilità tissutale degli ormoni tiroidei né la loro azione a livello ovarico ed embrionale.

Per quanto riguarda lo stato iodico nonostante non ci sia significatività statistica, si osserva come i valori mediani di ioduria basale risultino più elevati nel gruppo con embrioni di qualità migliore, mentre durante la stimolazione ovarica i valori mediani di ioduria appaiono maggiori nel gruppo con qualità embrionaria inferiore. Questa apparente discrepanza potrebbe riflettere la natura dinamica della ioduria, influenzata dall'introito iodico recente e dalle variazioni fisiologiche indotte dalla stimolazione ovarica. In particolare, è possibile ipotizzare che un adeguato stato iodico pre-stimolazione sia associato a condizioni più favorevoli per la maturazione ovocitaria e lo sviluppo embrionale (69). Una possibile spiegazione dei livelli più elevati di ioduria durante la stimolazione ovarica nel gruppo con qualità embrionaria inferiore risiede nella natura dinamica della COS, con espressione di una maggiore variabilità metabolica o di meccanismi compensatori non necessariamente efficaci a livello funzionale.

L'analisi dei dati derivanti dal questionario alimentare non ha evidenziato differenze statisticamente significative nei livelli di ioduria, né basale né durante la stimolazione ovarica, tra i gruppi con consumo assente/saltuario e consumo regolare degli alimenti considerati. Questo risultato può essere spiegato da diversi fattori. In primo luogo, la valutazione dietetica basata su frequenza di consumo (0 vs 1) rappresenta una misura qualitativa che potrebbe non riflettere accuratamente

la reale quantità di iodio assunta, né le variazioni individuali nell'assorbimento e nel metabolismo dello iodio. Inoltre, la ioduria è un parametro dinamico, influenzato dall'introito iodico recente e caratterizzato da elevata variabilità intraindividuale, elemento che può ridurre la capacità di evidenziare associazioni significative in campioni di dimensioni limitate.

Nonostante l'assenza di significatività, i trend osservati risultano coerenti con le evidenze nutrizionali.

I soggetti con consumo regolare di sale iodato, alimenti ricchi di iodio e integratori mostrano valori mediani di ioduria più elevati, suggerendo un effettivo impatto dell'alimentazione sull'apporto iodico. Il trend positivo osservato durante la stimolazione ovarica potrebbe inoltre riflettere una maggiore attenzione dietetica o aderenza alle raccomandazioni nutrizionali in questa fase.

Per quanto riguarda l'abitudine tabagica, i soggetti non fumatori presentano valori mediani di ioduria basale più elevati rispetto ai fumatori, in linea con il noto effetto del fumo sulla funzione tiroidea. Il fumo di sigaretta, infatti, contiene sostanze come il tiocianato, che competono con lo iodio a livello del NIS, riducendone l'assorbimento e la disponibilità.

Un elemento di interesse è l'associazione tra il consumo di integratori e la ioduria stimolata dicotomizzata. Questo dato suggerisce che l'integrazione iodica possa influenzare la probabilità di raggiungere specifiche soglie di ioduria durante la stimolazione ovarica, piuttosto che determinare variazioni lineari nei valori assoluti. In tal senso, l'effetto degli integratori potrebbe manifestarsi principalmente nel modificare la distribuzione delle pazienti all'interno di categorie clinicamente rilevanti, più che nello spostare in modo significativo le mediane dei valori.

In conclusione, l'effetto dell'apporto iodico sui livelli di ioduria è verosimilmente influenzato da molteplici fattori, tra cui lo stato funzionale della tiroide, l'impiego di sale iodato, l'eventuale presenza di una carenza iodica cronica e le differenze individuali nei processi di assorbimento ed escrezione dello iodio.

