



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MESSINA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE

**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE BIOMEDICHE CLINICHE E
SPERIMENTALI XXXII CICLO**

Coordinatore: Ch.mo Prof. Francesco Squadrito

**LA TIROIDITE POSTPARTUM:
PREVALENZA DELLA MALATTIA
NELL'AREA DELLO STRETTO DI
MESSINA, FATTORI PREDITTIVI E
POSSIBILE PREVENZIONE
ALIMENTARE**

Tesi della
Dott. ssa Flavia Di Bari

Relatore/Tutor:
Ch.mo Prof. Salvatore Benvenga

Anno Accademico 2018-2019

INDICE

| | |
|---|----------------|
| Abbreviazioni usate | <i>pag. I</i> |
| 1.0 INTRODUZIONE | <i>pag. 1</i> |
| 1.1 Sistema immunitario in gravidanza e postpartum | <i>pag.2</i> |
| 2.0 LA TIROIDITE POSTPARTUM (PPT) | <i>pag.5</i> |
| 2.1 Epidemiologia | <i>pag.5</i> |
| 2.2 Fattori di rischio | <i>pag.6</i> |
| 2.3 Eziopatogenesi | <i>pag.7</i> |
| 2.4 Quadro clinico | <i>pag.7</i> |
| 2.5 Diagnosi | <i>pag.9</i> |
| 2.6 Gli anticorpi anti-ormoni tiroidei | <i>pag.10</i> |
| 2.7 Terapia | <i>pag.12</i> |
| 2.8 Prevenzione della PPT | <i>pag.13</i> |
| | |
| 3.0 STUDI CONDOTTI | |
| 3.1 Prevalenza della PPT nell'area dello Stretto di Messina e ruolo di anticorpi anti-tiroide ed ecografia tiroidea come predittori di PPT ed ipotiroidismo permanente | <i>pag.16</i> |
| Tab. I e Tab. II, rispettivamente a <i>pag. 22 e 28</i> | |
| 3.2 Dosaggio di autoanticorpi anti-ormoni tiroidei nel primo trimestre di gravidanza e loro ruolo predittivo della PPT | <i>pag.32</i> |
| Tab. I, II e III, rispettivamente a <i>pag. 37, 43 e 45</i> | |
| 3.3 Il consumo di pesce azzurro protegge dalla comparsa di PPT, mentre il consumo di pesce spada la favorisce | <i>pag. 50</i> |
| Tab. I, II e III, rispettivamente a <i>pag. 55, 59 e 65</i> | |
| Fig. 1 e Fig 2, rispettivamente a <i>pag. 61 e 64</i> | |
| | |
| 4.0 CONCLUSIONI | <i>pag.72</i> |
| 5.0 BIBLIOGRAFIA | <i>pag.74</i> |

ABBREVIAZIONI USATE

Ab: autoanticorpi

AbOT: anticorpi anti-ormoni tiroidei

ATDs: farmaci antitiroidei

AbTg: anticorpi anti-tireoglobulina

AbTPO: anticorpi anti-tireoperossidasi

AINTD: patologie autoimmuni non tiroidee

AITD: patologie autoimmuni tiroidee

DM-1: diabete mellito di tipo 1

DPP: depressione postpartum

FNA: agoaspirato tiroideo

FT3: triiodotironina libera

FT4: tiroxina libera

GD: malattia di Graves'

HT: tiroidite di Hashimoto

L-T4: levotiroxina

NK: cellule Natural Killer

PH: ipotiroidismo permanente

PPATD: patologie tiroidee autoimmuni postpartum

PPT: tiroidite postpartum

Se: selenio

Th1: cellule T helper-1

Th2: cellule T helper-2

TSH: tireotropina

TRAb: anticorpi anti-recettore del TSH

Treg: cellule T regolatorie

UST: pattern ecografico suggestivo di tiroidite

1.0 INTRODUZIONE

Come opportuna premessa, precisiamo che questa tesi è focalizzata sul periodo postpartum. Per studi sulla fisiopatologia tiroidea in gravidanza si rinvia alla letteratura *ad hoc* [1-4].

Il periodo postpartum, soprattutto il primo anno dopo il parto, rappresenta un periodo critico per la vita della donna, durante il quale è possibile la comparsa *ex-novo* oppure la ricomparsa (esacerbazione o recidiva) di patologie autoimmuni, comprese quelle tiroidee (AITD) [5]. Tra le endocrinopatie autoimmuni non tiroidee (AINTD) osservate in questo periodo, ricordiamo la malattia di Addison [6-8] e l'ipofisite linfocitaria postpartum [9-12], entrambe condizioni abbastanza rare ma potenzialmente fatali se non riconosciute e trattate.

