



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

CORSO DI LAUREA IN OSTETRICIA

Presidente Prof.ssa Alessandra Andrisani

TESI DI LAUREA:

Valutazione della correlazione tra autoimmunità tiroidea e riserva ovarica nelle pazienti sottoposte a trattamenti di procreazione medicalmente assistita

Relatore: Dott. Marin Loris

LAUREANDA: Bertoldo Tatiana

MATRICOLA: 2048290

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

INDICE

ABSTRACT	1
<i>Background</i>	1
<i>Scopo dello studio</i>	1
<i>Materiali e metodi</i>	2
<i>Risultati</i>	2
<i>Conclusioni</i>	3
1. INTRODUZIONE	4
1.1 L'infertilità	4
1.2 Cause ed epidemiologia	4
1.3 La riserva ovarica	7
1.4 La diagnosi: esami disponibili	9
1.4.1 Dosaggio dell'ormone follicolo stimolante	10
1.4.2 Dosaggio dell'estradiolo	11
1.4.3 Dosaggio dell'inibina B	12
1.4.4 Dosaggio dell'ormone anti-Mulleriano	13
1.4.5 Conta dei follicoli antrali	16
1.5 Procreazione medicalmente assistita: tecniche disponibili	17
1.5.1 Tecniche di primo livello	19
1.5.2 Tecniche di secondo livello	20

2. LA TIROIDE	23
2.1 L'impatto dei disordini tiroidei sulla fertilità.....	24
2.2 L'autoimmunità tiroidea	27
2.2.1 Influenza dell'autoimmunità tiroidea sugli esiti della gravidanza	30
2.3 Influenza dell'autoimmunità tiroidea sui trattamenti di PMA.....	31
2.4 Linee guida per la gestione e il trattamento delle disfunzioni tiroidee nella donna infertile.....	34
SCOPO DELLO STUDIO	37
MATERIALI E METODI.....	38
Analisi di laboratorio	40
Analisi statistiche	40
RISULTATI	41
DISCUSSIONE	57
CONCLUSIONE	63
BIBLIOGRAFIA.....	65

ABSTRACT

Background

L'autoimmunità tiroidea è una patologia autoimmune del sistema endocrino, comune in età fertile soprattutto nelle donne affette da infertilità: è caratterizzata da elevati livelli sierici di anticorpi anti-Tireoglobulina (anti-Tg) e di anticorpi anti-Perossidasi tiroidea (anti-TPO). Le donne affette da patologia autoimmune tiroidea (ATD) riscontrano diverse problematiche riguardanti la sfera riproduttiva, come livelli di AMH sierici inferiori rispetto alle donne che non presentano gli autoanticorpi tiroidei, e una maggiore incidenza di esiti avversi.

Scopo dello studio

Come obiettivi lo studio si propone di:

- valutare la correlazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea e la riserva ovarica, valutata attraverso il dosaggio dell'ormone AMH e la conta dei follicoli antrali (AFC), nelle pazienti che si sottopongono a trattamenti di procreazione medicalmente assistita.
- valutare l'influenza che esercitano singolarmente gli anticorpi anti-tireoglobulina (anti-Tg) e anti-tireoperossidasi (anti-TPO) sulla riserva ovarica.
- valutare la correlazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea e gli esiti della gravidanza, attraverso il dosaggio delle β -hCG e gli *outcome* della PMA.

Materiali e metodi

Si tratta di uno studio retrospettivo condotto su 332 pazienti reclutate presso l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale (UOSD) di Procreazione Medicalmente Assistita dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Ogni paziente è stata valutata dal 2° al 5° giorno del ciclo mestruale analizzando il dosaggio di AMH, TSH, FSH, 17beta-estradiolo, e degli anticorpi anti-TPO e anti-Tg. Le pazienti nella stessa giornata sono state sottoposte ad indagine ecografica transvaginale per la determinazione della AFC. È stato successivamente valutato l'andamento e l'esito dei trattamenti di II livello di PMA a cui le pazienti si sono sottoposte.

Risultati

Le analisi statistiche non hanno evidenziato una correlazione statisticamente significativa tra l'autoimmunità tiroidea e la riserva ovarica, e tra autoimmunità tiroidea e gli esiti dei trattamenti di PMA. È stato però osservato che, seppur in modo non statisticamente significativo, sembra esserci una correlazione tra autoimmunità tiroidea e riserva ovarica, in particolare tra anticorpi anti-TPO e conta dei follicoli antrali (AFC), e tra autoimmunità tiroidea e esiti di gravidanza, con un numero maggiore ma non statisticamente significativo di esiti negativi nelle donne che presentano gli anticorpi anti-tiroide.

Conclusioni

Da questo studio emerge che esiste un *trend* tra la presenza di anticorpi anti-tiroide, in particolare gli anti-TPO, sulla riserva ovarica e sugli esiti dei trattamenti di PMA, seppur questa associazione non risulta statisticamente significativa.

Ulteriori studi sono necessari per verificare tale ipotesi e valutare possibili meccanismi molecolari alla base di questa possibile correlazione.

1. INTRODUZIONE

1.1 L'infertilità

Il comitato internazionale per il monitoraggio delle tecnologie di riproduzione medicalmente assistita (ICMART) e l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), hanno definito l'infertilità una patologia caratterizzata dal fallimento a raggiungere una gravidanza dopo almeno 12 mesi di rapporti sessuali regolari non protetti (Zegers-Hochschild, 2017). In Italia l'infertilità colpisce circa il 15% delle coppie, mentre nel mondo, circa il 10-12%; è una patologia che può riguardare la capacità riproduttiva dell'uomo (30% dei casi) o della donna (35% dei casi); nel 20% dei casi invece, essa riguarda la combinazione tra fattori maschili e femminili, mentre nel restante 15% la causa attribuibile rimane sconosciuta.

L'infertilità viene definita primaria, se la coppia non ha mai avuto una precedente gravidanza, invece, viene definita secondaria se la patologia si manifesta dopo che la coppia ha concepito almeno un figlio. Si stima che il 2% delle donne con età compresa tra 20 e 44 anni, sia affetta da infertilità primaria; mentre il 10,5% delle donne in età fertile sperimenta una condizione di infertilità secondaria. Per quanto riguarda il sesso maschile, si stima che la percentuale di uomini affetti da infertilità sia tra 2,5 e 12% (Crafa, 2021).

1.2 Cause ed epidemiologia

Nell'85% delle coppie infertili, si riesce a identificare il fattore che devia rispetto alla fisiologia o la patologia che lo causa, mentre il restante 15% delle coppie, riceve la

diagnosi di “infertilità idiopatica”, in quanto non si riesce a identificare il fattore o i fattori che causano l’infertilità della coppia.

All’incirca 1 donna su 8 di età compresa tra i 15 e i 49 anni, usufruisce di servizi sanitari riguardanti l’infertilità e, nonostante i tassi di successo variano in base all’età e alla diagnosi, l’efficacia del trattamento, assieme a una diagnosi accurata, facilitano il raggiungimento dell’obiettivo di fertilità in molte delle coppie trattate (Carson, 2021).

L’infertilità è una condizione complessa e multifattoriale, le cui cause possono riguardare sia l’uomo che la donna, oppure la coppia stessa. Nell’ambito dell’infertilità femminile, si distinguono problematiche di natura:

- Endocrina: secondo la WHO i disordini ovulatori costituiscono circa il 25% delle diagnosi di infertilità; questi dovrebbero essere indagati nel momento in cui una donna presenta cicli mestruali irregolari (di durata inferiore a 21 giorni o superiore ai 35), o se presenta un’anormale sanguinamento uterino, o al contrario amenorrea.

Tra le cause più comuni di anovularietà sono presenti la sindrome dell’ovaio policistico (PCOS), che interessa il 70% delle donne con anovularietà; l’obesità, in particolare se presente un BMI maggiore di 27; disordini tiroidei (2-3%); anovularietà cronica idiopatica (7-8%); amenorrea secondaria ipotalamica, derivante ad esempio da un’importante perdita di peso o intensa attività fisica (Carson, 2021).

- Tubarica: definita dall’occlusione delle tube di Falloppio o dall’incapacità delle tube di prelevare un ovocita dall’ovaio a causa di adesioni pelviche; interessa

tra l'11% e il 67% delle diagnosi di infertilità, deve essere sospettata in casi di donne con una storia di infezioni sessualmente trasmesse, displasia cervicale, chirurgia addominale o pregressa infezione intra-addominale.

Se si sospetta una causa tubarica, è possibile eseguire l'isterosalpingografia, un esame radiografico dell'utero e delle salpingi in cui tramite un catetere posizionato in utero, viene iniettato un mezzo di contrasto per poter visualizzare ecograficamente la pervietà tubarica.

- Endometriosica: l'endometriosi è caratterizzata dalla presenza di tessuto endometriale all'esterno della cavità uterina, interessa il 25-40% delle donne con infertilità. In generale, le modificazioni dell'ambiente pelvico, come la presenza di adesioni che bloccano le tube o masse ovariche, possono compromettere la pervietà tubarica, la qualità degli ovociti e il recupero degli ovociti da parte della fimbria tubarica.
- Ridotta riserva ovarica: la riserva ovarica si riduce con il progredire dell'età a causa della progressiva perdita di follicoli ed ovociti e del deterioramento della qualità dei gameti. Ulteriori fattori di rischio di ridotta riserva ovarica includono una pregressa storia di chirurgia ovarica, chemioterapia o radioterapia, storia familiare di menopausa precoce o di pre-mutazione dell'X-fragile.
- Fattore uterino: le anomalie della cavità uterina, come polipi endometriali, leiomiomi o malformazioni uterine congenite, sono associate ad esiti avversi in gravidanza, come aborto spontaneo o parto pretermine. La correzione chirurgica di queste problematiche di solito viene eseguita per ottenere migliori *outcome* riproduttivi.

- Fattore cervicale: l'infertilità derivante da fattore cervicale è definita dalla presenza di anomalie anatomiche, cicatrici postoperatorie o da una diminuita quantità di muco cervicale, che interferisce con la naturale progressione dello sperma all'interno dell'utero.

Nell'ambito dell'infertilità maschile invece, possono presentarsi diversi disordini, come una bassa concentrazione di testosterone o la presenza di oligospermia, che interessano il 35% delle coppie infertili; la valutazione della presenza di fattori maschili deve essere eseguita assieme a quella riguardante i fattori femminili.

Quando il liquido seminale non contiene spermatozoi, si parla di azoospermia, la quale può essere di natura ostruttiva o non ostruttiva: il trattamento di questa condizione include il prelievo chirurgico testicolare del liquido seminale per l'ottenimento dello sperma necessario per l'esecuzione di procedure di procreazione medicalmente assistita o per la sua crioconservazione (Carson, 2021).

1.3 La riserva ovarica

La riserva ovarica rappresenta il potenziale riproduttivo di una donna, ed è costituita dalla qualità e dalla quantità di follicoli primordiali nell'ovaio. La riserva ovarica è un complesso fenomeno clinico influenzato dall'età, dalla genetica e da fattori ambientali; la valutazione di questa può aiutare a identificare i pazienti che potranno incorrere in una debole risposta o, al contrario, in una iperstimolazione alla stimolazione ovarica nei trattamenti di procreazione medicalmente assistita.

I test di riserva ovarica, infatti, hanno l'obiettivo di garantire una maggiore personalizzazione dei protocolli di trattamento per riuscire ad ottenere una risposta ottimale ad essi, minimizzando i rischi (Tal, 2017).

Alla nascita una donna possiede circa tre milioni di follicoli primordiali, mentre in epoca puberale questi sono solo quattrocentomila, a causa del naturale processo di atresia follicolare: essi, infatti, si esauriscono alla velocità di mille follicoli al mese fino ai 35 anni, in seguito il processo accelera (Cunningham, 2014).

Il declino della riserva ovarica con il passare del tempo è un processo irreversibile, ed è caratterizzato da una grande variabilità interpersonale, soprattutto per quanto riguarda la velocità di atresia follicolare e l'inizio del periodo di perimenopausa (Tal, 2017).

Al giorno d'oggi, per la valutazione della capacità riproduttiva di una donna, la riserva ovarica è considerata più importante rispetto all'età cronologica della stessa: l'età cronologica non risulta essere predittiva del numero e della qualità degli ovociti recuperati, del numero degli embrioni ottenuti o dei conseguenti tassi di gravidanza, nei trattamenti di procreazione medicalmente assistita (Gizzo, 2014). Infatti, il declino età-correlato della riserva ovarica femminile non è ancora stato superato da nessuna tecnica di riproduzione assistita (Cedars, 2022).

Una scarsa riserva ovarica è un importante fattore limitante per il successo di qualsiasi modalità di trattamento dell'infertilità; essa indica una dimensione e una quantità ridotta di follicoli primordiali; inoltre, anche gli eventuali ovociti prelevati sono tendenzialmente di qualità inferiore.

Una ridotta riserva ovarica è spesso riscontrata nelle donne di età superiore ai 35 anni, ma può interessare anche individui più giovani (Jirge, 2016).

La valutazione della riserva ovarica di una donna e l'individualizzazione del piano terapeutico, sono quindi elementi importanti per l'ottimizzazione del tasso di successo dei trattamenti di PMA (Jirge, 2016).

1.4 La diagnosi: esami disponibili

Alle donne che desiderano una gravidanza e non hanno concepito dopo 12 mesi di rapporti regolari non protetti, dovrebbe essere offerta una valutazione della fertilità; questa valutazione invece, viene proposta più precocemente (dopo soli 6 mesi) se la donna presenta un'età maggiore di 35 anni. La valutazione della fertilità è raccomandata per le donne che presentano oligomenorrea, amenorrea, o una sospetta patologia uterina, cervicale o endometriosica (Carson, 2021).