In questo contesto, la mancata osservazione di associazioni statisticamente significative non esclude un ruolo dell'alimentazione nel determinare lo stato iodico, ma suggerisce piuttosto l'esistenza di una relazione complessa e multifattoriale, difficilmente catturabile mediante strumenti di valutazione dietetica

semplificati. Tali risultati evidenziano l'importanza di adottare approcci metodologici più accurati, quantitativi e longitudinali, al fine di chiarire il contributo dell'intake iodico alla funzione tiroidea e, potenzialmente, alla salute riproduttiva.

## CONCLUSIONE

La carenza iodica rappresenta un fattore di rischio nutrizionale ed endocrino ancora sottovalutato nel contesto dell'infertilità e, di conseguenza, nei percorsi di procreazione medicalmente assistita. Nel presente studio è emersa un'elevata prevalenza di insufficienza iodica nella popolazione analizzata, con una quota rilevante di pazienti caratterizzata da deficit severo, a conferma di come tale condizione sia tuttora diffusa anche in contesti clinici selezionati.

I risultati hanno evidenziato un'associazione positiva, seppur modesta, tra ioduria basale e parametri di riserva ovarica, in particolare AMH e AFC, supportata anche dalla distribuzione dei valori mediani di ioduria nei gruppi NOR e POR. Tali dati suggeriscono che un adeguato stato iodico possa contribuire al mantenimento di un ambiente endocrino favorevole alla follicologenesi, configurandosi come un fattore di rischio modificabile e un possibile elemento modulatore della funzione ovarica su cui poter intervenire prima dell'avvio dei percorsi di PMA.

Al contrario, non sono emerse associazioni statisticamente significative tra stato iodico e i principali outcomes della PMA. Tuttavia, l'analisi descrittiva ha evidenziato alcuni trend di interesse. I valori di ioduria basale tendono ad avere una distribuzione lievemente superiore nelle pazienti con embrioni di migliore qualità, mentre durante la stimolazione ovarica si osserva un andamento opposto. Questa apparente fluttuazione potrebbe riflettere la natura intrinsecamente dinamica della ioduria estemporanea.

I parametri di funzionalità tiroidea si sono mantenuti globalmente nei limiti di norma, suggerendo la presenza di meccanismi compensatori in grado di preservare uno stato eutiroideo, anche in condizioni di ridotto apporto iodico. Tuttavia, la differenza osservata nei livelli di TSH stimolato tra gruppi con diversa qualità embrionaria indica che anche variazioni sottili dell'assetto tiroideo possano avere un impatto nelle fasi precoci dello sviluppo embrionale.

L'analisi del questionario alimentare non ha evidenziato associazioni significative tra intake iodico e ioduria, probabilmente a causa dei limiti metodologici dello strumento utilizzato e dell'elevata variabilità intraindividuale della ioduria. Ciò

suggerisce che la relazione tra apporto iodico e stato iodico sia complessa, multifattoriale e difficilmente catturabile mediante valutazioni qualitative.

Nel complesso, i dati ottenuti suggeriscono che un'adeguata iodonutrizione possa contribuire al mantenimento della riserva ovarica e, potenzialmente, alla qualità embrionale, rappresentando un possibile target di intervento nei percorsi di PMA. Tuttavia, la natura osservazionale dello studio, la dimensione campionaria e la variabilità dei parametri analizzati non consentono di trarre conclusioni definitive.

Alla luce di queste considerazioni, appare evidente la necessità di studi prospettici condotti su campioni più ampi e metodologie più accurate per la valutazione dell'intake iodico, che consentano di indagare ulteriormente il ruolo dello iodio nei percorsi di PMA. In particolare, sarà fondamentale approfondire se l'ottimizzazione dello stato iodico, anche attraverso strategie di supplementazione mirata, possa tradursi in un miglioramento degli esiti riproduttivi, contribuendo così a una gestione più personalizzata delle pazienti infertili.



