

Indicatori di riserva ovarica: qualità o quantità

VALERIA PERONE^{1,2}, MARILENA TAGGI³, FEDERICA BATTISTA³, DANILO CIMADOMO³, FILIPPO MARIA UBALDI³,
ROSSELLA E. NAPPI^{1,2} ALBERTO VAIARELLI³

¹RESEARCH CENTER FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, GYNECOLOGICAL ENDOCRINOLOGY AND MENOPAUSE,
IRCCS SAN MATTEO FOUNDATION, PAVIA, ITALY;

²DEPARTMENT OF CLINICAL, SURGICAL, DIAGNOSTIC AND PEDIATRIC SCIENCES, UNIVERSITY OF PAVIA, PAVIA, ITALY;

³IVIRMA GLOBAL RESEARCH ALLIANCE, GENERA, CLINICA VALLE GIULIA, VIA G. DE NOTARIS 2B, ROME, ITALY

ABSTRACT

{ITA} La riserva ovarica indica il potenziale riproduttivo di una donna. I marker di riserva ovarica attualmente utilizzati sono l'ormone antimulleriano (AMH), la conta dei follicoli antrali (AFC) e l'FSH, che permettono di valutare esclusivamente la quantità di ovociti residui ma non la qualità, per la quale l'età rimane il migliore marker.

Tali marker sono utili soprattutto per prevedere la risposta ai trattamenti di PMA ma presentano ancora importanti limiti nella previsione degli esiti riproduttivi.

Sarà fondamentale sviluppare sistemi di classificazione più articolati per una caratterizzazione più precisa dell'aging ovarico e una maggiore personalizzazione dei protocolli terapeutici, soprattutto nell'età materna avanzata.

{ENG} Ovarian reserve reflects a woman's reproductive potential. The main markers currently used to assess ovarian reserve, anti-Müllerian hormone (AMH), antral follicle count (AFC), and follicle-stimulating hormone (FSH), indicate the quantity of remaining oocytes but not their quality, for which age remains the best predictor.

While these markers are useful in predicting the ovarian response to ART, they still have significant limitations in predicting reproductive outcomes.

There is a growing need to develop more comprehensive classification systems to achieve a more accurate characterization of ovarian aging and to enable greater personalization of therapeutic protocols, particularly in women of advanced maternal age.

INTRODUZIONE

L'infertilità, definita come l'assenza di concepimento spontaneo dopo 12 mesi di rapporti sessuali mirati e non protetti (OMS), è oggi una problematica non solo medica, ma anche sociale, con una prevalenza in aumento sia nei Paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo. Negli ultimi 35 anni, le tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA) si sono evolute progressivamente, diventando sempre più efficaci nel trattamento dell'infertilità.

Attualmente una coppia su sei presenta problematiche di infertilità e, si stima, che l'attuale prevalenza di infertilità di durata superiore ai 12 mesi colpisca tra l'8 e il 12% delle donne di età compresa tra i 20 e i 44 anni.

Ogni anno vengono effettuati più di tre milioni di cicli di PMA (ICMART 2022), con una stima di circa 769 777 bambini nati annualmente in tutto il mondo. Sono invece più di 10 milioni i bambini nati con tecniche di PMA a partire dal 1978.

Tuttavia, una scarsa riserva ovarica, spesso associata ad un'età materna avanzata, rappresenta, ad oggi, uno dei fattori maggiormente limitanti il successo dei moderni trattamenti di PMA [1].

Il termine "riserva ovarica" è tradizionalmente utilizzato per descrivere il potenziale riproduttivo di una donna, riferendosi specificatamente alla quantità e alla qualità degli ovociti presenti. Tuttavia, gli attuali indicatori di riserva ovarica comu-

nemente utilizzati si sono dimostrati affidabili nel misurare la quantità ovocitaria, ma poco efficaci nel predire la qualità degli ovociti. È noto ormai che la fertilità femminile subisce un declino progressivo e inevitabile all'aumentare dell'età anagrafica in quanto il numero di follicoli primordiali presenti nelle ovaie della donna, che costituisce la riserva funzionale, diminuisce costantemente fino ad esaurirsi con la menopausa, momento in cui le ovaie cessano definitivamente la loro attività.