Tra le AITD sviluppatasi nel postpartum (PPATD), la quota maggioritaria è rappresentata dalla tiroidite postpartum (PPT) e una minor percentuale dalla malattia/morbo di Basedow, ovvero malattia di Graves' (GD) nella dizione anglosassone [5]. La presenza di una AITD preesistente rappresenta un fattore favorente lo sviluppo di PPATD [13]. Le AITD sono tra le patologie autoimmuni più frequenti [14], il cui sviluppo è correlato a una disregolazione del sistema immunitario che determina un attacco alla tiroide (epitelio follicolare o tireociti) sferrato da cellule linfoplasmocitarie che la infiltrano e segnalato dalla comparsa in circolo di uno o più dei seguenti tre autoanticorpi (Ab): Ab diretti contro la tireoperossidasi (AbTPO), Ab contro la tireoglobulina (AbTg) o Ab contro il

recettore della tireotropina (TRAb) [15]. Gli AbTg e gli AbTPO sono i classici markers dell'autoimmunità tiroidea [15] e nella maggior parte dei casi, la presenza in circolo di questi Ab porta allo svilupparsi di un quadro clinico di tiroidite cronica linfocitaria o tiroidite di Hashimoto (HT) [15]. I TRAb con azione stimolatoria sui tireociti sono invece i marker patogenetici di GD [16].

1.1 Sistema immunitario in gravidanza e postpartum

La comparsa *ex-novo*, oppure la ricomparsa di patologie autoimmuni durante il periodo successivo al parto, è l'espressione di un fenomeno di *rebound* immunologico che temporalmente fa seguito all'immunosoppressione tipica del periodo gravidico [17]. Infatti, durante la gestazione, il sistema immunitario è soggetto ad alcuni cambiamenti che inducono uno stato di "tolleranza immunologica", principalmente volto a prevenire un possibile rigetto del feto (essendo questo costituito da antigeni che sono per il 50% di origine paterna) [18]. Riguardo i meccanismi che sono alla base di questa immunosoppressione, è noto che durante la gestazione, si ha una *up-regulation* di alcuni processi dell'immunità innata e della risposta immunitaria da parte delle cellule T helper-2 (Th2), associata a una contemporanea soppressione delle cellule natural killer (NK) e a una riduzione della risposta immunitaria Th1 [19]. Altri meccanismi coinvolti comprendono l'immatùrità antigenica

del feto, il ruolo di barriera svolto dalla placenta e la presenza di cellule e/o fattori con azione di soppressione (in parte prodotti dal trofoblasto) all'interfaccia materno-fetale [20-21]. Inoltre, anche in seguito all'effetto stimolante delle alte concentrazioni di estrogeni circolanti, già durante le prime settimane di gravidanza, nella donna, compaiono in circolo cellule T regolatorie (Treg) che si accumulano preferibilmente a livello della decidua. Queste cellule sono capaci di riconoscere gli alloantigeni fetali, inducendo una condizione di immunosoppressione e favorendo così il mantenimento del processo di tolleranza per tutto il periodo gravidico [22]. Questa immunosoppressione potrebbe spiegare la riduzione dei livelli di anticorpi tiroidei durante la gravidanza mentre l'esacerbazione postpartum potrebbe riflettere uno squilibrio nelle cellule Treg, causato dalla loro rapida riduzione numerica nel postpartum [22].

Dopo il parto, la perdita della placenta, che ha un ruolo chiave nelle modifiche del sistema immunitario a livello locale e periferico, induce lo sviluppo di un nuovo stato immunofisiologico [19]. Tuttavia, il ritorno del sistema immunitario allo stato pregravidico, sembra essere un processo lento, che in alcuni casi può richiedere anche un anno [23]. Il persistere di una ridotta sintesi di citochine Th1 e la soppressione delle cellule NK sono stati riportati in letteratura nel primo periodo postpartum (circa 3 mesi dopo il parto) e allo stesso tempo, è riportata la riesacerbazione di malattie mediate dalle cellule T, come l'artrite reumatoide [24]. L'artrite reumatoide è

descritta dopo i primi 3 mesi, in associazione a un incremento di INF- γ e IL-2 [25]. Nel corso del postpartum, inoltre, aumenta progressivamente l'espressione di T cell che esprimono CXCR3 o CXCR4, cellule CD4+ CD25+ (Treg), e cellule HLA-DR+ [25].