## BIBLIOGRAFIA

1. Guyton AC, Hall JE, Zocchi L, Aicardi G. Fisiologia medica. 11. ed. Milano: Elsevier : Masson; 2006.
2. Harrison's principles of internal medicine. 21st ed. New York: McGraw Hill; 2022.
3. Brown EDL, Obeng-Gyasi B, Hall JE, Shekhar S. The Thyroid Hormone Axis and Female Reproduction. *Int J Mol Sci.* 6 giugno 2023;24(12):9815. doi:10.3390/ijms24129815 PubMed PMID: 37372963; PubMed Central PMCID: PMC10298303.
4. Krela-Kaźmierczak I, Czarnywojtek A, Skoracka K, Rychter AM, Ratajczak AE, Szymczak-Tomczak A, et al. Is There an Ideal Diet to Protect against Iodine Deficiency? *Nutrients.* 4 febbraio 2021;13(2):513. doi:10.3390/nu13020513
5. Dunn JT, Dunn AD. Update on intrathyroidal iodine metabolism. *Thyroid.* maggio 2001;11(5):407–14. doi:10.1089/105072501300176363 PubMed PMID: 11396699.
6. Cavalieri RR. Iodine metabolism and thyroid physiology: current concepts. *Thyroid.* aprile 1997;7(2):177–81. doi:10.1089/thy.1997.7.177 PubMed PMID: 9133680.
7. Citterio CE, Targovnik HM, Arvan P. The role of thyroglobulin in thyroid hormonogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* giugno 2019;15(6):323–38. doi:10.1038/s41574-019-0184-8 PubMed PMID: 30886364.
8. Bartalena L. Recent achievements in studies on thyroid hormone-binding proteins. *Endocr Rev.* febbraio 1990;11(1):47–64. doi:10.1210/edrv-11-1-47 PubMed PMID: 2108013.
9. Bianco AC, Kim BW. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest.* ottobre 2006;116(10):2571–9. doi:10.1172/JCI29812 PubMed PMID: 17016550; PubMed Central PMCID: PMC1578599.
10. Carvalho DP, Dupuy C. Thyroid hormone biosynthesis and release. *Mol Cell Endocrinol.* 15 dicembre 2017;458:6–15. doi:10.1016/j.mce.2017.01.038 PubMed PMID: 28153798.
11. Mansourian AR. Metabolic pathways of tetraiodothyronine and triiodothyronine production by thyroid gland: a review of articles. *Pak J Biol Sci.* 1 gennaio 2011;14(1):1–12. doi:10.3923/pjbs.2011.1.12 PubMed PMID: 21913492.
12. Sinha RA, Yen PM. Metabolic Messengers: Thyroid Hormones. *Nat Metab.* aprile 2024;6(4):639–50. doi:10.1038/s42255-024-00986-0 PubMed PMID: 38671149; PubMed Central PMCID: PMC7615975.