Pertanto, oggi il concetto di riserva ovarica fa principalmente riferimento alla quantità di ovociti residui, mentre la qualità ovocitaria continua a essere meglio stimata attraverso l'età della donna, che rimane il parametro predittivo più accurato. [2]

La qualità ovocitaria è, difatti, difficilmente definibile e, nel contesto dei trattamenti di PMA, sono stati individuati come indicatori di qualità ovocitaria direttamente correlati all'età materna il tasso di blastulazione (inteso come capacità degli embrioni di raggiungere lo stato di blastocisti) ed il tasso di aneuploidie embrionali. Nello specifico, l'età materna avanzata (≥ 35 anni) mostra un lieve impatto negativo sul tasso di blastocisti per ovocita inseminato, in particolare dopo i 40 anni, ed un incremento significativo del tasso di aneuploidie embrionali. Tra i principali meccanismi biologici e molecolari coinvolti nel peggioramento qualitativo degli ovociti vi sono: disfunzioni mitocondriali e della coesina, accorciamento dei

telomeri ed alterazione del fuso meiotico. Da un punto di vista clinico invece questi aspetti si traducono in un aumento della percentuale di aborti precoci ed aumento di aneuploidie vitali. [3]

Gli indicatori di riserva ovarica rappresentano strumenti fondamentali nella medicina della riproduzione. Comprendere se i marcatori attualmente disponibili valutino la quantità, la qualità ovocitaria, o entrambe, è fondamentale per orientare le decisioni cliniche, impostare un counselling efficace con la paziente, prevedere la risposta alle tecniche di PMA e sviluppare strategie terapeutiche personalizzate. [4]

I principali indicatori oggi più diffusi includono l'ormone antimülleriano (AMH), la conta dei follicoli antrali (AFC) e l'ormone follicolo-stimolante (FSH).

ORMONE ANTI MULLERIANO (AMH)

L'ormone anti-mülleriano (AMH) è una glicoproteina dimerica prodotta esclusivamente dalle cellule della granulosa dei follicoli pre-antrali (primari e secondari) e dei piccoli follicoli antrali. La secrezione di AMH inizia con la transizione dei follicoli primordiali allo stadio primario e prosegue fino a quando i follicoli raggiungono un diametro compreso tra 8 e 10 mm. [5] Studi recenti hanno evidenziato che i follicoli con diametro compreso tra 5 e 8 mm sono responsabili di circa il 60% della concentrazione sierica totale di AMH [6].

Poiché l'AMH è prodotto dai follicoli in fase di crescita prima della selezione dipendente dall'ormone follicolo-stimolante (FSH) ed è rilevabile nel circolo ematico, esso ha acquisito rilevanza clinica come marcatore della riserva ovarica, in particolare per la valutazione della sua componente quantitativa. Inoltre, i livelli di AMH forniscono indicazioni prognostiche sulla risposta alla stimolazione ovarica e consentono una stima approssimativa dell'età della menopausa. [7] Infatti, con l'avanzare dell'età, il numero di follicoli antrali si riduce progressivamente, comportando una conseguente diminuzione della produzione di AMH, fino a raggiungere livelli sierici non rilevabili nelle fasi premenopausali. [7]

Nella donna adulta, la concentrazione sierica dell'AMH è inversamente correlata all'età: i valori aumentano dalla pubertà fino a stabilizzarsi attorno ai 25 anni, per poi diminuire gradualmente con l'età. I valori di riferimento approssimativi in funzione dell'età sono i seguenti:

- » 25 anni: 3.0 ng/mL
- » 30 anni: 2.5 ng/mL
- » 35 anni: 1.5 ng/mL
- » 40 anni: 1 ng/mL
- » 45 anni: 0.5 ng/mL [8]