Gli esami disponibili per la valutazione della riserva ovarica hanno iniziato ad emergere durante l'ascesa delle tecniche di riproduzione medicalmente assistita negli anni '80, per riuscire a prevedere sia la risposta individuale ai farmaci per la stimolazione dell'ovulazione, sia la probabilità di successo del trattamento e, quindi, di ottenimento di una gravidanza (Tal, 2017).

1.4.1 Dosaggio dell'ormone follicolo stimolante

Esistono diversi esami disponibili per la valutazione della riserva ovarica: uno dei primi che è risultato essere associato ad una ridotta risposta ovarica, è la misurazione dell'incremento del valore basale dell'ormone follicolo-stimolante (FSH).

Il dosaggio del livello ematico di FSH viene eseguito al terzo giorno del ciclo mestruale e rappresenta, indirettamente, il numero di follicoli presenti: valori <15 UI/ml sono considerati valori soglia per ottenere una possibile gravidanza. Nonostante questo, da diversi studi è emerso che valori >8 UI/ml in donne di 40 anni, possono già ridurre le possibilità di ottenimento di una gravidanza; mentre il riscontro di due valori di FSH >30 UI/ml determinano, invece, una diagnosi certa di menopausa (Scolaro, 2012). Attualmente, il valore limite di FSH al di sotto del quale è ancora possibile considerare un certo livello di riserva ovarica, è 20 UI/ml, anche se in letteratura sono presenti dati contrastanti (Di Sabatino, 2011).

Nonostante tali dati, il singolo dosaggio di FSH al terzo giorno del ciclo mestruale non rappresenta un dato assoluto per la determinazione della riserva ovarica: infatti, qualora i valori risultassero molto elevati, questi dovranno essere ripetuti al ciclo successivo (Scolaro, 2012).

Un valore normale di FSH, quindi, non esclude la presenza di scarsa risposta ovarica; d'altra parte, il suo incremento avviene relativamente tardi nel corso del declino della riserva ovarica, infatti, la misurazione del valore basale di FSH non risulta essere un esame ideale per identificare le donne che presentano una scarsa risposta ovarica (Jirge, 2016). Per tale motivo, sebbene la misurazione dell'FSH basale sia il *marker* di riserva ovarica più utilizzato, va correlato con altri *marker* (come, ad esempio, l'età e

la conta dei follicoli antrali) per poter definire, in modo più preciso, il potenziale riproduttivo di una donna (Scolaro, 2012).

1.4.2 Dosaggio dell'estradiolo

Un secondo esame che viene eseguito per la valutazione della riserva ovarica, in associazione al dosaggio dell'FSH, è il dosaggio dell'estradiolo basale al terzo giorno del ciclo mestruale. Il valore basale dell'estradiolo, tra il secondo e il quarto giorno del ciclo mestruale predittivo di riserva ovarica è compreso tra 20 e 60 pg/ml; invece, livelli di estradiolo basale inferiori a 20 pg/ml sono risultati essere predittivi di un'iniziale menopausa (Scolaro, 2012).

Tuttavia, diversi studi non sono riusciti a dimostrare l'applicabilità clinica dell'estradiolo (E2) serico come predittivo di riserva ovarica; e anche studi favorevoli al suo utilizzo per tali finalità, non sono stati in grado di dimostrare una correlazione significativa con lo sviluppo follicolare, o nel predire l'instaurarsi di una gravidanza (Di Sabatino, 2011).

Attualmente, il solo dosaggio dell'estradiolo basale non è ritenuto affidabile per testare la riserva ovarica, considerata la sua bassa predittività e la mancanza di sensibilità nel dare informazioni in relazione al successo o meno delle tecniche di PMA (Scolaro, 2012). Il livello di estradiolo assume un importante ruolo prognostico solamente se correlato al livello di FSH; infatti, elevati livelli di estradiolo in associazione ad elevati livelli di FSH, sono dimostrati essere associati ad una compromessa riserva ovarica e ad una scarsa risposta ovarica, ad un'eventuale stimolazione in cicli di PMA (Di Sabatino, 2011).

1.4.3 Dosaggio dell'inibina B

L'inibina B è un ormone secreto dalle cellule della granulosa e della teca dell'ovario nei follicoli in crescita; viene considerato un biomarcatore di riserva ovarica in quanto la sua diminuzione conduce ad un aumento di FSH, e all'interno delle tecniche di PMA, una diminuzione della concentrazione di inibina B è correlata ad una diminuita risposta ovarica e ad un insuccesso delle tecniche (Verissimo, 2016).

I livelli sierici di inibina B variano durante il ciclo mestruale, raggiungendo un primo significativo picco nella fase follicolare e un secondo al momento dell'ovulazione.

Il riscontro di livelli di inibina B maggiori di 45 pg/ml, al terzo giorno del ciclo, è indicativo di una buona riserva ovarica; mentre concentrazioni maggiori di 100 pg/ml sono risultate essere significativamente correlate al numero di ovociti recuperati; infine, una concentrazione inferiore a 10 pg/ml la si può riscontrare nel periodo della menopausa.

L'utilizzo di questo esame all'interno delle tecniche di PMA è attualmente messo in discussione data la presenza di numerosi falsi positivi e l'estrema variabilità interciclica dell'ormone. Questo marker, infatti, viene utilizzato soprattutto nella previsione dell'età di insorgenza della menopausa: infatti, i livelli di inibina B si riducono dopo i 35 anni con un conseguente incremento dei valori circolanti di FSH, fino alla sua mancata rilevazione che si può riscontrare all'incirca quattro anni prima dell'ultimo ciclo mestruale (Scolaro, 2012).

1.4.4 Dosaggio dell'ormone anti-Mulleriano

Il dosaggio dell'ormone anti-Mulleriano è uno dei *marker* più sensibili rappresentati la riserva ovarica, e permette di poter identificare ed inquadrare dei percorsi terapeutici personalizzati per ogni paziente (Jirge, 2016).

L'ormone anti-Mulleriano è una glicoproteina che appartiene alla famiglia dei fattori di crescita trasformanti beta (TGF- β) e viene prodotta esclusivamente dalle cellule della granulosa da parte dei follicoli pre-antrali ed antrali. Le ovaie iniziano la produzione di AMH a partire dalle 36 settimane gestazionali, successivamente, i suoi livelli aumentano all'inizio dell'adolescenza, per raggiungere un picco intorno ai 25 anni di età: da questo momento in poi i livelli di AMH iniziano a decrescere fino a raggiungere livelli non determinabili alcuni anni prima della menopausa (Tal, 2017).

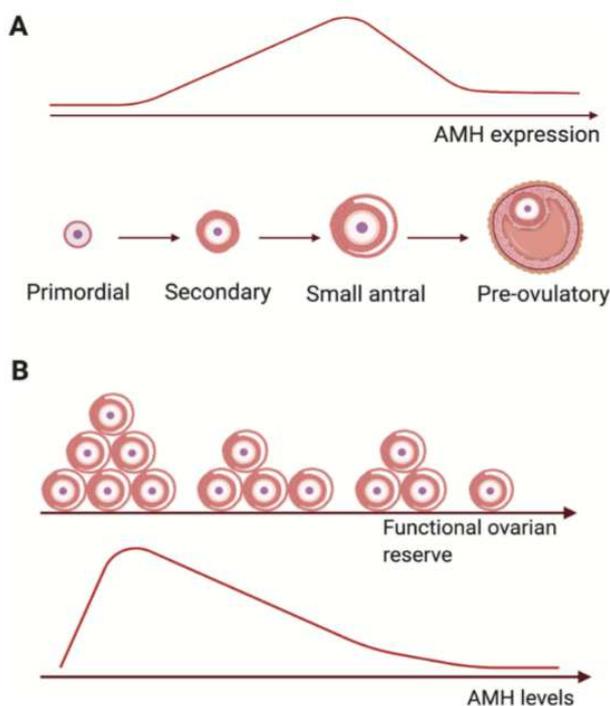


Figura 1: L'espressione e la concentrazione dell'AMH in relazione alla follicologenesi e alla riserva ovarica. (A) L'espressione dell'AMH aumenta dal secondo stadio, fino allo stadio dei follicoli antrali. Nei follicoli pre-ovulatori, l'AMH viene espresso solamente dalle cellule della granulosa che circondano gli ovociti. (B) Con l'avanzare dell'età, la riserva ovarica diminuisce come risultato dell'esaurimento dei follicoli primordiali. Questo conduce ad un decremento del numero di follicoli antrali e, di conseguenza, ad un decremento dei livelli sierici di AMH, raggiungendo livelli non rilevabili alla menopausa.

L'ormone anti-Mulleriano agisce da regolatore paracrino negativo della follicologenesi precoce, poiché inibisce il reclutamento dei follicoli primari, previene la selezione di follicoli da parte dell'FSH e inibisce l'aromatasi. Considerando che l'AMH viene espresso durante il normale processo di follicologenesi e viene secreto dai follicoli primordiali fino ai 6 mm di dimensione, esso risulta godere di una relativa indipendenza rispetto ai livelli di gonadotropine circolanti, permettendo il suo dosaggio in qualsiasi momento durante il ciclo mestruale (Tal, 2017).

Nonostante sia dimostrata questa relativa indipendenza, i livelli sierici di AMH, generalmente, vengono misurati durante la fase follicolare precoce, allo stesso modo di altri *marker* ormonali riguardanti la funzionalità ovarica, quali FSH, estradiolo, e inibina B. Infatti, la variabilità intra-ciclica dell'AMH è una questione ancora ampiamente dibattuta: inizialmente alcuni studi hanno dimostrato una relativa stabilità dei valori dell'ormone durante le differenti fasi del ciclo mestruale, concludendo affermando non ci siano significative variazioni dei valori (Tsepelidis, 2007).

D'altra parte, studi più recenti sono andati ad indagare le fluttuazioni dei valori di AMH durante la fase follicolare del ciclo mestruale, rispetto alla fase luteale, rilevando significative fluttuazioni dell'ormone tra le due fasi, ma tali dati non sono risultati essere statisticamente rilevanti (Gorkem, 2019).

Considerati i differenti studi relativamente alle differenze interindividuali dei valori di AMH durante le varie fasi del ciclo mestruale, viene suggerito di eseguire più di una singola misurazione del dosaggio di AMH all'interno dei protocolli di stimolazione

ovarica; per non rischiare di incorrere in un'inadeguata valutazione della riserva ovarica funzionale¹ di una donna (Moolhuijsen, 2020).

Attualmente, non essendo disponibile nessun marcatore sierico capace di misurare direttamente il numero di follicoli primordiali, i livelli sierici di AMH si sono dimostrati essere fortemente correlati con il numero di follicoli in crescita e con il loro declino età-correlato: infatti, nei follicoli di dimensione inferiore a 8 mm, vengono rilevati livelli elevati di AMH, mentre tale espressione è assente nei follicoli di dimensione maggiore di 8 mm.

Questo modello di espressione ormonale risulta essere positivamente correlato alla concentrazione di AMH presente nel liquido follicolare, mostrando livelli più alti nei follicoli fino a 8 mm di dimensione, e successivamente un forte calo di questi. Solamente ad età più avanzate i livelli di AMH riflettono il numero di follicoli primordiali presenti, mentre normalmente i livelli sierici di AMH sono correlati al numero di follicoli in crescita. Tali studi, quindi, suggeriscono che i livelli sierici di AMH sono ottimi *marker* per la valutazione della riserva ovarica funzionale (Moolhuijsen, 2020).

Per quanto riguarda la correlazione tra i valori di AMH e l'età cronologica di una donna, i valori sierici di AMH sono negativamente correlati a quest'ultima: dalla nascita in poi, i valori di ormone anti-Mulleriano aumentano progressivamente, fino a raggiungere un picco all'incirca all'età di 25 anni (Kelsey, 2011).

¹ La riserva ovarica funzionale è costituita da un gruppo di follicoli di diametro compreso tra 2 e 5 mm; da questo insieme verrà naturalmente selezionato un follicolo, definito come follicolo dominante, che sarà destinato alla selezione da parte dell'ormone follicolo stimolante (FSH) e quindi all'ovulazione.

In questo range temporale quindi, i valori di AMH sono correlati positivamente con l'età cronologica; mentre, a partire dai 25 anni, i suoi livelli iniziano un inevitabile declino fino ad essere non più misurabili nel momento in cui si raggiunge la menopausa (Moolhuijsen, 2020).

1.4.5 Conta dei follicoli antrali

La conta dei follicoli antrali (AFC) definisce il numero dei follicoli di diametro inferiore a 10 mm, rilevati mediante ecografia transvaginale eseguita durante la fase follicolare precoce del ciclo ovarico. Si considera una buona riserva ovarica un numero di follicoli >5 per ovaio, e anche questa misurazione diminuisce con l'aumentare dell'età cronologica di una donna. I follicoli antrali di dimensioni inferiori danno maggiori informazioni sulla funzionalità riproduttiva, infatti è stato dimostrato che si ottiene una buona risposta alla stimolazione ovarica in presenza di una AFC <5 unità con diametro fino a 5 mm (Scolaro, 2012).

D'altra parte, un valore di AFC >19 potrebbe indicare un'eccessiva risposta ovarica alla stimolazione e, di conseguenza, aumentare il rischio di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS) (Gorkem, 2019).

Questo metodo di valutazione della riserva ovarica attualmente, è considerato come uno dei migliori per la valutazione del grado di risposta alla stimolazione ovarica con gonadotropine esogene, e può essere considerato più affidabile rispetto al dosaggio dell'FSH basale. Il limite che presenta questo esame è che il numero di follicoli presenti, dà informazioni riguardo il numero di ovociti, ma non riguardo la loro

qualità; inoltre, essendo un'indagine ecografica, è operatore-dipendente (Scolaro, 2012).