13. Pasquali R, Casanueva F, Haluzik M, van Hulsteijn L, Ledoux S, Monteiro MP, et al. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline: Endocrine work-up in obesity. *Eur J Endocrinol.* gennaio 2020;182(1):G1–32. doi:10.1530/EJE-19-0893 PubMed PMID: 31855556.
14. Xu Y, Derakhshan A, Hysaj O, Wildisen L, Ittermann T, Pingitore A, et al. The optimal healthy ranges of thyroid function defined by the risk of cardiovascular disease and mortality: systematic review and individual participant data meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* ottobre 2023;11(10):743–54. doi:10.1016/S2213-8587(23)00227-9 PubMed PMID: 37696273; PubMed Central PMCID: PMC10866328.
15. Bliddal S, Derakhshan A, Xiao Y, Chen LM, Männistö T, Ashoor G, et al. Association of Thyroid Peroxidase Antibodies and Thyroglobulin Antibodies with Thyroid Function in Pregnancy: An Individual Participant Data Meta-Analysis. *Thyroid.* luglio 2022;32(7):828–40. doi:10.1089/thy.2022.0083 PubMed PMID: 35596568.
16. Anderson JW, McConahey WM, Alarcón-Segovia D, Emslander RF, Wakim KG. Diagnostic value of thyroid antibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* luglio 1967;27(7):937–44. doi:10.1210/jcem-27-7-937 PubMed PMID: 4165699.
17. Xu Y, Hysaj O, Qi X, Feller M, Pingitore A, Brown SJ, et al. Natural history of thyroid function in ageing: an individual participant data analysis of 137 488 participants from 31 prospective cohort studies. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 27 aprile 2026;S2213-8587(26)00009-4. doi:10.1016/S2213-8587(26)00009-4 PubMed PMID: 42061390.
18. Sohn SY, Inoue K, Rhee CM, Leung AM. Risks of Iodine Excess. *Endocr Rev.* 22 novembre 2024;45(6):858–79. doi:10.1210/endrev/bnae019 PubMed PMID: 38870258.
19. Keating E, Pinto E, Almeida A. Editorial: Iodine in health and disease. *Front Nutr.* 15 agosto 2023;10:1260834. doi:10.3389/fnut.2023.1260834
20. Aceves C, Anguiano B, Delgado G. The extrathyronine actions of iodine as antioxidant, apoptotic, and differentiation factor in various tissues. *Thyroid.* agosto 2013;23(8):938–46. doi:10.1089/thy.2012.0579 PubMed PMID: 23607319; PubMed Central PMCID: PMC3752513.
21. Institute of Medicine (U.S.), curatore. DRI: dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc: a report of the Panel on Micronutrients ... and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, D.C: National Academy Press; 2001. 773 p.
22. WHO Secretariat, Andersson M, de Benoist B, Delange F, Zupan J. Prevention and control of iodine deficiency in pregnant and lactating women and in children less than 2-years-old: conclusions and recommendations of the

- Technical Consultation. *Public Health Nutr.* dicembre 2007;10(12A):1606–11. doi:10.1017/S1368980007361004 PubMed PMID: 18053287.
23. Ristic-Medic D, Piskackova Z, Hooper L, Ruprich J, Casgrain A, Ashton K, et al. Methods of assessment of iodine status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* giugno 2009;89(6):2052S-2069S. doi:10.3945/ajcn.2009.27230H PubMed PMID: 19420096.
  24. Zhang L, Shang F, Liu C, Zhai X. The correlation between iodine and metabolism: a review. *Front Nutr.* 2024;11:1346452. doi:10.3389/fnut.2024.1346452 PubMed PMID: 38567251; PubMed Central PMCID: PMC10985161.
  25. Wang B, He W, Li Q, Jia X, Yao Q, Song R, et al. U-shaped relationship between iodine status and thyroid autoimmunity risk in adults. *Eur J Endocrinol.* settembre 2019;181(3):255–66. doi:10.1530/EJE-19-0212 PubMed PMID: 31252413.
  26. Delange F, de Benoist B, Burgi H, ICCIDD Working Group. International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders. Determining median urinary iodine concentration that indicates adequate iodine intake at population level. *Bull World Health Organ.* 2002;80(8):633–6. PubMed PMID: 12219154; PubMed Central PMCID: PMC2567591.
  27. Istituto Superiore di Sanità. Iodio - EpiCentro - Istituto Superiore di Sanità [Internet]. [citato 4 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.epicentro.iss.it/iodio/>
  28. Markou K, Georgopoulos N, Kyriazopoulou V, Vagenakis AG. Iodine-Induced hypothyroidism. *Thyroid.* maggio 2001;11(5):501–10. doi:10.1089/105072501300176462 PubMed PMID: 11396709.
  29. Teti C, Panciroli M, Nazzari E, Pesce G, Mariotti S, Olivieri A, et al. Iodoprophylaxis and thyroid autoimmunity: an update. *Immunol Res.* aprile 2021;69(2):129–38. doi:10.1007/s12026-021-09192-6 PubMed PMID: 33914231; PubMed Central PMCID: PMC8106604.
  30. Moleti M, Di Mauro M, Paola G, Olivieri A, Vermiglio F. Nutritional iodine status and obesity. *Thyroid Res.* 27 novembre 2021;14(1):25. doi:10.1186/s13044-021-00116-y PubMed PMID: 34838106; PubMed Central PMCID: PMC8626876.
  31. Cho NH, Choi HS, Kim KW, Kim HL, Lee SY, Choi SH, et al. Interaction between cigarette smoking and iodine intake and their impact on thyroid function. *Clin Endocrinol (Oxf).* agosto 2010;73(2):264–70. doi:10.1111/j.1365-2265.2010.03790.x PubMed PMID: 20105185.
  32. Pastorelli AA, Stacchini P, Olivieri A. Daily iodine intake and the impact of salt reduction on iodine prophylaxis in the Italian population. *Eur J Clin Nutr.* febbraio 2015;69(2):211–5. doi:10.1038/ejcn.2014.206 PubMed PMID: 25293434.