Attualmente, l'AMH è considerato un marcitore affidabile e vantaggioso per la valutazione della riserva ovarica. Grazie alla sua relativa indipendenza dalle variazioni delle gonadotropine circolanti, può essere dosato in qualsiasi fase del ciclo ovarico, poiché presenta solo lievi fluttuazioni, non altamente significative, sia intra- che inter-ciclo. Tuttavia, una limitazione rilevante del suo utilizzo è rappresentata dalla variabilità analitica tra i diversi kit commerciali disponibili e dall'assenza di una standardizzazione internazionale, elementi che possono influire sull'interpretazione clinica dei risultati. [8] Nell'interpretazione clinica dei valori sierici di AMH è importante considerare l'eventuale presenza di fattori biologici,

riproduttivi e ambientali che possono influenzarne la concentrazione, conducendo potenzialmente a una valutazione inaccurata della riserva ovarica. [8]

Tra i fattori biologici, l'etnia rappresenta una variabile significativa: è stato osservato che le donne di origine caucasica tendono ad avere valori medi di AMH più elevati rispetto a quelle di origine africana, asiatica o latino-americana [9]. Inoltre, alcune patologie sistemiche, quali il morbo di Crohn e il lupus eritematoso sistematico (LES), sono state associate a una riduzione dei livelli circolanti di AMH [10,11].

Dal punto di vista ginecologico, esistono condizioni cliniche che possono determinare un'alterazione dei livelli di AMH rispetto a quanto atteso per età. L'insufficienza ovarica prematura (POI) si associa a valori significativamente ridotti, mentre la sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è caratterizzata da livelli sierici di AMH da due a quattro volte superiori rispetto a quelli riscontrati in donne normovulatorie. [12] Anche l'endometriosi comporta una riduzione dei livelli di AMH, così come l'utilizzo di contraccettivi ormonali combinati o di agonisti del GnRH, sebbene in questi casi i valori tendano a normalizzarsi entro 3-4 mesi dalla sospensione del trattamento. [13]

Tra i fattori ambientali, il fumo di sigaretta, l'ipovitaminosi D e l'obesità possono contribuire a una riduzione dei livelli sierici di AMH. [8]

Numerosi studi hanno evidenziato una stretta correlazione tra i livelli di AMH circolante e la risposta ovarica alla stimolazione con gonadotropine esogene, in particolare in termini di numero di ovociti recuperati. Alla luce di ciò, l'AMH rappresenta uno strumento utile nella consulenza pre-trattamento, consentendo di stimare il numero atteso di ovociti recuperabili e di orientare la scelta del protocollo di stimolazione e il relativo dosaggio farmacologico.

Tuttavia, per quanto sia vero che l'AMH sia un predittore di risposta ovarica alla stimolazione, il suo valore non correla con il tasso di gravidanza: è infatti possibile ottenere una gravidanza anche in donne con bassi valori di AMH e gli studi hanno ormai dimostrato che il valore di AMH non correla con il tasso di aneuploidie embrionali, aspetto clinicamente importante nel trattamento di giovani donne con bassa riserva ovarica. [14]

Per tale motivo, sono stati proposti negli anni diversi sistemi di classificazione che integrano l'AMH con altri parametri biologici, in particolare l'età anagrafica. Tra questi, la classificazione POSEIDON rappresenta attualmente uno degli strumenti più utili nella stratificazione delle pazienti a bassa risposta ovarica (poor responders), migliorando l'orientamento terapeutico personalizzato. [2]

CONTA DEI FOLLICOLI ANTRALI (AFC)

La conta dei follicoli antrali (AFC) corrisponde alla somma dei follicoli visibili in entrambe le ovaie mediante l'ecografia transvaginale, eseguita nella fase follicolare precoce del ciclo mestruale (tra la 2^a e la 4^a giornata di mestruazione).