1.5 Procreazione medicalmente assistita: tecniche disponibili

Nonostante le prime gravidanze siano state ottenute dopo il recupero di un singolo ovocita in cicli ovulatori spontanei, la necessità di indurre farmacologicamente una crescita follicolare multipla deriva dall'evidenza che il tasso di gravidanza aumenta significativamente, allo stesso modo del numero di embrioni trasferiti (Edwards, 1984).

I protocolli di stimolazione ormonale per l'induzione della crescita follicolare multipla mirano a incrementare i livelli plasmatici di gonadotropine, sovrapponendosi al processo fisiologico di selezione di un singolo follicolo dominante, per favorire la maturazione di più follicoli.

Nei cicli di stimolazione ovarica controllata si verifica una sorta di superamento della finestra dell'FSH, al fine di mantenere livelli di FSH superiori a quelli della soglia di reclutamento follicolare per tutta la durata della stimolazione: questo meccanismo impedisce la selezione di un follicolo dominante, permettendo a diversi follicoli di raggiungere contemporaneamente la fase ovulatoria.

Le terapie di stimolazione ovarica controllata si avvalgono principalmente di due categorie di farmaci: le gonadotropine per il reclutamento e la maturazione dei

follicoli, e gli agonisti ed antagonisti del GnRH per ottenere un migliore controllo del ciclo.

Nei percorsi di procreazione medicalmente assistita esistono diversi protocolli di stimolazione, i quali sono sempre influenzati da un'ampia variabilità biologica fra soggetti, motivo per cui l'individuazione di protocolli universali standardizzati è estremamente complessa.

Il percorso terapeutico prevede, inizialmente, un corretto inquadramento della coppia con un'accurata anamnesi personale di entrambi i soggetti, sia remota sia, per quanto riguarda la donna, ostetrica; e successivamente si individua una terapia specifica di eventuali condizioni patologiche o cause di infertilità rilevate (ad esempio, se è presente endometriosi o se presenti fattori uterini o tubarici) seguita dalla ricerca di una gravidanza naturale.

In un secondo momento si passa all'induzione dell'ovulazione, la quale può essere eseguita con o senza il monitoraggio della crescita follicolare e rapporti mirati. Infine, si discute con la coppia riguardo la necessità di ricorrere a tecniche di procreazione medicalmente assistita, le quali si suddividono in tecniche di primo e di secondo livello.

In entrambe le tipologie di tecniche di PMA si esegue una terapia personalizzata, la cui dose di ormoni e farmaci è stabilita sulla base degli indici di funzionalità ovarica di ciascuna donna.

1.5.1 Tecniche di primo livello

Nelle tecniche di PMA di primo livello, la fecondazione degli ovociti avviene direttamente all'interno del corpo della donna; infatti, è la tecnica più utilizzata in quanto è quella che più si avvicina al metodo di concepimento naturale.

L'inseminazione intrauterina (IUI) consiste nella deposizione in cavità uterina degli spermatozoi nel periodo periovulatorio, e si controlla solamente il timing dell'ovulazione della donna, sia su ciclo spontaneo, sia su ciclo stimolato: al momento dell'ovulazione si inserisce un catetere in utero e si rilascia al suo interno il liquido seminale (circa 1 cc), precedentemente trattato in laboratorio.

Nelle inseminazioni intrauterine la percentuale di successo è circa del 10%; il fattore prognostico, in base al numero di cicli di trattamento, è correlato alle indicazioni per cui si è dovuto ricorrere all'utilizzo di tecniche di PMA di primo livello, all'età del partner, e alla durata della sterilità. Si effettuano 4, massimo 6 tentativi di inseminazione intrauterina, successivamente ci si sposta alle tecniche di PMA di secondo livello.

Secondo le linee guida NICE, a tutte le coppie che presentano infertilità idiopatica dovrebbe essere offerto un trattamento di inseminazione intrauterina, prima di passare direttamente alle modalità di riproduzione assistita di secondo livello (Rizk, 2008).

Ulteriori indicazioni all'esecuzione di un'inseminazione intrauterina possono essere: la presenza di un fattore cervicale (quale l'incompatibilità tra muco cervicale e liquido seminale); un'infertilità maschile di grado lieve-moderato; la presenza di un grado lieve di endometriosi; a seguito di ripetuti insuccessi di induzione della gravidanza con

stimolazione dell'ovulazione e rapporti mirati; o la presenza di patologie sessuali, nelle quali sia difficile o impossibile avere un rapporto sessuale completo (come ad esempio nel caso di vulvodinia o vaginismo di grado moderato-grave).

1.5.2 Tecniche di secondo livello

Nelle tecniche di PMA di secondo livello la fecondazione degli ovociti non avviene all'interno del corpo della donna, ma in laboratorio (in vitro); in questo modo si riescono ad ottenere un maggior numero di ovociti, quindi un maggior numero di embrioni, e di conseguenza una maggiore probabilità di ottenere una gravidanza.

Si tratta di un protocollo di stimolazione della durata di due settimane, in cui si somministra FSH alla donna con l'obiettivo di reclutare un numero maggiore di follicoli.

Nell'arco di queste due settimane, si eseguono diversi controlli ecografici per monitorare il follicolo naturalmente reclutato dalla donna, successivamente, si somministra l'antagonista del GnRH per evitare la naturale ovulazione, bloccando la naturale produzione di FSH e LH, mentre si continua a somministrare sottocute FSH, per avere un maggior periodo di esposizione ad esso.

Quando i follicoli raggiungono una dimensione adeguata, ovvero un follicolo periovulatorio di dimensioni comprese tra 17 e 20 mm, si induce farmacologicamente l'ovulazione, per ottenere il *timing* corretto per procedere alla tecnica, in quanto; l'induzione della maturazione follicolare porta al completamento della maturazione del follicolo. Il prelievo ovocitario viene eseguito 36 ore prima dell'ovulazione.

Contemporaneamente viene analizzato il liquido seminale del partner mettendo in atto le tecniche di separazione degli spermatozoi, successivamente si procede all'esecuzione della fecondazione in vitro degli ovociti. In un secondo momento, si valuta il numero di embrioni ottenuti valutando il *timing* della loro crescita e del loro trasferimento: eventuali embrioni in sovrannumero vengono crio-conservati.

Le principali tecniche di PMA di secondo livello si distinguono sulla base della modalità di fecondazione dell'ovocita, in particolare nella Fecondazione in Vitro con Embryo Transfer (FIVET) si assiste ad una selezione naturale, in vitro, dello spermatozoo che insemina l'ovocita; ed essa è indicata in caso di patologia tubarica acquisita o congenita, infertilità maschile di grado moderato, in caso di endometriosi di III e IV grado, o in caso di infertilità idiopatica.

Mentre, nella IntraCytoplasmic Sperm Injection (ICSI) si esegue una selezione dello spermatozoo iniettato all'interno dell'ovocita attraverso un micro-iniettore; essa è indicata nei casi di infertilità maschile severa, di azoospermia ostruttiva, nel caso di mancata o ridotta fecondazione in precedenti trattamenti di secondo livello, o nel caso di tratti di ovociti o di liquido seminale scongelato.

2. LA TIROIDE

La ghiandola tiroide è un organo costituito da due lobi di tessuto endocrino, tenuti assieme da un sottile istmo mediano, ed è collocata nella zona del collo, anteriormente alla trachea. Le principali cellule secretorie della tiroide sono definite cellule follicolari: esse sono strutturate in formazioni globulari, le quali costituiscono i follicoli, ovvero le unità funzionali. Questi ultimi sono caratterizzati da delle strutture anulari delimitate da un singolo strato di cellule follicolari che racchiudono un lume interno occupato da colloide, una sostanza che funge da riserva extracellulare di ormoni tiroidei.

Il colloide è costituito principalmente da tireoglobulina (Tg), una glicoproteina associata agli ormoni tiroidei nei vari stadi di sintesi; mentre le cellule follicolari producono due ormoni iodati, sintetizzati a partire dalla tirosina: la tetraiodotironina (T₄ o anche detta tiroxina) e la tri-iodotironina (T₃) (Sherwood, 2012).

Questi due ormoni, T₃ e T₄, costituiscono complessivamente l'ormone tiroideo, e svolgono un'importante funzione regolatrice del metabolismo basale: tutte le cellule dell'organismo sono influenzate dagli ormoni tiroidei in modo diretto o indiretto; infatti, essi influenzano, ad esempio, la termogenesi, il corretto funzionamento del metabolismo, esercitano un effetto simpaticomimetico, esercitano effetti sulla crescita, sul sistema nervoso e sul sistema cardiovascolare.

Il principale regolatore della secrezione di ormone tiroideo è l'ormone tireostimolante (TSH), il quale viene prodotto dall'ipofisi ed è il responsabile del mantenimento dell'integrità strutturale della tiroide: in sua assenza, essa va incontro ad atrofia,

diminuendo il suo volume e di conseguenza, riducendo al minimo la secrezione di ormoni. Al contrario, in risposta ad un'eccessiva presenza di TSH, la tiroide va incontro ad una condizione di ipertrofia, con un aumento di dimensioni di ogni singola cellula follicolare, ed a una condizione di iperplasia, in cui si ha un aumento del numero di cellule follicolari (Sherwood, 2012).

L'ormone di rilascio della tireotropina (TRH) viene prodotto dall'ipotalamo e svolge una funzione trofica, stimolando la secrezione di TSH da parte dell'adenoipofisi, mentre l'ormone tiroideo la inibisce: questo meccanismo di *feedback* negativo ha l'obiettivo di mantenere stabile il rilascio di ormone tiroideo (Sherwood, 2012).

2.1 L'impatto dei disordini tiroidei sulla fertilità

I disordini tiroidei influenzano la riserva ovarica e possono causare diversi problemi per quanto riguarda la regolazione del ciclo mestruale e dell'ovulazione: il TSH, infatti, esercita un effetto sinergico, assieme al FSH nella proliferazione delle cellule della granulosa, le quali circondano gli ovociti. Inoltre, gli ormoni tiroidei regolano l'espressione del FSH nei follicoli, prevenendo la loro apoptosi.

Nel processo di follicologenesi, il legame tra gli ormoni tiroidei e la globulina legante la tiroxina (TBG) aumenta con l'aumentare dei livelli sierici di estrogeni: questo fenomeno porta ad una diminuzione di fT_4 e ad un incremento dei livelli di TSH.

Gli ormoni tiroidei sono presenti anche nel fluido follicolare dove rivestono un importante ruolo nel processo di sviluppo dei follicoli; infatti, una loro alterazione influenza la crescita follicolare. Inoltre, essi intervengono nel processo di impianto e

nell'iniziale sviluppo attraverso i loro effetti sull'endometrio e sulla placenta, in quanto partecipano alla regolazione dell'invasione trofoblastica dell'endometrio (Kabodmehri, 2021).

L'importanza degli ormoni tiroidei nell'apparato riproduttore femminile è stata evidenziata dalla presenza di TSH e di recettori dell'ormone tiroideo (TR- α 1 e TR- β 1) sulla superficie degli ovociti dei follicoli primordiali, primari e secondari, e del tessuto ovarico: essi, infatti, giocano un ruolo fondamentale nei processi di follicologenesi, di fecondazione, di embriogenesi, nell'impianto e nel mantenimento della gravidanza. Inoltre, gli ormoni tiroidei hanno un'influenza sulla fertilità anche in maniera indiretta, alterando i valori di ormone di rilascio della gonadotropina, la secrezione di prolattina, i livelli di globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG, *sex hormone binding globulin*) e i fattori della coagulazione.

Considerando, quindi, la grande importanza che assumono gli ormoni tiroidei all'interno dell'apparato riproduttore femminile, anche una lieve insufficienza tiroidea può influenzare negativamente la fertilità e gli esiti della gravidanza (Unuane, 2020).

Nel corso della gravidanza, infatti, la tiroide va incontro a diverse modificazioni, tra cui un aumento di volume della ghiandola: questo è pari al 10% nelle donne che presentano valori di iodio nella norma; invece, nelle donne con carenza di iodio, questo aumento di volume può raggiungere il 20-40%.

La funzione tiroidea in gravidanza subisce dei cambiamenti principalmente in due modi: in primo luogo si ha un aumento della globulina legante la tiroxina (TBG) a causa dell'incremento dei livelli di estradiolo; inoltre, è soggetta ad una maggiore stimolazione dovuta all'incremento dei livelli di gonadotropina corionica umana

(hCG), i quali si ripercuotono anche sulla regolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide (Mazzilli, 2023).

Le disfunzioni tiroidee sono tra i disturbi più comuni del sistema endocrino; possono essere classificate in due categorie maggiori: ipotiroidismo o ipertiroidismo, a seconda che si manifestino, rispettivamente, come deficit o eccesso di secrezione di ormone tiroideo (Sherwood, 2012).

L'ipertiroidismo è una delle cause più comuni di tireotossicosi, sindrome caratterizzata da un eccesso di ormoni tiroidei, solitamente dovuta al morbo di Basedow-Graves, che interessa tra lo 0,4 e l'1% delle donne in età fertile. Tale sindrome si è dimostrata essere correlata a significative complicanze ostetriche materne e fetali, tra cui: aborto spontaneo e poliabortività, distacco di placenta, parto pretermine, preeclampsia e insufficienza cardiaca congenita materna.

Diversi studi, inoltre, hanno evidenziato una correlazione tra un'esposizione fetale ad eccessivi livelli di ormoni tiroidei materni e basso peso alla nascita, restrizione di crescita intrauterina, morte intrauterina fetale e disordini neurocomportamentali (Mazzilli, 2023).