33. Iacone R, Iaccarino Idelson P, Russo O, Donfrancesco C, Krogh V, Sieri S, et al. Iodine Intake from Food and Iodized Salt as Related to Dietary Salt Consumption in the Italian Adult General Population. *Nutrients*. 30 settembre 2021;13(10):3486. doi:10.3390/nu13103486 PubMed PMID: 34684487; PubMed Central PMCID: PMC8537510.
34. Carlsen MH, Andersen LF, Dahl L, Norberg N, Hjartåker A. New Iodine Food Composition Database and Updated Calculations of Iodine Intake among Norwegians. *Nutrients*. 20 luglio 2018;10(7):930. doi:10.3390/nu10070930
35. Candussi CJ, Bell W, Thompson AS, Knüppel S, Gaggli M, Světnička M, et al. Risk of hypothyroidism in meat-eaters, fish-eaters, and vegetarians: a population-based prospective study. *BMC Med*. 7 maggio 2025;23(1):269. doi:10.1186/s12916-025-04045-7 PubMed PMID: 40336074; PubMed Central PMCID: PMC12060288.
36. Niero G, Visentin G, Censi S, Righi F, Manuelian CL, Formigoni A, et al. Invited review: Iodine level in dairy products—A feed-to-fork overview. *Journal of Dairy Science*. aprile 2023;106(4):2213–29. doi:10.3168/jds.2022-22599
37. Mathiaparanam S, Nori De Macedo A, Mente A, Poirier P, Lear SA, Wielgosz A, et al. The Prevalence and Risk Factors Associated with Iodine Deficiency in Canadian Adults. *Nutrients*. 21 giugno 2022;14(13):2570. doi:10.3390/nu14132570
38. Eveleigh ER, Coneyworth LJ, Avery A, Welham SJM. Vegans, Vegetarians, and Omnivores: How Does Dietary Choice Influence Iodine Intake? A Systematic Review. *Nutrients*. 29 maggio 2020;12(6):1606. doi:10.3390/nu12061606 PubMed PMID: 32486114; PubMed Central PMCID: PMC7352501.
39. Eveleigh ER, Coneyworth L, Welham SJM. Systematic review and meta-analysis of iodine nutrition in modern vegan and vegetarian diets. *Br J Nutr*. 14 novembre 2023;130(9):1580–94. doi:10.1017/S000711452300051X PubMed PMID: 36912094; PubMed Central PMCID: PMC10551477.
40. Galanty A, Grudzińska M, Paździora W, Służały P, Paško P. Do Brassica Vegetables Affect Thyroid Function?—A Comprehensive Systematic Review. *IJMS*. 3 aprile 2024;25(7):3988. doi:10.3390/ijms25073988
41. World Health Organization. Guideline: fortification of food-grade salt with iodine for the prevention and control of iodine deficiency disorders [Internet]. [citato 5 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241507929>
42. 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*. febbraio 2022;23(1):87–94. doi:10.1007/s40619-022-01018-3