Inoltre, è importante ricordare che il periodo postpartum rappresenta un periodo stressante nella vita della donna; lo stress, oltre a fattori ambientali, è in grado di influenzare/disregolare il sistema immunitario e pertanto anche il manifestarsi di patologie autoimmuni [19,26,27].

2.0 LA TIROIDITE POSTPARTUM (PPT)

La PPT viene definita come una disfunzione tiroidea autoimmunitaria (escluso GD) che compare *de novo* nel primo anno dopo il parto, in donne eutiroidee prima della gravidanza [28].

2.1 Epidemiologia

La PPT ha una prevalenza complessiva nel mondo di circa il 5%, con un range compreso tra l'1% (Thailandia) e il 22% (Galles) [5]. In alcuni paesi, sono stati condotti diversi studi sulla prevalenza di PPT. Tre studi sono stati condotti in Italia [29-31] riportando tassi di PPT compresi tra il 3.9% [31] e il 22.1% [29], tre in Danimarca [32-34] con tassi dal 3.9% all' 8.7%, tre negli Stati Uniti [35-37] con tassi compresi tra 1.9% [35] e 8.8% [37], e due nei Paesi Bassi con tassi del 5.2% [38] e 7.2% [39]. Sulla base di questi dati, l'Italia e gli Stati Uniti mostrano la maggiore variabilità in termini di prevalenza di PPT.

In due studi italiani, entrambi condotti in zone costiere, è stata descritta una differenza nel tasso di PPT pari a circa 6 volte (22.1% in Liguria vs 3.9% in Puglia; $\chi^2 = 175$, $P = 6 \times 10^{-40}$) [29,31]. Lo studio ligure comprendeva 258 donne [29], mentre quello pugliese includeva 4.384 donne [31]. Apparentemente sembrerebbe esserci una riduzione progressiva della prevalenza di PPT da nord a sud. Tuttavia, il tasso significativamente maggiore di PPT in Liguria era correlato a un tasso

significativamente maggiore di positività per AbTPO sierici (15.1% vs 6.0%, $\chi^2 = 33.8$, $P = 6.0 \times 10^{-9}$). Solo in un'altra coorte [40] tra quelle in cui era presente un tasso di positività di AbTPO $\geq 10\%$ [40,41,37,39], la prevalenza della PPT era alta (22.3%) [40], mentre essa variava dal 7.2% [37] all' 8.8% [39] nelle restanti tre coorti. Tassi molto bassi di PPT (1.9% e 2.4%) erano invece riscontrati in due coorti [42,43] con bassi tassi di positività di AbTPO (2.8% e 5.2%).

2.2 Fattori di rischio

Il dosaggio sierico di AbTPO nel primo trimestre di gravidanza è considerato, in atto, il miglior fattore predittivo lo sviluppo di PPT [28]. Infatti, tra il 33 e il 50% delle gestanti AbTPO positive (AbTPO+) svilupperà PPT, con un rischio che è tanto maggiore quanto maggiore è la concentrazione sierica degli AbTPO [28].

Considerata la genesi autoimmunitaria della patologia, fattori di rischio per PPT sono rappresentati da un'anamnesi familiare positiva per AINTD e/o AITD [28] ed un'anamnesi personale positiva per AINTD [44], quali lupus eritematoso sistemico [45], epatite virale cronica [46], sclerosi multipla [47] e, soprattutto, diabete mellito di tipo 1 (DM-1) [48-51].

In letteratura è stato riportato il possibile ruolo di fattore di rischio per PPT conferito dal diabete gestazionale [52] e dal fumo di sigaretta [53,31].

Inoltre, precedente/i episodio/i di PPT,

rappresenta/rappresentano fattore/i di rischio per la futura comparsa della PPT [54]. Uno studio gallese ha riportato un rischio del 70% di sviluppare una recidiva di PPT in seguito a un precedente episodio di PPT [54].