L'AFC è riconosciuta come un valido marcitore della riserva ovarica, dotato di una buona capacità predittiva della risposta ovarica alla stimolazione ormonale, e viene frequentemente impiegata in modo complementare o interscambiabile con l'AMH ed aiuta a personalizzare i trattamenti di PMA. [15]

Nel corso di ogni ciclo ovarico, una piccola parte di follicoli si sviluppa oltre i 2 mm di diametro, evolvendo verso lo stadio pre-antrale e successivamente antrale. Questi follicoli, definiti "re-clutabili", sono caratterizzati da un'elevata sensibilità all'ormone FSH e costituiscono il substrato follicolare valutato dall'AFC. Si tratta dello stesso comparto follicolare responsabile della secrezione di AMH e, in quanto strettamente correlato al numero di follicoli primordiali, l'AFC riflette in maniera attendibile la riserva ovarica. Ne deriva pertanto un'elevata correlazione esistente anche tra i valori di AFC e AMH, e sebbene siano riportati casi in cui i valori dei due markers sono discordanti, in generale, ad oggi, la performance dell'AFC e dell'AMH nella stima quantitativa della riserva ovarica risulta essere sovrapponibile. [15] Analogamente all'AMH, l'AFC tende a ridursi progressivamente con l'età, in relazione al fisiologico esaurimento del pool follicolare primordiale e, di conseguenza, alla diminuzione del numero di follicoli antrali osservabili. [4]

La AFC presenta una bassa variabilità inter-ciclo; tuttavia, la variabilità intra-ciclo non è trascurabile, motivo per cui la conta dovrebbe essere effettuata sempre nelle fasi iniziali del ciclo mestruale. Il principale limite dell'AFC risiede nella sua variabilità intra- e inter-osservatore, poiché la valutazione ecografica da cui dipende è fortemente influenzata dall'esperienza e dall'accuratezza dell'operatore. Tale variabilità, però, può essere almeno in parte ridotta con un'adeguata formazione del personale ecografista e con l'impiego di tecnologie avanzate, come le metodiche ecografiche tridimensionali (3D) per la conta automatica dei follicoli. [4]

Un ulteriore limite dell'AFC è la tendenza a sovrastimare il numero di follicoli FSH sensibili, includendo inevitabilmente anche follicoli atresici di dimensioni simili (7–8 mm). [8]

Infine, nelle donne con indice di massa corporea (BMI) elevato, è stata osservata una maggiore variabilità sia intra- che interciclo, riducendo l'affidabilità dell'AFC in questa specifica sottopopolazione [16].

Nonostante queste limitazioni, l'AFC è uno dei marker di riserva ovarica più ampiamente utilizzati nella pratica clinica. Tale diffusione è dovuta, da un lato, all'ampia disponibilità e facilità d'esecuzione dell'ecografia transvaginale nei centri di PMA e, dall'altro, alla riconosciuta stretta correlazione esistente tra l'AFC e il numero di ovociti recuperati dopo la stimolazione ovarica. Analogamente all'AMH, l'AFC è in grado di predire gli estremi della risposta ovarica. In particolare, valori inferiori a 5–7 follicoli sono considerati predittivi di una scarsa risposta alla stimolazione, mentre valori superiori a 9–16 follicoli identificano con buona sensibilità le pazienti a rischio di iper-risposta e, potenzialmente, di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS). [4]

La relazione tra AFC e qualità ovocitaria, e quindi con l'esito finale dei trattamenti di PMA, risulta meno definita. Alcuni studi suggeriscono una limitata capacità dell'AFC di predire il tasso di gravidanza evolutiva o di nascita di un nato vivo, mentre altri riportano un'associazione positiva tra l'AFC e il tasso cumulativo di nati vivi. [8]

In conclusione, come suggerito da alcune metanalisi, analogamente all'AMH, una bassa AFC è associata ad una scarsa risposta ovarica in seguito a stimolazione durante il trattamento di PMA, ma ha una scarsa predittività per il tasso di gravidanza. [8]

FSH

Il dosaggio dell'FSH basale nella fase follicolare precoce è stato proposto oltre trent'anni fa come marker indiretto della riserva ovarica, con particolare riferimento alla sua capacità predittiva nei confronti della risposta ovarica ai trattamenti di PMA (17, 18).