43. «Uso di sale iodato in età adulta e in età pediatrica», Ministero della Salute [Internet]. [citato 7 maggio 2026]. Disponibile su: [https://sisdca.it/documenti/catalogo/Linee\\_Guida\\_-\\_Allegati/PositionStatement-firmato-6aprile.pdf](https://sisdca.it/documenti/catalogo/Linee_Guida_-_Allegati/PositionStatement-firmato-6aprile.pdf)
44. Società Italiana di Nutrizione Umana (SINU). LARN. Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana. V revisione. 5<sup>a</sup> ed.
45. Protocollo D'Intesa, Iodoprofilassi nelle scuole\_MIUR [Internet]. [citato 7 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.associazionemediciendocrinologi.it/images/attivita/informazioni/iodio-MIUR/protocollo-MIUR-firmato.pdf>
46. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin Biochem. dicembre 2018;62:2–10. doi:10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012 PubMed PMID: 29555319.
47. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. JAMA. 6 luglio 2021;326(1):65–76. doi:10.1001/jama.2021.4788 PubMed PMID: 34228062; PubMed Central PMCID: PMC9302705.
48. Chua SJ, Danhof NA, Mochtar MH, van Wely M, McLernon DJ, Custers I, et al. Age-related natural fertility outcomes in women over 35 years: a systematic review and individual participant data meta-analysis. Hum Reprod. 1 agosto 2020;35(8):1808–20. doi:10.1093/humrep/deaa129 PubMed PMID: 32696041.
49. Jensen CFS, Østergren P, Dupree JM, Ohl DA, Sønksen J, Fode M. Varicocele and male infertility. Nat Rev Urol. settembre 2017;14(9):523–33. doi:10.1038/nrurol.2017.98 PubMed PMID: 28675168.
50. MINISTERO-DELLA-SALUTE-decreto-linee-guida-procreazione-assistita-11.4.2008.pdf [Internet]. [citato 22 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.unionedirittiumani.it/wp-content/uploads/2012/07/MINISTERO-DELLA-SALUTE-decreto-linee-guida-procreazione-assistita-11.4.2008.pdf>
51. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ASRM Guideline Part I. J Urol. gennaio 2021;205(1):36–43. doi:10.1097/JU.0000000000001521 PubMed PMID: 33295257.
52. World Health Organisation Guideline Development Group for Infertility, Mburu G, Santesso N, Brignardello-Petersen R, Kennedy R, Farquhar C, et al. Recommendations from the WHO guideline for the prevention, diagnosis, and treatment of infertility. Fertil Steril. maggio 2026;125(5):880–94. doi:10.1016/j.fertnstert.2025.11.014 PubMed PMID: 41387135.
53. Wassarman PM, Rosenwaks Z, Springer Science+Business Media, curatori. Human fertility: methods and protocols. New York: Humana Press; 2014. 584 p. (Methods in molecular biology; fasc. 1154).

54. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: [asrm@asrm.org](mailto:asrm@asrm.org), Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility evaluation of infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril.* novembre 2021;116(5):1255–65. doi:10.1016/j.fertnstert.2021.08.038 PubMed PMID: 34607703.
55. Skowrońska M, Pawłowski M, Buczyńska A, Wiatr A, Dyszkiewicz A, Wenta A, et al. The Relationship Between Body Composition Parameters and the Intake of Selected Nutrients, and Serum Anti-Müllerian Hormone (AMH) Levels in the Context of Ovulatory Infertility. *Nutrients.* 29 novembre 2024;16(23):4149. doi:10.3390/nu16234149 PubMed PMID: 39683543; PubMed Central PMCID: PMC11644442.
56. Yildiz S, Moolhuijsen LME, Visser JA. The Role of Anti-Müllerian Hormone in Ovarian Function. *Semin Reprod Med.* marzo 2024;42(1):15–24. doi:10.1055/s-0044-1786732 PubMed PMID: 38781987.
57. Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 novembre 2020;105(11):3361–73. doi:10.1210/clinem/dgaa513 PubMed PMID: 32770239; PubMed Central PMCID: PMC7486884.
58. Fleming R, Seifer DB, Frattarelli JL, Ruman J. Assessing ovarian response: antral follicle count versus anti-Müllerian hormone. *Reprod Biomed Online.* ottobre 2015;31(4):486–96. doi:10.1016/j.rbmo.2015.06.015 PubMed PMID: 26283017.
59. 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.* gennaio 2018;51(1):10–20. doi:10.1002/uog.18945 PubMed PMID: 29080259.
60. Melo P, Eapen A, Chung Y, Jeve Y, Price MJ, Sunkara SK, et al. Controlled ovarian stimulation protocols for assisted reproduction: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 1 luglio 2025;7(7):CD012586. doi:10.1002/14651858.CD012586.pub2 PubMed PMID: 40590303; PubMed Central PMCID: PMC12210349.
61. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, et al. ESHRE consensus on the definition of «poor response» to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* luglio 2011;26(7):1616–24. doi:10.1093/humrep/der092 PubMed PMID: 21505041.
62. Sadler TW. *Embriologia medica di Langman.* 7. ed. De Caro R, Galli S, curatori. Milano: Edra Masson; 2020.
63. Gardner DK, Lane M, Schoolcraft WB. Physiology and culture of the human blastocyst. *J Reprod Immunol.* 2002;55(1–2):85–100. doi:10.1016/s0165-0378(01)00136-x PubMed PMID: 12062824.
64. Working Group on the update of the ESHRE/ALPHA Istanbul Consensus, Coticchio G, Ahlström A, Arroyo G, Balaban B, Campbell A, et al. The Istanbul