2.3 Eziopatogenesi

La PPT è una patologia infiammatoria autoimmune della tiroide correlata con la presenza di anticorpi antitiroide (AbTPO e AbTg), anomalie linfocitarie, alterazioni del complemento, aumentati livelli di IgG1, incrementata attività delle cellule Natural Killer (NK) e specifici aplotipi HLA [55,56]. Lo sviluppo della PPT nel periodo postpartum si iscrive nel fenomeno del *rebound* immunologico già descritto nell'Introduzione, supportando la genesi autoimmune della patologia [17].

Gli studi condotti su donne con PPT sottoposte ad agoaspirato tiroideo (FNA) riportano la presenza di un'infiltrazione linfocitaria della ghiandola [57]. Il processo infiammatorio che ne origina, è in grado di determinare la lesione dei follicoli con conseguente rilascio in circolo degli ormoni tiroidei preformati, meccanismo che è alla base del quadro clinico della PPT (tireotossicosi; vedi sezione successiva 2.4) [28,58].

2.4 Quadro clinico

Il quadro clinico della PPT è simile a quello della tiroidite subacuta ma in assenza di dolore alla regione anteriore del collo e

il decorso può comunque essere variabile [28,58]. Spesso la patologia può manifestarsi in forma modesta o essere del tutto asintomatica. [44]. Il classico quadro della PPT segue un andamento trifasico. Esso è caratterizzato da una fase transitoria di tireotossicosi (2-6 mesi postpartum), seguita da una fase di transitorio ipotiroidismo (da 3 a 12 mesi postpartum) con un successivo ritorno all'eutiroidismo alla fine del primo anno postpartum; questo decorso è presente solo in circa il 22% dei casi [28]. Nei rimanenti casi, la PPT si presenta in forma monofasica, cioè con sola tireotossicosi (circa 30%) oppure con solo ipotiroidismo (circa 50%) [28].

La fase di tireotossicosi è spesso asintomatica o paucisintomatica, in relazione all'entità di incremento degli ormoni tiroidei e tende ad avere breve durata [59]. Durante questa fase, i sintomi più frequentemente lamentati dalle pazienti sono astenia, irritabilità, intolleranza al caldo e palpitazioni [60].

Nella fase di ipotiroidismo, più frequentemente sintomatica, le donne lamentano principalmente astenia, intolleranza al freddo, pelle secca, mialgie, riduzione di memoria e difficoltà di concentrazione [60].

Diversi studi sono stati condotti riguardo l'associazione tra la PPT e i disturbi dell'umore, in particolare la depressione postpartum (DPP), con risultati contrastanti [28]. Tuttavia, gli studi più recenti riportano un'aumentata frequenza non solo di DPP ma anche di alessitimia in donne con PTT [61].

In alcuni casi di PPT, non si ha un ritorno all'eutiroidismo ma si sviluppa un ipotiroidismo permanente (PH), diagnosticato in presenza di elevati valori di tireotropina (TSH) e valori bassi o normali di tiroxina libera (FT4) alla fine del primo anno postpartum [28]. Il tasso di PH, così come quello della PPT è variabile (dal 4% al 54%), con tassi più recentemente riportati che si avvicinano al 50% [31]. Il rischio di PH è aumentato nelle donne con alto titolo di anticorpi tiroidei, valori di TSH più alti durante la fase ipotiroidea precoce e maggiore grado di ipoecogenicità all'ecografia tiroidea [28]. Tuttavia, la valutazione ecografica è stata effettuata solo in una minoranza di studi [28]. Considerato il rischio di sviluppare PH anche in una fase successiva della vita, nelle donne con pregressa PPT, le attuali linee guida [44] raccomandano un dosaggio annuale di TSH.

2.5 Diagnosi

La diagnosi di PPT si avvale del dosaggio di TSH, FT4 e triiodotironina libera (FT3), con risultati differenti in relazione alla fase della PPT [58]. Nella fase tireotossica, caratterizzata da un TSH soppresso associato a livelli aumentati di FT4 e FT3, può essere necessario differenziare la PPT da un GD di nuova insorgenza [60] (Ove la donna fosse già affetta da GD all'inizio della gravidanza, automaticamente non qualificerebbe più per la diagnosi di PPT [vedasi sopra, Definizione di PPT]). Le due patologie richiedono infatti un approccio terapeutico differente,

oltre a presentare un differente quadro biochimico e strumentale [44]. Rispetto alla PPT, il GD è caratterizzato da livelli sierici di FT3 e rapporto FT3:FT4 più alti, e dalla positività dei TRAb (vedasi sotto) [62]. Nelle donne che non allattano è possibile ricorrere alla scintigrafia che mostra una captazione elevata del tracciante nel GD e ridotta nella PPT [60]. Nei casi in cui non sia possibile ricorrere alla scintigrafia (controindicata durante l'allattamento), è utile il dosaggio dei TRAb che sono negativi nella PPT [60]. Non dirimente il dosaggio degli altri Ab anti-tiroide; infatti, più dell'80% delle donne con PTT presenta AbTPO+ [62], analogamente al GD.