Il valore dell'FSH consente una stima indiretta della riserva ovarica attraverso l'analisi del feedback negativo esercitato dagli ormoni ovarici – principalmente estradiolo e inibina B – sull'asse ipotalamo-ipofisi. Nelle donne con funzione ovarica conservata, la produzione di questi ormoni durante le fasi iniziali del ciclo è sufficiente a mantenere l'FSH entro limiti fisiologici. Al contrario, una ridotta riserva ovarica comporta una produzione ormonale inadeguata, con conseguente perdita del controllo inibitorio e incremento dei livelli basali di FSH.

Tuttavia, in quanto un marker indiretto, l'FSH basale presenta numerosi limiti, tra cui una significativa variabilità intraciclo ed interciclo che ne compromette l'affidabilità [19] nonché la dipendenza dalla funzionalità dell'intero asse ipotalamo-ipofisi-ovaio. Per migliorarne la precisione diagnostica, è raccomandata l'interpretazione congiunta del valore di FSH e dei livelli sierici di estradiolo, misurati anch'essi nella fase follicolare precoce, al fine di ridurre il rischio di falsi negativi. [8]

Nonostante i numerosi limiti, il dosaggio dell'FSH continua a essere largamente utilizzato nella pratica clinica per la valutazione della riserva ovarica. Elevati valori di FSH basale (ottenuti mediante multiple misurazioni) correlano con una scarsa risposta ovarica alla stimolazione con gonadotropine esogene e a una ridotta probabilità di gravidanza nei cicli di PMA. È importante, tuttavia, contestualizzare il valore dell'FSH rispetto all'età anagrafica della paziente. Valori superiori a 8–10 UI/L sono infatti frequentemente osservati nelle donne di età ≥ 40 anni, in cui il dosaggio dell'FSH fornisce informazioni aggiuntive limitate rispetto a quanto già desumibile dall'età stessa. Diversamente, valori elevati di FSH (>14 UI/L) in donne giovani costituiscono un indicatore sensibile di ridotta riserva ovarica rispetto agli standard attesi per fascia di età. [4]

CONCLUSIONI

Attualmente, la valutazione della riserva ovarica si basa prevalentemente su indicatori quantitativi, quali l'ormone antimülleriano (AMH) e la conta dei follicoli antrali (AFC), entrambi utili per stimare il numero di ovociti residui. Tuttavia, nessuno dei test oggi disponibili consente una valutazione diretta della qualità ovocitaria, per la quale l'età anagrafica della donna rimane il parametro più affidabile.

L'AMH e l'AFC sono largamente impiegati nella pratica clinica per orientare le strategie terapeutiche nei trattamenti di procreazione medicalmente assistita (PMA), soprattutto nella previsione della risposta ovarica alla stimolazione. Nonostante l'alta affidabilità di tali marker nella guida delle scelte cliniche, essi presentano ancora importanti limiti nella previsione degli esiti riproduttivi, sia in termini di competenza ovocitaria che di probabilità di gravidanza evolutiva o di aborto spontaneo. Inoltre, la loro interpretazione può essere influenzata da fattori biologici, riproduttivi e ambientali,

oltre che dalla variabilità metodologica legata ai diversi kit diagnostici attualmente in uso e alla mancanza di una standardizzazione condivisa.

In quest'ottica, risulta imprescindibile la standardizzazione delle metodiche di dosaggio dell'AMH, al fine di migliorarne l'accuratezza e l'applicabilità clinica. Saranno inoltre necessari ulteriori studi volti a ridefinire il valore predittivo dei marker di riserva ovarica, con particolare attenzione alla loro correlazione con l'outcome riproduttivo più rilevante: il tasso di nati vivi.

Infine, appare fondamentale lo sviluppo di sistemi di classificazione più articolati che includano, oltre ai tradizionali indicatori di riserva ovarica, ulteriori parametri biologici, endocrinologici e riproduttivi. Ciò consentirebbe una caratterizzazione più precisa dell'aging ovarico e una maggiore personalizzazione dei protocolli terapeutici, soprattutto nelle pazienti con età materna avanzata, le quali sono maggiormente soggette a riserva ovarica ridotta sia in termini quantitativi che qualitativi, e presentano pertanto una prognosi riproduttiva meno favorevole.