- consensus update: a revised ESHRE/ALPHA consensus on oocyte and embryo static and dynamic morphological assessment†,‡. *Hum Reprod.* 1 giugno 2025;40(6):989–1035. doi:10.1093/humrep/deaf021 PubMed PMID: 40288770; PubMed Central PMCID: PMC12127515.
65. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* giugno 2000;73(6):1155–8. doi:10.1016/s0015-0282(00)00518-5 PubMed PMID: 10856474.
  66. Silva JF, Ocarino NM, Serakides R. Thyroid hormones and female reproduction. *Biol Reprod.* 1 novembre 2018;99(5):907–21. doi:10.1093/biolre/ioy115 PubMed PMID: 29767691.
  67. Slebodziński AB. Ovarian iodide uptake and triiodothyronine generation in follicular fluid. The enigma of the thyroid ovary interaction. *Domest Anim Endocrinol.* luglio 2005;29(1):97–103. doi:10.1016/j.domaniend.2005.02.029 PubMed PMID: 15927769.
  68. Carafone L, Knutson AJ, Gigliotti BJ. A Review of Autoimmune Thyroid Diseases and Their Complex Interplay with Female Fertility. *Semin Reprod Med.* settembre 2024;42(3):178–92. doi:10.1055/s-0044-1795160 PubMed PMID: 39667368.
  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.* 1 marzo 2018;33(3):426–33. doi:10.1093/humrep/dex379 PubMed PMID: 29340704; PubMed Central PMCID: PMC6454505.
  70. Mazzilli R, Medenica S, Di Tommaso AM, Fabozzi G, Zamponi V, Cimadomo D, et al. The role of thyroid function in female and male infertility: a narrative review. *J Endocrinol Invest.* gennaio 2023;46(1):15–26. doi:10.1007/s40618-022-01883-7 PubMed PMID: 35945393; PubMed Central PMCID: PMC9829629.
  71. Rao M, Wang H, Zhao S, Liu J, Wen Y, Wu Z, et al. Subclinical Hypothyroidism Is Associated with Lower Ovarian Reserve in Women Aged 35 Years or Older. *Thyroid.* gennaio 2020;30(1):95–105. doi:10.1089/thy.2019.0031 PubMed PMID: 31650898.
  72. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Subclinical hypothyroidism in the infertile female population: a guideline. *Fertil Steril.* maggio 2024;121(5):765–82. doi:10.1016/j.fertnstert.2023.12.038 PubMed PMID: 38163620.
  73. Xing M, Gu S, Wang X, Mao G, Mo Z, Lou X, et al. Low Iodine Intake May Decrease Women's Fecundity: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Nutrients.* 31 agosto 2021;13(9):3056. doi:10.3390/nu13093056 PubMed PMID: 34578933; PubMed Central PMCID: PMC8467427.