Anche il pattern ecografico tiroideo può fornire delle informazioni, mostrando un'aumentata ipoecogenicità nella maggior parte dei casi di PPT nel contesto di una tiroide volumetricamente normale o appena ingrandita [60]. Al contrario, il GD, in quanto gozzo diffuso tossico, sarà caratterizzato da una tiroide aumentata di volume con accentuata vascolarizzazione intraghiandolare (cosiddetto "inferno tiroideo").

Inoltre, generalmente, GD e PPT tendono a manifestarsi in tempi diversi durante il periodo postpartum con un esordio più precoce per la PTT (circa 3 mesi dopo il parto) e più tardivo per GD (6 mesi o più) [63].

Invece, nella fase ipotiroidea, i livelli di TSH sono incrementati con concentrazioni di FT4 basse/normali [60].

2.6 Gli anticorpi anti-ormoni tiroidei

Alcuni studi hanno riportato la presenza, durante il postpartum, di anticorpi diretti contro gli ormoni tiroidei (AbOT) in grado di interferire con la valutazione della funzione tiroidea. AbOT sono particolari tipi di AbTg, cioè Ab diretti contro epitopi iodinati della tireoglobulina [64]. Jansson et al. hanno riportato la presenza di Ab contro la T3 in una donna che aveva sviluppato una PPT con decorso bifasico (tireotossicosi seguita da transitorio ipotiroidismo) [65]. Inoltre, è stato descritto un caso di comparsa transitoria di AbOT in gravidanza, in una donna di 35 anni, affetta da HT e in trattamento sostitutivo con levotiroxina (L-T4), che presentava normali livelli di TSH con valori elevati di FT4 e FT3 durante la gestazione. Nella donna venne confermata la presenza di AbOT circolanti; dopo il parto FT4 e FT3 rientrarono nel range di normalità [66].

Uno studio gallese ha ricercato AbOT in 148 donne con anticorpi antitiroide positivi e 261 donne con anticorpi antitiroide negativi, dalla 4° settimana alla 48° settimana postpartum, valutando innanzitutto l'eventuale aumento di concentrazione di FT4 e FT3 [67]. (A causa della frequente ma non sistematica interferenza degli AbOT sul dosaggio degli ormoni tiroidei, FT4 e/o FT3 possono risultare falsamente sovrastimati o sottostimati rispetto alla loro reale concentrazione, ma più spesso falsamente elevati). Solo 3 donne su 148 con anticorpi anti-tiroide positivi (pari al 2%), avevano AbOT, in particolare una donna Ab anti-T3

e due donne Ab anti-T3 ed anti-T4. Gli AbOT scomparivano dopo 48 settimane dal parto. Solo due delle tre donne sviluppavano PPT [67]. In relazione ai risultati, John e al. suggerivano che le donne con PPT dovrebbero essere sottoposte a test completi per la valutazione della funzionalità tiroidea e, in presenza di quote libere degli ormoni tiroidei inappropriatamente elevate, andrebbe ricercata la possibile presenza di AbOT [67]. Tuttavia, esiste una notevole variabilità nella possibilità da parte di AbOT di causare interferenza nel dosaggio degli ormoni tiroidei [67,68] e pertanto non è possibile predire la presenza di AbOT semplicemente in base a questo, in quanto tale interferenza può essere assente [5].

In letteratura non ci sono studi relativi al ruolo predittivo di AbOT nello sviluppo di PPT. Tuttavia, è interessante notare che AbOT (almeno uno tra T3IgM, T3IgG, T4IgM, T4IgG) hanno un'elevata prevalenza nei pazienti con DM-1 [69], patologia che, come detto sopra (vedasi sezione Fattori di rischio), conferisce alto rischio per lo sviluppo di PPT.