L'ipotiroidismo, invece, è associato ad un aumentato rischio di problematiche riguardanti la fertilità e complicanze soprattutto nel primo periodo della gravidanza. Inoltre, l'ipotiroidismo può comportare una serie di disturbi mestruali interferendo sulla lunghezza del ciclo ovarico e sull'ovulazione: in particolare, si è rilevato un maggior tasso di complicanze per valori di TSH superiori a 4,0 mIU/L (Unuane, 2020).

2.2 L'autoimmunità tiroidea

L'autoimmunità tiroidea (TAI) è una patologia autoimmune del sistema endocrino di comune riscontro nelle donne in età fertile, specialmente nelle donne affette da infertilità: essa si caratterizza da elevati livelli sierici di anticorpi anti-Tireoglobulina (anti-Tg) e di anticorpi anti-Perossidasi Tiroidea (anti-TPO) (Wang, 2024).

In Europa, la percentuale di donne affette varia in base all'etnia, all'età e ai livelli di iodio presenti; si stima vari dal 5% al 16% nelle donne di età compresa tra i 20 e i 45 anni (Bucci, 2022).

Gli autoanticorpi tiroidei vengono prodotti dal sistema immunitario ed hanno come bersaglio componenti della tiroide: questi stimolano in diverso modo la funzione tiroidea e il loro meccanismo d'azione dipende dal loro bersaglio specifico. Essi stimolano la tiroide bloccandola o causando uno stato di infiammazione, con conseguente distruzione delle cellule follicolari: spesso questi effetti si sovrappongono o coesistono.

Gli autoanticorpi sono proteine globulari con forma ad Y, composti da quattro catene polipeptidiche, di cui due catene pesanti e due catene leggere. Ogni anticorpo presenta un sito di legame che riconosce un antigene specifico il quale, in questo caso, è rappresentato dalle proteine tiroidee: gli antigeni tiroidei principali a cui questi autoanticorpi si legano, sono la tireoglobulina (Tg), la perossidasi tiroidea (TPO) e il recettore dell'ormone TSH.

Gli autoanticorpi stimolanti la tiroide (in particolare anti-Tg e anti-TPO), detti anche immunoglobuline stimolanti la tiroide (*thyroid-stimulating immunoglobulins, TSI*), si

legano al recettore TSH attivandolo e causando la crescita e l'iperfunzionamento della tiroide stessa (Cunningham, 2014).

Le donne che presentano una patologia autoimmune tiroidea (ATD), riscontrano diverse problematiche riguardanti la sfera riproduttiva: infatti nelle donne adulte, la maggior parte dei modelli di studio hanno mostrato livelli di AMH sierici significativamente più bassi nelle donne con diagnosi di disfunzione tiroidea o di ATD. Tuttavia, nelle ragazze in età adolescenziale che hanno appena ricevuto una diagnosi di ATD, sono stati riscontrati livelli di AMH sierici all'interno dei range di normalità (Moolhuijsen, 2020).

Nonostante siano presenti studi con risultati contrastanti, la maggior parte di essi concludono che il riscontro di ATD è negativamente correlato a livelli sierici quantitativamente inferiori di AMH rispetto ai valori normali età-correlati (Magri, 2015).

I meccanismi fisiopatologici che collegano l'autoimmunità tiroidea ai disordini della sfera riproduttiva e ad *outcome* sfavorevoli della gravidanza non sono del tutto chiari, ma sono influenzati dalla durata della disfunzione tiroidea e dall'eventuale carenza di iodio presente. L'ormone tiroideo è presente nei vari tessuti dell'apparato riproduttore, ed esercita i suoi effetti immunologici sull'ovaio, sull'utero e sull'unità feto-placentare.

Le donne che presentano una positività all'anti-TPO, infatti, presentano indici di pulsatilità dell'arteria uterina alterati e sono stati riscontrati segni di mal perfusione placentare rispetto alle donne che presentavano una negatività ad essi (Spinillo, 2021).

Inoltre, la positività agli autoanticorpi tiroidei potrebbe rappresentare un *marker* periferico di uno squilibrio immunitario generale, il quale incide su fertilità, tasso e modalità di impianto e andamento della gravidanza. Sono state elaborate diverse ipotesi per spiegare l'associazione tra autoanticorpi tiroidei ed esiti sfavorevoli della gravidanza.

Una prima teoria sostiene che gli anticorpi tiroidei sono diretti patogeni degli organi riproduttivi: è stato dimostrato che gli anticorpi anti-tiroide possono passare attraverso la superficie follicolare durante il periodo della loro maturazione. In questo studio sono state riportate percentuali inferiori di fecondazione degli ovociti e di buona qualità degli embrioni, e tassi di gravidanza inferiori nelle donne che presentavano gli autoanticorpi rispetto al gruppo di controllo; la percentuale di aborti spontanei in fase precoce invece, è risultata essere più alta (Monteleone, 2011).

Un'altra ipotesi considera che gli autoanticorpi tiroidei possano essere un *marker* di un fenomeno autoimmune generalizzato causato da una disfunzione delle cellule umorali e immunitarie.

L'attivazione dei linfociti B policlonali è risultata essere più frequente nelle donne con autoimmunità tiroidea, ed è stata associata a livelli più alti di anticorpi non specifici nell'organismo: la maggior parte di questi sono stati associati a fallimenti del concepimento. I livelli sierici di questi anticorpi sono inversamente correlati alla conta follicolare con un tasso significativamente ridotto di impianto e di successo della fecondazione (Bucci, 2022).

Una terza teoria, infine, afferma che gli anticorpi tiroidei causano un ipotiroidismo relativo diminuendo la capacità funzionale della ghiandola e creando, invece, a livello ovarico un ambiente ostile (Bucci, 2022).

2.2.1 Influenza dell'autoimmunità tiroidea sugli esiti della gravidanza

Sono molteplici gli studi che hanno analizzato gli effetti negativi dell'autoimmunità tiroidea sugli esiti del concepimento della gravidanza; in particolare, gli autoanticorpi esercitano un'influenza sia sulla madre sia sul prodotto del concepimento.

Per quanto riguarda gli esiti materni, diverse metanalisi hanno evidenziato una significativa associazione presente tra l'autoimmunità tiroidea e il rischio di aborto spontaneo: tale rischio, infatti, risulta essere duplicato nelle donne che presentano gli autoanticorpi ed è stato evidenziato anche un aumentato rischio di poliabortività.

Questa correlazione è risultata essere più evidente nelle pazienti che presentavano sia gli autoanticorpi sia un ipotiroidismo subclinico, rispetto a coloro che presentavano gli autoanticorpi ma avevano una situazione di eutiroidismo (Sagili, 2023).

È stata studiata l'associazione tra la presenza dell'autoimmunità tiroidea e il rischio di parto prematuro, differenziando se questo avveniva prima delle 37 settimane gestazionali (lieve prematurità) o prima delle 32 settimane (grave prematurità). Si è notato che il rischio di parto prematuro si modificava, in entrambi i casi, sulla base dei valori di TSH materno: nelle donne che presentavano una situazione di ipotiroidismo

e TAI, il rischio di parto pretermine era del 7,1%, contro il 5% delle donne con una situazione di eutiroidismo e TAI (Korevaar, 2019).

Sono presenti, inoltre, molteplici studi che hanno indagato l'esistenza di un'associazione tra la presenza degli autoanticorpi anti-tiroide e un aumentato rischio di distacco di placenta, di pre-eclampsia, di diabete gestazionale, di rottura prematura delle membrane e polidramnios, e infine di depressione post-partum e disturbi dell'umore nel puerperio (Sagili, 2023).

Per quanto riguarda gli esiti avversi fetali, diversi studi hanno evidenziato una correlazione tra la presenza di autoanticorpi tiroidei nella madre e gli esiti neurocognitivi del bambino: in particolare, è stato rilevato un QI inferiore all'età di quattro anni, un maggior rischio di sviluppo di disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività (ADHD) e un punteggio motorio inferiore alla media all'età di 5 anni nei bambini nati da madri anti-Tg e anti-TPO positive (Sagili, 2023).

2.3 Influenza dell'autoimmunità tiroidea sui trattamenti di PMA

I meccanismi fisiopatologici alla base di un eventuale esito negativo derivante dalla correlazione tra TAI e gli *outcome* della gravidanza a seguito di trattamenti di procreazione medicalmente assistita non sono ancora definiti. L'autoimmunità tiroidea potrebbe esercitare un ruolo nell'alterazione della recettività endometriale andando ad incidere sull'impianto e sulla crescita dell'embrione.

Queste interferenze sono provocate da cambiamenti quantitativi e qualitativi nel profilo delle cellule T endometriali attraverso una riduzione della secrezione di IL-4 (interleuchina-4) e IL-10 (interleuchina-10), assieme ad un'ipersecrezione di interferone- γ . Inoltre, nelle donne che presentano gli autoanticorpi tiroidei positivi, è stata riscontrata un'iperattività e un'aumentata migrazione delle cellule citotossiche *natural killer*, che causa un'alterazione della risposta immunologica e ormonale da parte dell'utero.

Rispetto alle donne che non hanno mai avuto un aborto spontaneo o ne hanno avuto solamente uno, coloro affette da una condizione di poliabortività apparentemente presentano un numero maggiore di cellule B CD5/20+, con una prevalenza maggiore nelle donne che presentano gli autoanticorpi tiroidei (Unuane, 2020).

Sono numerosi gli studi volti ad analizzare l'influenza esercitata dalla presenza di autoanticorpi sugli esiti dei protocolli di stimolazione ovarica e sui trattamenti di procreazione medicalmente assistita: in particolare, nei trattamenti di PMA, è stato dimostrato che i livelli di TSH subiscono un significativo incremento, superiore a 2,5 mIU/L, precedentemente alla gravidanza, con un incremento ancora più significativo se si è in presenza di TAI.

Dato che gli ormoni tiroidei giocano un ruolo fondamentale nella maturazione degli ovociti e nell'impianto, è stato ipotizzato che il declino della funzione tiroidea causato dai protocolli di stimolazione ovarica delle donne con TAI potrebbe influenzare negativamente il tasso di gravidanze all'interno dei percorsi di PMA (Unuane, 2020).

In uno studio sperimentale di 263 pazienti, Wei et al. hanno analizzato come la presenza di autoanticorpi tiroidei portasse ad un'insufficienza tiroidea, la quale

rendeva complicato l'adattamento della ghiandola ai cambiamenti portati dalla gravidanza e dai protocolli di stimolazione ovarica nei trattamenti di PMA; inoltre, anche i livelli di gonadotropina corionica umana (hCG) erano risultati essere influenzati dalla presenza degli autoanticorpi.

Le pazienti anti-TPO positive riportavano valori di AMH inferiori rispetto ai controlli negativi, i quali inoltre presentavano una riserva ovarica quantitativamente maggiore. Nei percorsi di procreazione medicalmente assistita le pazienti anti-TPO positive, rispetto ai controlli negativi, hanno mostrato avere una minore risposta ovarica ai protocolli di stimolazione, necessitano di dosi maggiori di gonadotropina, e un numero inferiore di ovociti maturi recuperati durante il prelievo ovocitario (Wei, 2023).

Nelle donne sottoposte a trattamenti di PMA di secondo livello, la presenza di anticorpi anti-TPO ha mostrato avere un'influenza negativa sulla qualità degli embrioni nelle donne che presentavano una situazione tiroidea normale.

Essi riducono la percentuale di ovociti correttamente fecondati, diminuendo il numero di ovociti maturi; inoltre, il tasso di embrioni ottenuti nei cicli di FIVET è risultato essere significativamente inferiore rispetto a quelli ottenuti dai trattamenti di ICSI, probabilmente a causa dell'im maturità degli ovociti recuperati, e alla difficoltà nella loro naturale fecondazione (Lee, 2017).

Studi su modelli animali hanno evidenziato un possibile effetto embrio-tossico, causato dalla presenza degli autoanticorpi materni, sul trofoblasto: essi agiscono limitando l'invasione del trofoblasto e ostacolando il normale sviluppo del feto. In tali modelli è emersa un'interazione bilaterale tra gli autoanticorpi tiroidei e gli antigeni

del trofoblasto, la quale è risultata in riduzione quantitativa del peso fetale e placentare. Inoltre, l'autoimmunità tiroidea influenza anche le fasi post-impianto incidendo sulla crescita e lo sviluppo fetale, portando quindi ad una perdita della gravidanza (Safarian G. K., 2019).

2.4 Linee guida per la gestione e il trattamento delle disfunzioni tiroidee nella donna infertile

La disfunzione tiroidea più frequentemente riscontrata nelle donne affette da una condizione di sub-fertilità è l'ipotiroidismo: in particolare, si hanno maggiori effetti avversi in presenza di valori di TSH $>4,0$ mIU/L. L'aumento del valore dell'ormone tireostimolante influenza la riserva ovarica, in quanto, è emersa una correlazione tra i valori di TSH e i valori di ormone anti-Mulleriano (AMH): i livelli di TSH nelle pazienti che presentano un valore di AMH $<1,1$ ng/ml risultano significativamente più elevati rispetto alle donne con AMH $\geq 1,1$ ng/ml (Kabodmehri, 2021).

Parallelamente, è di comune riscontro la presenza concomitante di diverse condizioni di infertilità o di subfertilità, in particolare per quanto riguarda la presenza di anticorpi anti-tiroide, o la presenza di una tiroide ecograficamente suggestiva di tireopatia cronica. Tale riscontro risulta essere maggiormente elevato nelle pazienti affette da sindrome dell'ovaio policistico (PCOS); di conseguenza, l'autoimmunità tiroidea è una delle patologie che risultano essere più frequentemente associate a insufficienza ovarica prematura (POF) (Meomartino, 2023).