{BIBLIOGRAFIA}

1. Tamura h, Nakamura Y, Korkmaz a, Manchester Lc, Tan D-X, Sugino N & Reiter RJ. Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertility and Fertility and Sterility*, 2009, 92 328–343.
2. Cedars I M. Evaluation of Female Fertility: AMH and Ovarian Reserve Testing. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2022, 107, 1510–1519.
3. Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, Ubaldi N, Ubaldi FM, Rienzi L. Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 29;9:327.
4. Borini A, Ubaldi FM. Medicina della Riproduzione Umana: diagnosi e terapia. Edizioni Scientifiche Falco, 2023.
5. Iwase, A., Nakamura, T., Osuka, S., Takikawa, S., Goto, M., & Kikkawa, F. Anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian reserve: What have we learned, and what should we know?. *Reproductive Medicine and Biology*, 2016 15, 127-136.
6. J.V. Jeppesen , R.A. Anderson , T.W. Kelsey , S.L. Christiansen , S.G. Kristensen , K. Jayaprakasan , N. Raine-Fenning , B.K. Campbell , C. Yding Andersen. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod*. 2013. 19(8):519-27.
7. Moolhuijsen, L., & Visser, J. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2020. 105, 3361 - 3373.
8. Tal, R., & Seifer, D. Ovarian reserve testing: a user's guide. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2017. 217, 129–140.
9. Bleil ME, Gregorich SE, Adler NE, Sternfeld B, Rosen MP, Cedars MI- Race/ethnic disparities in reproductive age: an examination of ovarian reserve estimates across four race/ethnic groups of healthy, regularly cycling women. *Fertility Sterility* 2014, 101(1):199-207
10. Lawrenz B, Henes J, Henes M et al. Impact of systemic lupus erythematosus on ovarian reserve in premenopausal women: evaluation by using anti-mullerian hormone. *Lupus*, 2011, 20(11):1193-7.
11. Senates E, Colak Y, Erdem ED et al. Serum anti-mullerian hormone levels are lower in reproductive-age women with Crohn's disease compared to healthy control women, *J Crohns Colitis*. 2013 , 7(2):e29-34.
12. Pigny, S. Jonard, Y. Robert, D. Dewailly, Serum Anti-Müllerian Hormone as a Surrogate for Antral Follicle Count for Definition of the Polycystic Ovary Syndrome, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 91, Issue 3, 2006, Pages 941–945.
13. Casper P. Hagen, Lise Akslaaede, Kaspar Sørensen, Annette Mouritsen, Anna-Maria Andersson, Jørgen Holm Petersen, Katharina M. Main, Anders Juul, Individual serum levels of anti-Müllerian hormone in healthy girls persist through childhood and adolescence: a longitudinal cohort study, *Human Reproduction*, Volume 27, Issue 3, 2012, Pages 861–866.
14. Pipari A, Guillen A, Cruz M, Pacheco A, Garcia-Velasco JA. Serum anti-Müllerian hormone levels are not associated with aneuploidy rates in human blastocysts. *Reprod Biomed Online*. 2021, 42(6):1211-1218.
15. Moreno-Ortíz, H., Acosta, I., Lucena-Quevedo, E., Arias-Sosa, L., Dallos-Báez, A., Forero-Castro, M., & Esteban-Pérez, C. Ovarian Reserve Markers: An Update. *Biomarker - Indicator of Abnormal Physiological Process* (2018).
16. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006, 12:685-718.
17. Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, et al. The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*, 1988, 50:298-307.
18. Toner JP, Philpot CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril*, 1991;55:784-91.
19. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB, Schoemaker J. Intercycle variability of ovarian reserve tests: results of a prospective randomized study. *Hum Reprod*, 2004;19:590-5.