2.7 Terapia

Premesso che in letteratura, non sono presenti studi di confronto tra diverse modalità terapeutiche, il trattamento della PPT dipende dalla fase di presentazione. Durante la fase tireotossica, nelle donne sintomatiche, possono essere somministrati beta-bloccanti (propranololo o metoprololo),

mentre gli antitiroidei (ATDs) non sono raccomandati in quanto si tratta di una tiroidite distruttiva e non di una condizione generata da aumentata sintesi di ormoni tiroidei [44]. Durante la fase ipotiroidea, le donne sintomatiche, o che desiderino una gravidanza o che stiano allattando dovrebbero essere trattate con L-T4 a dosi sostitutive. Tale terapia con L-T4 dovrebbe comunque essere sospesa dopo 12 mesi, al fine di verificare attraverso il dosaggio di TSH ed FT4 se l'ipotiroidismo sia transitorio (nel qual caso la terapia non verrà ripresa) ovvero permanente (nel qual caso la terapia sarà ripresa). Qualora il trattamento con L-T4 non venisse intrapreso, il TSH dovrebbe essere dosato ogni 4-8 settimane fino a normalizzazione della funzione tiroidea [44].

2.8 Prevenzione

L'identificazione precoce di donne a rischio di sviluppare PPT potrebbe essere molto utile per effettuare uno screening mirato, evitando la comparsa di sintomi da disfunzione tiroidea e allo stesso tempo prevenendo o ritardando la comparsa di PH [28].

Due studi randomizzati hanno valutato la possibilità di prevenire lo sviluppo di PPT in donne con positività per anticorpi anti-tiroide, somministrando L-T4 e iodio, senza alcun beneficio in termini di prevenzione di PPT né variazioni in termini di decorso della malattia [70,71].

Un altro elemento che è stato preso in considerazione, per la sua azione protettiva sui tireociti dal danno ossidativo e infiammatorio, è il selenio (Se) [72]. Il Se sembra ridurre il titolo sierico di AbTPO, la prevalenza di PPT e il PH [73,74]. In uno studio cinese di confronto tra due popolazioni differenti solo in termini di Se-sufficienza, la popolazione Se-sufficiente mostrava una prevalenza di patologie tiroidee (HT, ipotiroidismo, ipotiroidismo subclinico, gozzo) inferiore rispetto alla popolazione Se-insufficiente [73]. Uno studio italiano prospettico ha valutato, in una coorte di donne gravide AbTPO+, se la supplementazione con Se durante la gravidanza e fino a 12 mesi postpartum, fosse in grado di influenzare la funzionalità e l'autoimmunità tiroidea [74]. I risultati erano conclusivi per un effetto protettivo della supplementazione con selenometionina; infatti, PPT e PH erano significativamente ridotti nel gruppo di donne che assumevano Se (S1) rispetto al gruppo placebo (S0) (28.6 vs 48.6%, $P < 0.01$; e 11.7 vs 20.3%, $P < 0.01$) [74]. Inoltre, le donne del gruppo S1 mostravano una maggiore riduzione del titolo di AbTPO durante la gravidanza rispetto al gruppo S0 [74]. Allo stesso modo, l'incremento di AbTPO dopo il parto, era maggiore in maniera statisticamente significativa, nel gruppo placebo (S0) rispetto al gruppo delle donne che avevano ricevuto selenometionina (S1) [74]. Tuttavia, in un altro trial Mao e al. non hanno rilevato una significativa riduzione nel livello sierico di anticorpi antitiroide tra donne gravide supplementate con Se e un gruppo placebo [75]. Va sottolineato che in quest'ultimo

studio [75] la supplementazione veniva effettuata con 60 µg/die di Se e soltanto fino al parto, mentre nello studio italiano [74] la supplementazione veniva effettuata con 200 µg/die di Se sino al 12° mese postpartum. Pertanto, altri studi dovrebbero essere condotti per chiarire il ruolo del Se, ma attualmente la supplementazione in gravidanza con questo elemento non è raccomandata [44].

Un recente studio ha riportato livelli di 25-OH vitamina D più bassi in donne con PPT rispetto a donne sane, descrivendo una correlazione inversa tra la concentrazione sierica di questa vitamina e la concentrazione sierica di AbTPO e AbTg [76]. In donne con PPT, la supplementazione con vitamina D riduceva notevolmente i livelli sierici di AbTPO, in misura maggiore nei casi di maggiore deficienza della vitamina stessa [76].