Per quanto riguarda la gestione della disfunzione e il suo trattamento, nelle forme di ipotiroidismo conclamate (TSH $\geq 4,0$ mIU/L), indipendentemente dalla presenza o meno di anticorpi anti-tiroide, già a partire dal periodo pre-concezionale, è sempre indicato l'inizio di una terapia sostitutiva con Levotiroxina (LT4); mentre nelle forme di ipotiroidismo sub-clinico, ovvero in presenza di un valore di TSH $\geq 2,5$ mIU/L, vi sono studi contrastanti riguardo la necessità di terapia sostitutiva, in particolar modo in caso di positività agli anticorpi anti-tiroide (Mazzilli, 2023).

Per le pazienti affette da ipertiroidismo, esistono differenti opzioni di trattamento, quali la terapia radio-metabolica (*radioiodine ablation, RAI*), la tiroidectomia totale, o la terapia con farmaci antitiroidei (ATD, solitamente viene proposto il Propiltiouracile durante il primo trimestre di gestazione e nel periodo pre-concezionale) (AlexanderErik, 2017).

La terapia radio-metabolica però, viene controindicata in gravidanza, e nei sei mesi precedenti al concepimento; essa inoltre risulta essere associata ad un peggioramento della riserva ovarica, per cui è necessario informare adeguatamente la donna prima di procedere a tale metodica, ed è un importante fattore da considerare durante la raccolta anamnestica (AlexanderErik, 2017).

Nonostante emergano differenti correlazioni tra la presenza di autoanticorpi anti-tiroide e un minor tasso di fertilità, queste non risultano essere sufficientemente statisticamente significative tali da poter elaborare linee guide universali, per cui la ricerca rimane aperta. Al giorno d'oggi si procede alla valutazione della presenza o meno degli autoanticorpi tiroidei, e all'eventuale correzione dei valori di TSH nelle donne che presentano sue alterazioni.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo di questo studio consiste nel determinare l'impatto dell'autoimmunità tiroidea sulla riserva ovarica e sugli esiti dei trattamenti di procreazione medicalmente assistita. In particolare, sono state confrontate le pazienti che presentavano gli anticorpi anti-tireoglobulina (anti-TG) e anti-tireoperossidasi (anti-TPO), rispetto alle pazienti negative ad essi, per andare a valutare eventuali differenze che potevano emergere su diversi parametri considerati.

Partendo dalla valutazione del fattore di infertilità femminile, definendone la causa primaria, si è andati a valutare l'eventuale presenza del fattore di infertilità maschile. Successivamente è stata valutata la riserva ovarica delle pazienti, attraverso il dosaggio dell'ormone anti-Mulleriano (AMH) e la conta dei follicoli antrali (AFC). Sono stati valutati i valori di ovociti recuperati attraverso il pick-up ovocitario, in particolar modo distinguendo il numero di ovociti totali, il numero di ovociti maturi, e quello di ovociti fecondati.

Sono stati valutati gli esiti della fecondazione e del trattamento di PMA attraverso il dosaggio delle β -hCG, e gli esiti dell'impianto attraverso la visualizzazione ecografica della camera gestazionale e dell'attività cardiaca embrionale.

MATERIALI E METODI

Si tratta di uno studio retrospettivo condotto su 332 pazienti reclutate da gennaio 2016 a gennaio 2020 presso l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale (UOSD) di Procreazione Medicalmente Assistita dell'Azienda Ospedaliera di Padova, centro presso cui le pazienti si sono rivolte a causa di difficoltà relative al concepimento.

Ogni paziente è stata valutata dal 2° al 5° giorno del ciclo mestruale analizzando il dosaggio dei valori di AMH (ormone anti-Mulleriano), TSH (ormone tireostimolante), FSH (ormone follicolostimolante), 17beta-estradiolo, e degli anticorpi TPO-Ab (anticorpi anti-tireoperossidasi) e TG-Ab (anticorpi anti-tireoglobulina); le pazienti inoltre sono state sottoposte, nella stessa giornata, ad indagine ecografica per via transvaginale per determinare la conta dei follicoli antrali (AFC).

Tra queste, 269 pazienti sono state sottoposte a stimolazione ovarica controllata per trattamenti di II livello (FIVET o ICSI), 7 pazienti hanno eseguito solamente un trattamento di primo livello (IUI) mentre per 56 pazienti non si è riusciti a concludere il trattamento di II livello programmato.

Sono stati presi in considerazione sia i trattamenti farmacologici che prevedevano uno schema di stimolazione lungo, sia trattamenti farmacologici che prevedevano uno schema di stimolazione corto con antagonisti e con flare-up. Durante tutta la durata della stimolazione sono stati eseguiti i dosaggi ematochimici di 17beta-estradiolo, progesterone, LH e TSH. Contemporaneamente ad essi, le pazienti sono state sottoposte ad ecografia transvaginale per la valutazione dello spessore e del pattern

endometriale, per il monitoraggio follicolare e, di conseguenza, per l'esecuzione della conta dei follicoli antrali (AFC).

Le gonadotropine utilizzate sono state: FSH ricombinante (Gonal F, Ovaleap), FSH ricombinante con HCG (Meropur), FSH urinario (Fostimon e Meriofert). Gli agonisti utilizzati sono stati: Decapeptyl depot 3,75mg e Fertipeptyl 0,1IU; come antagonisti invece, per evitare di incorrere nell'ovulazione anticipata, sono stati utilizzati indifferentemente Orgalutran e Cetrotide. Per quanto riguarda l'induzione della maturazione dell'ovocita, i farmaci utilizzati sono stati a base di HCG ricombinante (Ovitrelle 250UI) o HCG urinario (Gonasi 10.000UI).

Nei casi in cui si andava incontro a un rischio di sindrome da iperstimolazione ovarica, è stata indotta, dove possibile, l'ovulazione attraverso un ciclo corto con antagonista, utilizzando Fertipeptyl 0,1UI e in tali casi si è successivamente eseguito un freeze-all degli embrioni recuperati.

Quando un numero adeguato di follicoli ha raggiunto un diametro superiore a 17-18mm, è stata indotta la maturazione dell'ovocita con l'iniezione di gonadotropina corionica umana ricombinante (r-hCG) 250mg (Ovitrelle) o urinario (Gonasi 10.000 IU). 36 ore dopo l'induzione dell'ovulazione è stato eseguito il pick-up ovocitario usando un ago di dimensioni 18G o 19G sotto guida ecografica transvaginale. I complessi di cellule cumulo ooforo-corona (COC) raccolti sono stati affidati a biologi che hanno proceduto alla loro conta, e successivamente alla loro incubazione.

Gli ovociti destinati al trattamento con tecnica FIVET conservavano il complesso di cellule cumulo ooforo-corona radiata e sono stati posti, per la fecondazione, a contatto con gli spermatozoi precedentemente recuperati e preparati: in tale tecnica,

infatti, lo spermatozoo penetra autonomamente nell'ovocita e lo feconda. Nei casi in cui era necessario eseguire la fecondazione tramite tecnica ICSI, gli ovociti sono stati precedentemente denudati dalle cellule del cumulo ooforo-corona radiata per poter procedere alla selezione dei soli ovociti maturi, e successivamente sotto guida microscopica, alla loro fecondazione manuale.

Analisi di laboratorio

Tutti gli esami ematochimici sono stati eseguiti presso il laboratorio analisi in via San Massimo a Padova. Il dosaggio dei valori di TSH, FSH e 17beta-estradiolo è stato effettuato tramite esecuzione di ImmunoAssay in elettrochemiluminescenza su piattaforma automatica Cobas E (Roche Diagnostics, Milan, Italy). Il dosaggio degli anticorpi anti-tiroide è stato analizzato avvalendosi del metodo chemiluminescente automatizzato su Liaison XL (Diasorin, Saluggia, Italy), mentre per quanto riguarda il dosaggio dell'ormone anti-Mulleriano (AMH), è stato utilizzato un convenzionale saggio di immunoassorbimento enzimatico (Beckman Coulter, Milan, Italy).

Analisi statistiche

Per confrontare i diversi gruppi è stata effettuata l'analisi statistica con il programma Oneway Analysis e utilizzando come test parametrico il test di Student con un intervallo di confidenza 95%. È stata effettuata inoltre una correlazione lineare multipla utilizzando una funzione logistica per dati non continui tramite il χ^2 test. La significatività statistica è stata considerata per valori di p value < di 0.05.

RISULTATI

Sono state prese in considerazione e analizzate le caratteristiche di 332 pazienti in totale, dei quali 93 presentano una condizione di autoimmunità tiroidea (TAI+), 50 di essi presentano anticorpi anti-tireoperossidasi (anti-TPO) e anticorpi anti-tireoglobulina (anti-Tg) positivi, 80 pazienti presentano solamente anticorpi anti-TPO+, 65 pazienti presentano solamente anticorpi anti-Tg+, mentre 234 pazienti non presentano una positività agli anticorpi anti-tiroide (*Tabella I – dati generali dei pazienti*).

			ANTI TPO+	ANTI TPO+	ANTI TG+	
	TAI +	TAI -	E	E	E	TOTALE
			ANTI TG+	ANTI TG-	ANTI TPO-	
N. PAZIENTI	93	234	50	29	14	332
ETÀ MEDIA	37,6	37,1	37,9	37,3	37,1	37,2
BMI	23,9	23,2	24,7	23,2	22,7	23,3
B-HCG+	17	73	11	5	1	90
N° GRAVIDANZE	12	59	9	3	0	71

Tabella I – dati generali dei pazienti

Attraverso la raccolta anamnestica della coppia, sono stati identificati i diversi fattori di infertilità sia maschile che femminile, suddividendoli in differenti classi (*Tabella II – fattori di infertilità maschile e Tabella III – fattori di infertilità femminile*).

	TAI +	TAI -	TOTALE PAZIENTI
fattore maschile presente (1)	37	123	160 (48%)
fattore maschile assente (0)	55	116	171 (52%)

Tabella II – fattori di infertilità maschile

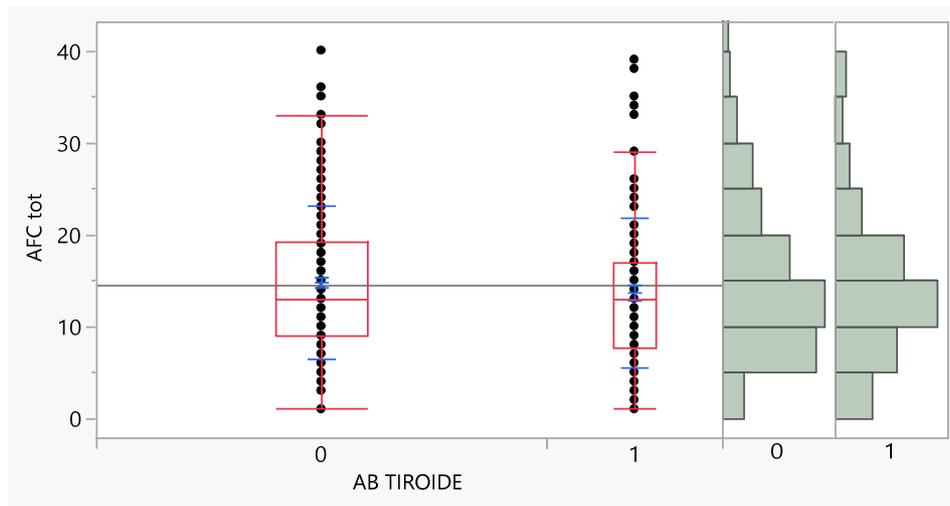
	TAI +	TAI -	TOTALE PAZIENTI
SOLO FATTORE MASCHILE	16	55	71
IDIOPATICO	24	49	74
TUBARICO	12	32	44
ENDOMETRIOSICO	8	31	39
RIDOTTA RISERVA OVARICA	21	45	67
DISOVULATORIO	8	12	20
UTERINO	1	2	3

Tabella III – fattori di infertilità femminile

Nel gruppo di pazienti con autoanticorpi anti-tiroide positivi (TAI +), il principale fattore di infertilità emerso è stato il fattore maschile, seguito dal fattore idiopatico,

successivamente una ridotta riserva ovarica, e infine si nota la prevalenza di un fattore tubarico.