74. 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. doi:10.1093/humupd/dmr024 PubMed PMID: 21622978.
75. Zhao T, Chen BM, Zhao XM, Shan ZY. Meta-analysis of ART outcomes in women with different preconception TSH levels. *Reprod Biol Endocrinol*. 5 novembre 2018;16(1):111. doi:10.1186/s12958-018-0424-0 PubMed PMID: 30396353; PubMed Central PMCID: PMC6219175.
76. Muller AF, Verhoeff A, Mantel MJ, De Jong FH, Berghout A. Decrease of free thyroxine levels after controlled ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocrinol Metab*. febbraio 2000;85(2):545–8. doi:10.1210/jcem.85.2.6374 PubMed PMID: 10690853.
77. Bradbury RA, Christie-David D, Smith HC, Byth K, Eastman CJ. Prior iodine exposure and impact on thyroid function during controlled ovarian hyperstimulation: A prospective study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. febbraio 2022;62(1):133–9. doi:10.1111/ajo.13419 PubMed PMID: 34406645.
78. 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*. marzo 2017;27(3):315–89. doi:10.1089/thy.2016.0457 PubMed PMID: 28056690.
79. Thayakaran R, Adderley NJ, Sainsbury C, Torlinska B, Boelaert K, Šumilo D, et al. Thyroid replacement therapy, thyroid stimulating hormone concentrations, and long term health outcomes in patients with hypothyroidism: longitudinal study. *BMJ*. 3 settembre 2019;366:l4892. doi:10.1136/bmj.l4892 PubMed PMID: 31481394; PubMed Central PMCID: PMC6719286.
80. 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*. 1 aprile 2021;4(4):e215723. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.5723 PubMed PMID: 33847747; PubMed Central PMCID: PMC8044736.
81. Censi S, Manso J, Barollo S, Mondin A, Bertazza L, De Marchi M, et al. Changing Dietary Habits in Veneto Region over Two Decades: Still a Long Road to Go to Reach an Iodine-Sufficient Status. *Nutrients*. 11 agosto 2020;12(8):2399. doi:10.3390/nu12082399 PubMed PMID: 32796531; PubMed Central PMCID: PMC7468863.
82. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev*. giugno 2009;30(4):376–408. doi:10.1210/er.2009-0011 PubMed PMID: 19460960.
83. Weghofer A, Himaya E, Kushnir VA, Barad DH, Gleicher N. The impact of thyroid function and thyroid autoimmunity on embryo quality in women with low functional ovarian reserve: a case-control study. *Reprod Biol Endocrinol*. 15

maggio 2015;13:43. doi:10.1186/s12958-015-0041-0 PubMed PMID: 25975563; PubMed Central PMCID: PMC4443631.

84. Kim CH, Ahn JW, Kang SP, Kim SH, Chae HD, Kang BM. Effect of levothyroxine treatment on in vitro fertilization and pregnancy outcome in infertile women with subclinical hypothyroidism undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* aprile 2011;95(5):1650–4. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.12.004 PubMed PMID: 21193190.
85. Moslehi N, Shab-Bidar S, Ramezani Tehrani F, Mirmiran P, Azizi F. Is ovarian reserve associated with body mass index and obesity in reproductive aged women? A meta-analysis. *Menopause.* settembre 2018;25(9):1046–55. doi:10.1097/GME.0000000000001116 PubMed PMID: 29738413.
86. Masoumi M, Bagheri M, Hantoushzadeh S, Jafarabadi M, Tarazjani MD, Haghollahi F, et al. The effect of iodine supplementation on oocyte apoptosis and proliferation in women with diminished ovarian reserve: a pilot study. *Sci Rep.* 3 ottobre 2025;15(1):34501. doi:10.1038/s41598-025-16545-w PubMed PMID: 41044113; PubMed Central PMCID: PMC12494958.