Gli acidi grassi omega-3 possono diminuire l'infiammazione associata ad alcune patologie autoimmuni [77]. Sulla base di questi presupposti, recentemente, il gruppo del Prof. Benvenga, ha riportato un ruolo protettivo del pesce azzurro (ricco di acidi grassi polinsaturi omega-3) nella prevenzione della PPT, rispetto al consumo di pesce spada (ricco di agenti inquinanti tra cui il mercurio) o carne, suggerendo una possibile profilassi alimentare della patologia [78,79]. Tale studio ha costituito la base per condurre lo studio descritto in questa tesi come studio 3 (vedasi sotto).

3.0 STUDI CONDOTTI

3.1(STUDIO n. 1)

PREVALENZA DELLA TIROIDITE POSTPARTUM (PPT) NELL'AREA DELLO STRETTO DI MESSINA E RUOLO DI ANTICORPI ANTI-TIROIDE ED ECOGRAFIA TIROIDEA COME PREDITTORI DI PPT ED IPOTIROIDISMO PERMANENTE

- **3.1.1 RAZIONALE DELLO STUDIO**

Nonostante siano stati condotti vari studi per valutare la prevalenza della PPT nel mondo (Italia inclusa), in letteratura non erano disponibili dati relativi alla prevalenza di PPT in Sicilia (Sud Italia) né alla sua evoluzione in PH. Inoltre, poiché in una coorte di donne campionata in prossimità del parto per altri scopi, avevamo riscontrato dei tassi di positività di anticorpi tiroidei di circa il 12% [61; S. Benvenga, dati non pubblicati], abbiamo ipotizzato che in un'ulteriore coorte di donne gravide, avremmo potuto rilevare un tasso di PPT simile a quello riportato in uno studio ligure (22.1%) [29] rispetto a quello riportato in un altro studio pugliese (3.9%) [31], e un tasso di PH di circa il 50%, simile a quello riportato sia in Liguria sia in Puglia.

Inoltre, un solo precedente studio brasiliano [80] aveva valutato, ma solo per gli AbTPO, il ruolo predittivo di valori

alto/normali di questi anticorpi (in aggiunta a valori elevati) e il valore predittivo dell'ecografia tiroidea.

- **3.1.2 SCOPO DELLO STUDIO**

Sulla base di questi presupposti, obiettivi del nostro studio sono stati: [a] valutare la prevalenza di PPT e PH nella nostra area geografica; [b] stimare il valore predittivo non solo degli AbTPO (classicamente utilizzati come metodica di screening) ma anche degli AbTg e, per ambedue questi Ab, stimarne il valore predittivo anche quando la loro positività viene definita da concentrazioni sieriche alto-normali, prendendo le mosse dal sopradetto lavoro di Barca e al. [80]; [c] stimare il valore predittivo di indici non umorali come l'ecografia tiroidea.

- **3.1.3 PAZIENTI E METODI**

- **3.1.3a Coorte**

Dopo firma del consenso informato, abbiamo arruolato donne con gravidanza singola tra la 7^a e l'11^a settimana di gestazione, prive di patologie tiroidee note, partorienti presso il Policlinico Universitario di Messina e l'Ospedale di Reggio Calabria. Tutte le donne con disfunzione tiroidea scoperta allo screening iniziale venivano escluse dallo studio, così come le donne che svilupparono GD durante la gravidanza o il postpartum.

Nelle donne arruolate, venivano raccolte, mediante questionario, anamnesi personale e familiare, valutando eventuale positività per patologie tiroidee e AINTD.

Le donne che hanno completato questo studio (dal primo trimestre di gravidanza alla fine del 12° mese postpartum) sono state 412. L'età al momento dell'arruolamento era 31.6 ± 4.3 anni (range 19-43).

3.1.3b Valutazione biochimica ed ecografica e definizione di disfunzione tiroidea postpartum

Al momento dell'arruolamento, le donne sono state sottoposte ad una prima valutazione clinica, biochimica ed ecografica. Le successive valutazioni biochimiche sono state effettuate al secondo e al terzo trimestre di gravidanza, ed alla 6^a settimana, 3°, 6° e 12° mese postpartum. I test di funzionalità tiroidea venivano inoltre ripetuti in un qualunque momento durante il primo anno postpartum in caso di comparsa di segni o sintomi di disfunzione tiroidea.

L'ecografia tiroidea è stata effettuata alla 6^a settimana e al 12° mese postpartum e, nelle donne che sviluppavano disfunzioni tiroidee, anche al 3° e 6° mese postpartum.