Analisi della correlazione tra anticorpi anti-tiroide (TAI + e TAI -, e singolarmente anti-TPO e anti-TG) e riserva ovarica (conta dei follicoli antrali, AFC):



*Figura II – correlazione tra autoimmunità e AFC totale
in cui: 0 = TAI - e 1 = TAI+*

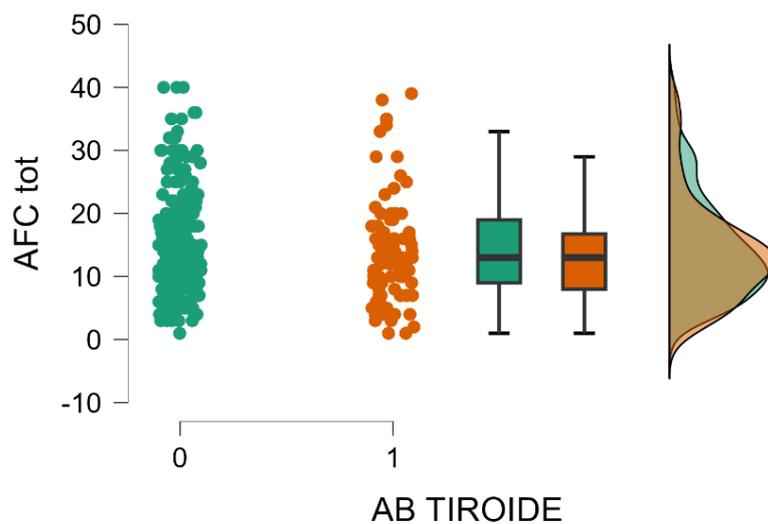


Figura III – correlazione tra autoimmunità e AFC totale in cui: 0 = TAI - e 1 = TAI+

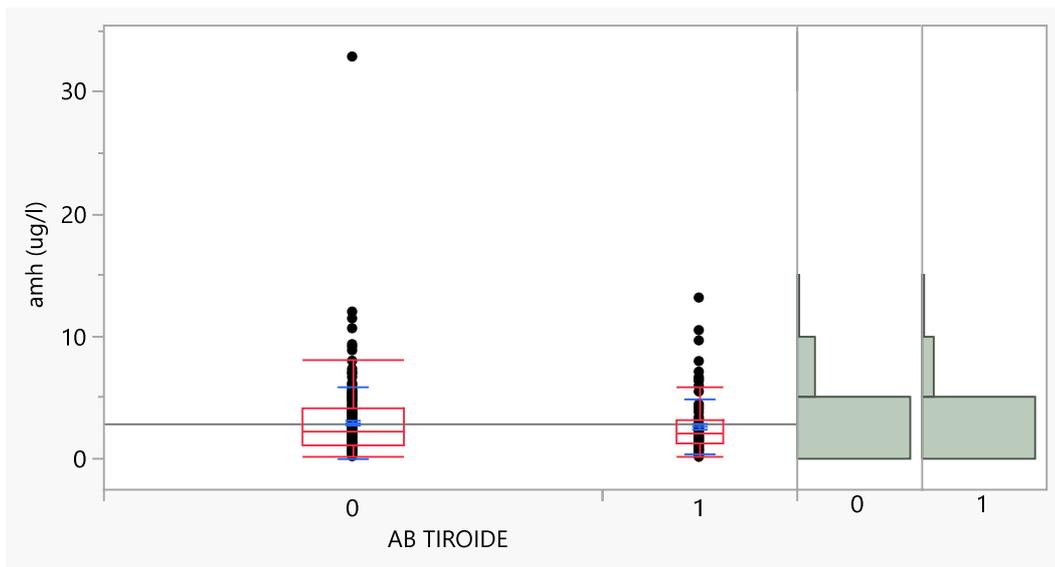
L'analisi della conta dei follicoli antrali (AFC) con il gruppo TAI + e il gruppo TAI – non ha mostrato una differenza statisticamente significativa. Nelle figure II e III si può notare graficamente, una maggiore aggregazione delle pazienti TAI + verso valori inferiori di AFC rispetto al gruppo negativo, ma tali risultati non sono statisticamente significativi (p-value >0,05).

	TAI – (0)	TAI + (1)	P-VALUE
AFC	15 ± 0,5	14 ± 0,9	0,52

Tabella IV – correlazione tra autoimmunità tiroidea e AFC

Il parametro età è risultato essere significativamente correlato alla conta dei follicoli antrali (AFC), come dimostrato dagli studi a riguardo presenti in letteratura.

La figura IV mostra la relazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea e i valori di ormone anti-Mulleriano (AMH): l'influenza degli autoanticorpi sulla riserva ovarica, rispetto all'influenza dell'ormone AMH sulla stessa, risulta essere marginale e, di conseguenza, non statisticamente significativa. Anche in questo caso si può notare, graficamente, una lieve differenza riguardo la collocazione dei pazienti che non presentano gli autoanticorpi, rispetto ai positivi, sulla scala dei valori di AMH (misurati in ug/l).

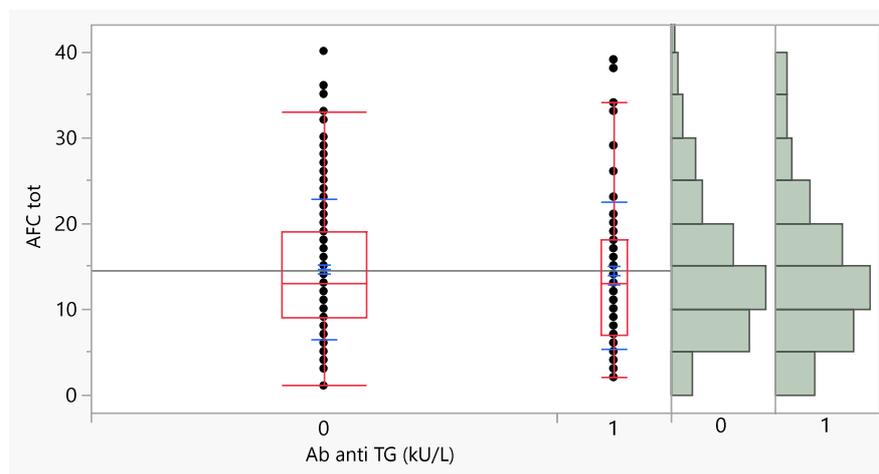


*Figura IV – correlazione tra autoimmunità tiroidea e AMH (ug/l),
in cui: 0 = TAI – e 1 = TAI+*

	TAI – (0)	TAI + (1)	P-VALUE
AMH (UG/L)	2,9 ± 0,2	2,6 ± 0,2	0,57

Tabella V – correlazione tra autoimmunità tiroidea e AMH (ug/l)

Successivamente sono state analizzate singolarmente le influenze degli autoanticorpi sui vari parametri costituenti la riserva ovarica. Per quanto riguarda gli anticorpi anti-tireoglobulina (anti-Tg):



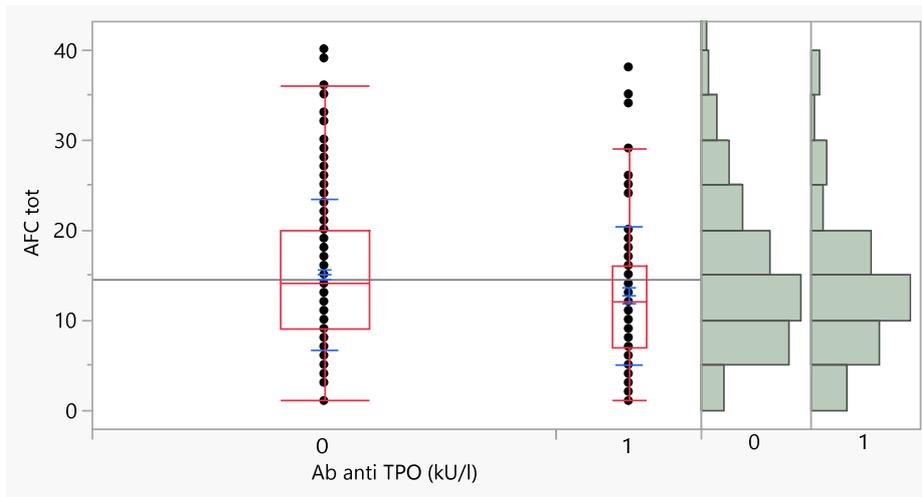
*Figura V – relazione tra anticorpi anti-Tg ed AFC
in cui: 0 = anti-Tg – e 1 = anti-Tg+*

	AB ANTI-TG- (0)	AB ANTI-TG+ (1)	P-VALUE
AFC	14,6 ± 0,5	13,9 ± 1,1	0,9

Tabella VI – relazione tra anticorpi anti-Tg rispetto a AFC, corretta per età

L'influenza degli anticorpi anti-Tg (misurati in kU/L) è risultata essere non statisticamente significativa e marginale rispetto al parametro età, su AFC, valori di FSH e valori di AMH.

Per quanto riguarda gli anticorpi anti-tireoperossidasi (anti-TPO):



*Figura VI – relazione tra anticorpi anti-TPO e AFC,
in cui: 0 = anti-TPO – e 1 = anti-TPO+*

	AB ANTI-TPO- (0)	AB ANTI-TPO+ (1)	P-VALUE
AFC	15 ± 0,5	12,7 ± 0,9	0,07

Tabella VII – relazione tra anticorpi anti-TPO e AFC

L'analisi della relazione tra anticorpi anti-tireoperossidasi (anti-TPO) e conta dei follicoli antrali (AFC) non ha mostrato relazioni statisticamente significative; tuttavia, è emerso un *p-value* di 0,07 nelle pazienti che presentavano gli anticorpi anti-TPO. Tale valore, pur non essendo statisticamente significativo, denota la presenza di un'influenza tra le due variabili analizzate.

Analisi della correlazione tra autoimmunità tiroidea (TAI + e TAI -) ed esito della stimolazione ovarica (numero di ovociti totali, numero di ovociti maturi, numero di ovociti fecondati) e valutazione rispetto alla tecnica di inseminazione (FIVET o ICSI):

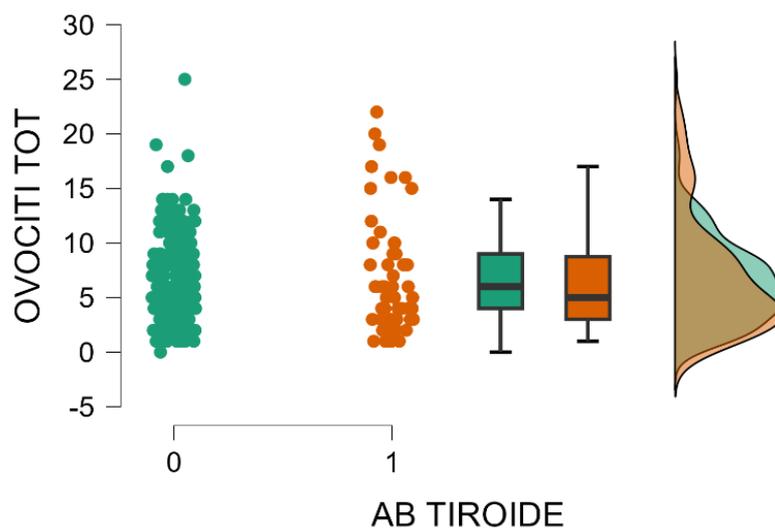


Figura VII – relazione tra autoimmunità tiroidea e numero di ovociti totali, in cui: 0 = TAI – e 1 = TAI+

	TAI+	TAI-	P-VALUE
OVOCITI TOTALI	6,7 ± 0,7	6,5 ± 0,3	0,4

Tabella VIII – relazione tra autoimmunità tiroidea e numero di ovociti totali

	TAI+	TAI-	P-VALUE
FIVET	7,0 ± 0,8	6,3 ± 0,7	0,97
ICSI	6,3 ± 0,7	6,7 ± 0,5	0,97

Tabella IX – relazione tra autoimmunità tiroidea e tecnica di inseminazione

Nelle pazienti che non presentavano una condizione di autoimmunità tiroidea, la tecnica FIVET sia stata quella prevalentemente utilizzata (104 pazienti hanno eseguito FIVET, 99 pazienti hanno eseguito ICSI); invece, nelle pazienti gli autoanticorpi positivi, non si è riscontrata nessuna differenza quantitativa sulla modalità di inseminazione utilizzata (31 pazienti hanno eseguito FIVET, 31 pazienti hanno eseguito ICSI).

Analizzando la possibile correlazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea e la differente tecnica di fecondazione (FIVET o ICSI), si è ottenuto un *p-value* di 0,97 quindi questa relazione non risulta essere statisticamente significativa.

Successivamente è stata analizzata la possibile correlazione, con il metodo ANCOVA tra la presenza di autoimmunità tiroidea, la tecnica di inseminazione, e la quantità di ovociti maturi ottenuti e successivamente fecondati.

La correlazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea (TAI+) e la quantità di ovociti maturi ottenuti non ha dato risultati statisticamente significativi; allo stesso modo, anche la correlazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea (TAI+) e il numero di ovociti fecondati, corretto per tecnica di inseminazione (FIVET/ICSI) non ha dato risultati statisticamente significativi.

	TAI +	TAI -	P-VALUE
OVOCITI MATURI	5,5 ± 0,8	4,9 ± 0,6	0,16
OVOCITI FECONDATI	4,0 ± 0,8	3,9 ± 0,7	0,75

Tabella X – relazione tra autoimmunità tiroidea e il numero ovociti maturi e fecondati ottenuti

Tali analisi non hanno evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa tra la presenza di autoimmunità tiroidea e il numero di ovociti maturi ottenuti, e successivamente il numero di ovociti correttamente fecondati.

Analisi della correlazione tra autoimmunità tiroidea (TAI+ e TAI-) ed esito dei valori del dosaggio delle β -hCG (positivo/negativo):

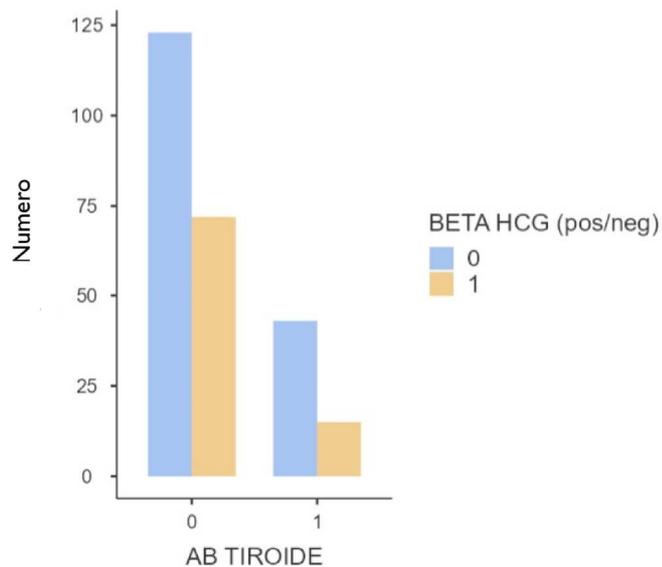


Figura VIII – correlazione tra autoimmunità tiroidea e numero di pazienti con beta-hCG positive

	TAI -	TAI +	TOTALE
B-HCG -	123 (63%)	72 (37%)	195
B-HCG +	43 (74%)	15 (26%)	58
TOTALE	166 (66%)	87 (34%)	253

Tabella XI – correlazione tra autoimmunità tiroidea e dosaggio delle β -hCG

La *tabella XI* mostra il numero dei pazienti che hanno ottenuto un esito positivo al dosaggio delle β -hCG. I test che sono andati a valutare la correlazione tra i valori di β -hCG e la presenza di autoimmunità tiroidea, hanno individuato un R-quadro (U) pari a 0,0077: risultato non statisticamente significativo.

Analisi della correlazione tra autoimmunità tiroidea (TAI+ e TAI-) ed esito dell'ottenimento della gravidanza (positivo =1 / negativo =0):

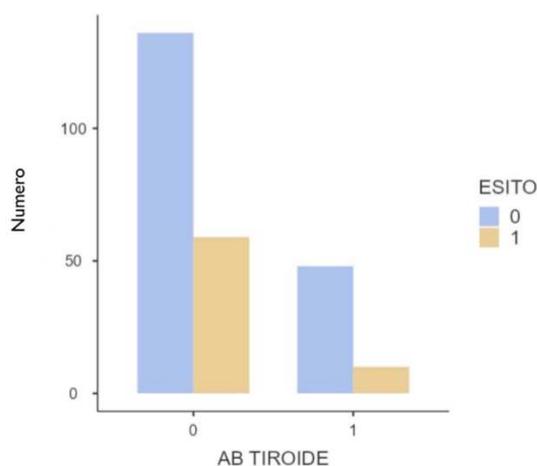


Figura IX – correlazione tra autoimmunità tiroidea ed esito della gravidanza

	TAI -	TAI +	TOTALE
ESITO -	136 (70%)	59 (30%)	195
ESITO +	48 (83%)	10 (17%)	58
TOTALE	184 (73%)	69 (27%)	253

Tabella XII – relazione tra autoimmunità tiroidea ed esito della gravidanza

La *tabella XII* mostra il conteggio dei pazienti che hanno ottenuto un esito positivo della gravidanza a 6sg, quando attraverso indagine ecografica è stata visualizzata la camera gestazionale correttamente impiantata, e la presenza di attività cardiaca embrionale. I test che sono andati a valutare la correlazione tra l'esito della gravidanza e la presenza di autoimmunità tiroidea, hanno individuato un R-quadro (U) pari a 0,0138: risultato non statisticamente significativo.

Analisi della relazione tra la presenza di anticorpi anti-tireoglobulina (anti-TG), dosaggio delle β -hCG, ed esito della gravidanza (positivo/negativo):

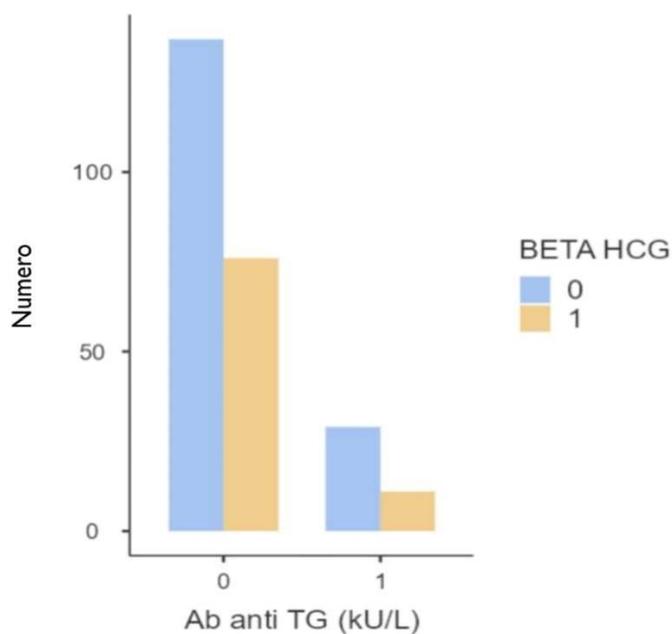


Figura X – correlazione tra la presenza di anticorpi anti-Tg e il numero di pazienti con beta-hCG positive (1) o negative (0)

	ANTI-TG -	ANTI-TG +	TOTALE
B-HCG -	137 (64%)	76 (36%)	213
B-HCG +	29 (73%)	11 (26%)	40
TOTALE	166 (66%)	87 (34%)	253

Tabella XIII – relazione tra anticorpi anti-Tg e dosaggio delle β -hCG

La *figura X* analizza la relazione tra la presenza dell'anticorpo anti-tireoglobulina (anti-TG) e il dosaggio delle β -hCG: da tale relazione è emerso un R-quadro (U) pari a 0,0032: risultato non statisticamente significativo.

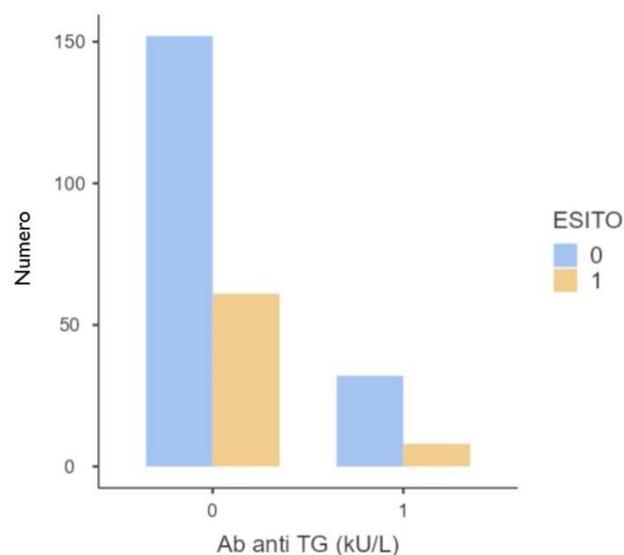


Figura XI - correlazione tra la presenza di anticorpi anti-Tg e il numero di pazienti con esito di gravidanza positivo (1) o negativo (0)

	ANTI-TG -	ANTI-TG +	TOTALE
ESITO -	152 (71%)	61 (29%)	213
ESITO +	32 (80%)	8 (20%)	40
TOTALE	184 (73%)	69 (27%)	253

Tabella XIV – relazione tra anticorpi anti-Tg ed esito della gravidanza

La *figura XI* analizza la relazione tra la presenza dell'anticorpo anti-tireoglobulina (anti-TG) e l'esito della gravidanza (positivo/negativo): da tale relazione è emerso un R-quadro (U) pari a 0,0045: risultato non statisticamente significativo.

**Analisi della relazione tra la presenza di anticorpi anti-tireoperossidasi (anti-TPO),
dosaggio delle β -hCG, ed esito della gravidanza (positivo/negativo):**

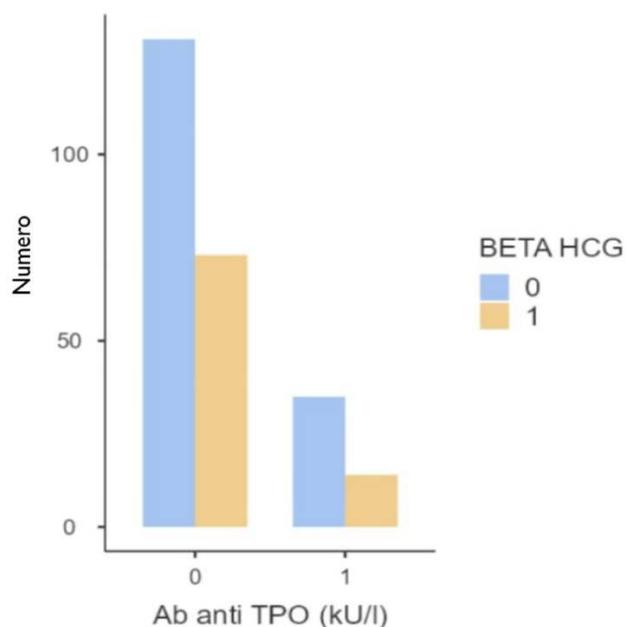


Figura XII - correlazione tra la presenza di anticorpi anti-TPO e il numero di pazienti con beta-hCG positive (1) o negative (0)

	ANTI-TPO -	ANTI-TPO +	TOTALE
B-HCG -	131 (64%)	73 (36%)	204
B-HCG +	35 (72%)	14 (28%)	49
TOTALE	166 (66%)	87 (34%)	253

Tabella XV – relazione tra anticorpi anti-TPO e dosaggio delle β -hCG

La *figura XII* analizza la relazione tra la presenza dell'anticorpo anti-tireoperossidasi (anti-TPO) e il dosaggio delle β -hCG: da tale relazione è emerso un R-quadro (U) pari a 0,0029, risultato non statisticamente significativo.

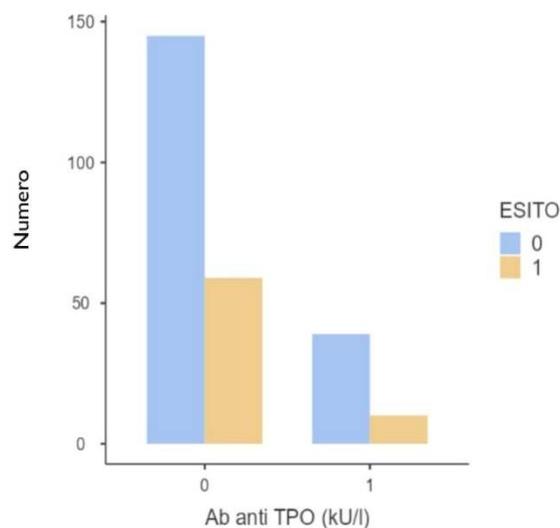


Figura XIII - - correlazione tra la presenza di anticorpi anti-TPO e il numero di pazienti con esito di gravidanza positivo (1) o negativo (0)

	ANTI-TPO -	ANTI-TPO +	TOTALE
ESITO -	145 (71%)	59 (29%)	204
ESITO +	39 (80%)	10 (20%)	49
TOTALE	184 (73%)	69 (27%)	253

Tabella XVI – relazione tra anticorpi anti-TPO ed esito della gravidanza

La *figura XIII* analizza la relazione tra la presenza dell'anticorpo anti-tireoperossidasi (anti-TPO) e l'esito della gravidanza (positivo/negativo): da tale relazione è emerso un R-quadro (U) pari a 0,0051, risultato non statisticamente significativo.

DISCUSSIONE

L'autoimmunità tiroidea è una delle più comuni endocrinopatie in età fertile, soprattutto nelle donne affette da infertilità: è caratterizzata da elevati livelli sierici di anticorpi anti-Tireoglobulina (anti-Tg) e di anticorpi anti-Perossidasi tiroidea (anti-TPO). Nel nostro lavoro è stata analizzata la presenza dell'autoimmunità tiroidea in relazione a diversi parametri predittivi della riserva ovarica, quali AMH e AFC, in relazione agli esiti ottenuti dai trattamenti di PMA e, di conseguenza, in relazione all'ottenimento della gravidanza: tale relazione è stata analizzata sia in base alla presenza di una condizione di autoimmunità tiroidea, sia analizzando l'influenza degli anticorpi anti-Tg e anti-TPO singolarmente.

Dal nostro studio non è stata evidenziata una correlazione statisticamente significativa tra l'autoimmunità tiroidea e la riserva ovarica, e tra l'autoimmunità tiroidea e gli esiti dei trattamenti di PMA. È stata però osservata la presenza di una correlazione tra autoimmunità tiroidea e riserva ovarica, seppur in modo non statisticamente significativo, in particolare tra la presenza di anticorpi anti-TPO e la conta dei follicoli antrali (AFC).

Tali dati risultano essere in accordo con diversi studi presenti in letteratura che evidenziano la presenza di un'insufficiente riserva ovarica nelle pazienti TAI+ che si sottopongono a PMA: in particolare, Wei et al. hanno riscontrato livelli di AMH significativamente inferiori nelle pazienti anti-TPO positive, rispetto ai controlli negativi; trovando, inoltre, una riserva ovarica inferiore nelle donne con anticorpi anti-TPO, le quali necessitavano di maggiori dosi di gonadotropine nei trattamenti di stimolazione ovarica (Wei, 2023).

Risultati simili sono stati confermati da Safarian et al., che hanno riscontrato livelli sierici di AMH nettamente inferiori nelle pazienti anti-TPO positive, le quali richiedevano dosaggi maggiori di gonadotropine, risultando comunque in un numero inferiore di ovociti reclutati, rispetto ai controlli anti-TPO negativi (Safarian G. K., 2023).

Tanska et al. hanno trovato un tasso inferiore di fertilizzazione degli ovociti nelle pazienti che presentavano gli anticorpi anti-TPO, suggerendo che l'antigene TPO fosse di comune riscontro sia nel tessuto tiroideo, sia nel tessuto ovarico. Tali evidenze indicano che un'insufficienza di ormone tiroideo associata alla presenza di autoimmunità tiroidea, potrebbero avere un ruolo cruciale nel processo di danneggiamento della riserva ovarica (Tańska, 2023).

Questa influenza è sostenuta anche da ulteriori studi, in cui è riportata una correlazione tra una ridotta riserva ovarica e la presenza degli anticorpi sulla superficie follicolare (Monteleone, 2011).

Al contrario, sono presenti alcuni studi che affermano non sia possibile associare la condizione di autoimmunità tiroidea, e in particolar modo la presenza dell'anticorpo anti-TPO, alla riduzione della riserva ovarica, in quanto sono emersi esiti simili tra i valori di AMH nelle pazienti TAI+ e nei controlli negativi (Osuka, 2018), (Polyzos, 2015). Nello studio di Notaro et al., è emersa, al contrario, una maggiore influenza tra gli anticorpi anti-Tg e una diminuita riserva ovarica, ma è stato utilizzato solo il valore di AMH come marker di riserva ovarica (Notaro, 2024).

I meccanismi molecolari alla base dell'associazione tra una ridotta fertilità e la presenza di anticorpi anti-tiroide non sono completamente chiari. Uno dei possibili

meccanismi per spiegare tale relazione, si basa sulla rilevazione degli anticorpi anti-TPO nel fluido follicolare delle donne affette da infertilità ed autoimmunità tiroidea, e, tali livelli di anticorpi sono correlati ai rispettivi valori sierici. In uno studio sperimentale su modello animale è stata osservata una reattività crociata tra gli anticorpi anti-zona pellucida e il tessuto tiroideo (Safarian G. K., 2023).

La zona pellucida è una matrice extracellulare glicoproteica che circonda l'ovocita durante la sua crescita: essa ha la funzione di barriera specie-specifica verso il liquido seminale, controllando e promuovendo il legame tra l'ovocita e gli spermatozoi, e controllando l'induzione della reazione acrosomiale (Zhang, 2022).

Rispetto all'interazione degli anticorpi con la zona pellucida, sono state formulate diverse ipotesi riguardanti le loro modalità di interazione: una di queste ha mostrato come la presenza degli auto-anticorpi vada ad attivare un'anormale risposta immunitaria nella zona follicolare, alterando la distribuzione di citochine e chemochine intrafollicolari, portando ad una precoce insufficienza ovarica (Huang N. L., 2021). Di conseguenza, la presenza degli anticorpi anti-tiroide sulla zona pellucida, potrebbe portare ad una precoce alterazione embrionale, ad un minor tasso di fecondazione, e infine ad una minore capacità di impianto (Safarian G. K., 2023).

Per quanto riguarda l'influenza dell'autoimmunità tiroidea sugli esiti della gravidanza e dei trattamenti di PMA, dai nostri risultati non è emersa una correlazione statisticamente significativa, anche a causa del ridotto campione. È emersa, però, una tendenza negativa tra la presenza di autoimmunità tiroidea, in particolar modo verso gli anticorpi anti-TPO, e il mancato ottenimento della gravidanza.

I nostri risultati sono in accordo con gli studi presenti in letteratura che riportano un'associazione tra gli anticorpi anti-tiroide e un maggior numero di esiti avversi della gravidanza tra cui, in particolare, un maggiore tasso di aborto spontaneo (Negro R. S.-G., 2011), (Tańska, 2023), (Safarian G. K., 2019). Zhong et al. non hanno rilevato differenze statisticamente significative per quanto riguarda l'associazione tra autoimmunità tiroidea e un minor numero di gravidanze ottenute, ma hanno riscontrato tassi inferiori di fecondazione e di embrioni ottenuti nelle donne TAI+ (Zhong, 2012).

Sebbene tali studi dimostrino la presenza di una correlazione tra i due fattori, sono diversi gli autori che sostengono che la presenza di autoimmunità tiroidea non influisca sulle possibilità di successo dei trattamenti di PMA e, di conseguenza, sulle possibilità di ottenimento della gravidanza (Huang N. C., 2024), (Sakar, 2016). (Huang N. C., 2021), (Busnelli, 2016). In uno studio retrospettivo che coinvolgeva 416 donne, Negro et al. non hanno trovato differenze sui tassi di gravidanza tra le donne che presentavano gli anticorpi e i controlli negativi; inoltre, differenze statisticamente significative non sono emerse neppure analizzando l'influenza degli anticorpi anti-TPO presi singolarmente, ma il campione in analisi è ridotto (42 donne anti-TPO+ contro 374 donne anti-TPO-) (Negro R. F., 2007).

Dai nostri risultati invece, è emersa una lieve correlazione tra la presenza dell'anticorpo anti-TPO e un minor numero di esiti positivi dei trattamenti di PMA, seppur in modo non statisticamente significativo.

Tale correlazione è in linea con diversi autori, i quali hanno riportato che la presenza dell'anticorpo anti-TPO ha un effetto significativo sulla qualità degli embrioni nelle

donne eutiroidee che si sottopongono a trattamenti di PMA riducendo, di conseguenza, il tasso di fecondazione e di impianto (Wei, 2023).

Andrisani et al., hanno dimostrato che la qualità degli embrioni è significativamente diminuita in particolar modo nelle donne che si sottopongono a cicli di FIVET, probabilmente a causa della presenza di alcuni ovociti immaturi tra quelli reclutati (Andrisani, 2018). Considerata la dimostrata presenza degli anticorpi tiroidei nel fluido follicolare (Monteleone, 2011), si è ipotizzato che quest'ultima potrebbe causare una reazione citotossica anticorpo-mediata nella zona pellucida dei follicoli in via di maturazione, riducendone la loro qualità e, di conseguenza, il loro potenziale di sviluppo e fecondazione. Per questo motivo è stato suggerito di preferire le tecniche ICSI, rispetto alle tecniche FIVET, nelle donne TAI+, in modo tale da evitare l'interazione tra lo spermatozoo e la zona pellucida (Andrisani, 2018).

Nel nostro lavoro non sono emerse differenze significative tra le due tecniche di fecondazione, probabilmente a causa del ridotto campione di donne TAI+ analizzate.

CONCLUSIONE

In questo studio è stata evidenziata l'influenza dell'autoimmunità tiroidea e, in particolar modo, degli anticorpi anti-TPO, sulla riserva ovarica e sugli esiti dei trattamenti di PMA, seppur questa associazione non risulta statisticamente significativa.

Le relazioni individuate tra le variabili meritano sicuramente un approfondimento. I presupposti iniziali dello studio rimangono validi ma la presenza di alcuni *bias* suggerisce la necessità di ulteriori ricerche con campioni più ampi e disegni di studio più rigorosi al fine di migliorare la comprensione della complessa interazione tra la presenza di autoimmunità tiroidea e la riserva ovarica nelle donne che si sottopongono a PMA.

BIBLIOGRAFIA

- 1) AlexanderErik, K. P. (2017). AlexanderErik, K., PearceElizabeth, N., BrentGregory, A., BrownRosalind, S., GrobmanWilliam, Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum. *Thyroid*.
- 2) Andrisani, A. S. (2018). The influence of thyroid autoimmunity on embryo quality in women undergoing assisted reproductive technology. *Gynecological Endocrinology*, 34(9), 752-755.
- 3) Bucci, I. G. (2022). Thyroid autoimmunity in female infertility and assisted reproductive technology outcome. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 768363.
- 4) Busnelli, A. P. (2016). The impact of thyroid autoimmunity on IVF/ICSI outcome: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*, 22(6), 775-790.
- 5) Carson, S. A. (2021). *Diagnosis and management of infertility: a review*. 326(1), 65-76.: Jama.
- 6) Cedars, M. I. (2022). Evaluation of female fertility—AMH and ovarian reserve testing. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 107(6), 1510-1519.

- 7) Crafa, A. C. (2021). I disordini endocrini nella pratica clinica: epidemiologia e domanda di salute nella vita reale. . *L'Endocrinologo*, 22, 399-407.
- 8) Cunningham, F. G. (2014). *Williams obstetrics*. Piccin.
- 9) Di Sabatino, A. M. (2011). L'esaurimento della funzione ovarica: quando e come indagarla. *Bollettino Ginecologia endocrinologica* 5, 1-7.
- 10) Edwards, R. G. (1984). Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility . *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, 1, 3-23.
- 11) Gizzo, S. A. (2014). Ovarian reserve test: an impartial means to resolve the mismatch between chronological and biological age in the assessment of female reproductive chances. *Reproductive sciences*, 21(5), 632-639.
- 12) Gorkem, U. &. (2019). Is there a need to alter the timing of anti-müllerian hormone measurement during the menstrual cycle? *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 79(07), 731-737.
- 13) Huang, N. C. (2021). Impact of thyroid autoimmunity on in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection outcomes and fetal weight. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 698579.
- 14) Huang, N. C. (2024). Impact of thyroid autoimmunity on the cumulative live birth rates after IVF/ICSI treatment cycles. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 24(1), 230.

- 15) Huang, N. L. (2021). Immunological microenvironment alterations in follicles of patients with autoimmune thyroiditis. *Frontiers in Immunology*, 12, 770852.
- 16) Jirge, P. R. (2016). Poor ovarian reserve. *Journal of human reproductive sciences*, 9(2), 63-69.
- 17) Kabodmehri, R. S. (2021). The relationship between thyroid function and ovarian reserve: a prospective cross-sectional study. *Thyroid Research*, 14, 1-6.
- 18) Kelsey, T. W. (2011). A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PloS one*, 6(7), e22024.
- 19) Korevaar, T. I. (2019). Association of thyroid function test abnormalities and thyroid autoimmunity with preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Jama*, 322(7), 632-641.
- 20) Lee, S. H. (2017). Comparison of clinical outcomes between in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in IVF-ICSI split insemination cycles. *Clinical and experimental reproductive medicine*, 44(2), 96.
- 21) Magri, F. S. (2015). Anti-Mullerian hormone as a predictor of ovarian reserve in ART protocols: the hidden role of thyroid autoimmunity. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13, 1-8.

- 22) Mazzilli, R. M. (2023). The role of thyroid function in female and male infertility: a narrative review. *Journal of endocrinological investigation*, 46(1), 15-26.
- 23) Meomartino, L. R. (2023). Alterazioni tiroidee nella fecondazione medicalmente assistita. *L'Endocrinologo*, 24(6), 616-623.
- 24) Monteleone, P. P. (2011). Female infertility related to thyroid autoimmunity: the ovarian follicle hypothesis. *American journal of reproductive immunology*, 66(2), 108-114.
- 25) Moolhuijsen, L. M. (2020). Anti-Müllerian hormone and ovarian reserve: update on assessing ovarian function. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(11), 3361-3373.
- 26) Negro, R. F. (2007). Euthyroid women with autoimmune disease undergoing assisted reproduction technologies: the role of autoimmunity and thyroid function. *Journal of endocrinological investigation*, 30, 3-8.
- 27) Negro, R. S.-G. (2011). Thyroid antibody positivity in the first trimester of pregnancy is associated with negative pregnancy outcomes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(6), E920-E924.
- 28) Notaro, A. L. (2024). Evaluation of ovarian reserve in women with thyroid autoimmunity. *JBRA Assisted Reproduction*, 28(3), 442.
- 29) Osuka, S. I. (2018). Thyroid autoantibodies do not impair the ovarian reserve in euthyroid infertile women: a cross-sectional study. *Hormone and Metabolic Research*, 50(07), 537-542.

- 30) Polyzos, N. P. (2015). Thyroid autoimmunity, hypothyroidism and ovarian reserve: a cross-sectional study of 5000 women based on age-specific AMH values. *Human reproduction*, 30(7), 1690-1696.
- 31) Rizk, B. R.-V. (2008). *Infertility and Assisted Reproduction*. Cambridge: Cambridge University Press.
- 32) Safarian, G. K. (2019). Does subclinical hypothyroidism and/or thyroid autoimmunity influence the IVF/ICSI outcome? Review of the literature. *Gynecological Endocrinology*, 35(sup1), 56-59.
- 33) Safarian, G. K. (2023). Impact of antithyroperoxidase antibodies (Anti-TPO) on ovarian reserve and early embryo development in assisted reproductive technology cycles. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4705.
- 34) Sagili, H. S. (2023). *Thyroid Disease in Pregnancy-A Guide to Clinical Management*. Springer.
- 35) Sakar, M. N. (2016). Is there an effect of thyroid autoimmunity on the outcomes of assisted reproduction? *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 36(2), 213-217.
- 36) Scolaro, V. D. (2012, agosto). I marcatori di riserva ovarica nella medicina della riproduzione. *L'Endocrinologo*, pp. 169-173.
- 37) Sherwood, L. &. (2012). *Fondamenti di fisiologia umana*. Piccin.
- 38) Spinillo, A. D. (2021). Placental pathologic features in thyroid autoimmunity. *Placenta*, 112, 66-72.

- 39) Tal, R. &. (2017). Ovarian reserve testing: a user's guide. *American journal of obstetrics and gynecology*, 217(2), 129-140.
- 40) Tańska, K. G.-C. (2023). Thyroid autoimmunity and its negative impact on female fertility and maternal pregnancy outcomes. *Frontiers in endocrinology*, 3, 1049665.
- 41) Tsepelidis, S. D. (2007). Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Human reproduction*, 22(7), 1837-1840.
- 42) Unuane, D. &. (2020). Impact of thyroid disease on fertility and assisted conception. ,. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 34(4). doi:101378
- 43) Verissimo, R. &. (2016). Ovarian reserve markers and antral follicle count, Marcadores de reserva ovárica e contagem de folículos antrais. *Acta Obstet Ginecol Port*, 10(4), 308-316.
- 44) Wang, J. Z. (2024). Thyroid ultrasonic changes relate to implantation failure in euthyroid women with thyroid autoimmunity undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Gynecological Endocrinology*, 40(1), 2368832.
- 45) Wei, S. X. (2023). TPOAb positivity can impact ovarian reserve, embryo quality, and IVF/ICSI outcomes in euthyroid infertile women. *Gynecological Endocrinology*, 39(1), 2266504.

- 46) Zegers-Hochschild, F. A. (2017). The international glossary on infertility and fertility care. *Human reproduction*, 32(9), 1786-1801.
- 47) Zhang, R. C. (2022). The Relationships among Plasma Fetuin-B, Thyroid Autoimmunity, and Fertilization Rate In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. *International Journal of Endocrinology*, 2022(1), 9961253.
- 48) Zhong, Y. P. (2012). Relationship between antithyroid antibody and pregnancy outcome following in vitro fertilization and embryo transfer. *International journal of medical sciences*, 9(2), 121.