Nel contesto delle disfunzioni postpartum, l'ipertiroidismo era definito in presenza di livelli di TSH inferiori alla norma (<0.27 mU/L), e l'ipotiroidismo in presenza di elevati valori di TSH (>4.2 mU/L) [31]. L'ipertiroidismo era trattato con farmaci beta-bloccanti (propranololo) nelle pazienti sintomatiche e/o con

valori di FT4 >33 pmol/L, cioè >1.5 volte il limite superiore del range di normalità pari a 22 pmol/L [31,81].

Il trattamento con L-T4 per l'ipotiroidismo veniva intrapreso se il livello sierico di TSH era superiore all'intervallo di riferimento trimestre-specifico (>2.5 mU/L, nel primo trimestre, e >3.0 mU/L nel secondo e terzo trimestre) associato a bassi livelli di FT4, o in presenza di livelli di TSH >10.0 mU/L indipendentemente da quelli di FT4, o in presenza di sintomi di intensità ingravescente; negli altri casi non veniva trattato [81]. La posologia di L-T4 era titolata al fine di mantenere i livelli sierici di TSH al di sotto del limite superiore trimestre-specifico e livelli sierici di FT4 in prossimità del valore medio del range. Dopo il parto, la somministrazione di L-T4 veniva sospesa alla fine dell'11° mese postpartum, per rivalutare il TSH alla fine del 12° mese postpartum e permettere di diagnosticare un PH nel caso in cui il TSH fosse risultato >4.2 mU/L. Nelle poche donne in cui è stato riscontrato un ipotiroidismo al 12° mese postpartum, il TSH sierico è stato rivalutato 8 settimane dopo. Nonostante l'incremento dei valori di TSH (>4.2 mU/L) venisse riconfermato solo alla fine del 14° mese postpartum, ci riferiremo a PH come TSH >4.2 mU/L presente alla fine del 12° mese postpartum [28].

I livelli sierici di TSH, FT4, FT3, AbTPO e AbTg venivano dosati usando kit di elettrochemilumiscenza (Roche, Mannheim, Germany). I valori di riferimento erano 0.27-4.2 mU/L (TSH), 12-22 pmol/L o 9.3-17.1 pg/ml (FT4), 3.1-6.8 pmol/L o 2.0-4.4

pg/ml (FT3), >100 U/ml (AbTPO e AbTg).

L'ecografia tiroidea è stata eseguita sempre dallo stesso operatore, che non conosceva i dati biochimici, mediante l'utilizzo di un ecografo Logiq (General Electric Healthcare, UK) e una sonda ad alta risoluzione di 7.5 MHz. Il pattern suggestivo di tiroidite (UST) era definito in presenza di un'ipoecogenicità tiroidea diffusa associata ad ecostruttura disomogenea della ghiandola.

3.1.3c Statistica

I dati sono presentati come media \pm SD, mediana e range. Il confronto tra le proporzioni e le variabili categoriali è stato eseguito usando il test χ^2 o il test esatto di Fisher, come appropriato. Il livello di significatività statistica era sempre $P < 0.05$. Valori di P tra 0.10 e 0.05 erano considerati avere un grado di significatività borderline.

• 3.1.4 RISULTATI

Delle 412 donne che hanno completato lo studio, 63 (15.3%) hanno sviluppato PPT.

La disfunzione tiroidea si manifestava nella classica forma bifasica (ipertiroidismo, seguito da ipotiroidismo) nel 30% delle donne. Alla fine del 12° mese postpartum, 34 donne con PPT (54%) erano ipotiroidee, mentre le rimanenti 29 (46%) ritornavano eutiroidee.

3.1.4a Prevalenza della PPT e fattori di rischio valutati nel primo trimestre di gravidanza

3.1.4a.1 Fattori di rischio oltre a AbTg, AbTPO ed ecografia

Lo status di fumatrice o precedenti aborti non si sono dimostrati fattori di rischio per la PPT (**Tab. I**).

Come detto sopra, la prevalenza globale di PPT era del 15.3%, ma era maggiore stratificando le donne sulla base di altri fattori di rischio. Un'anamnesi personale positiva per AINTD era presente in 109 donne (26.4%), 29 delle quali (26.6%) svilupparono PPT (**Tab. I**). In particolare, 4/412 donne (1.0%) erano affette da DM-1, 3 delle quali (75%) svilupparono PPT. Un'anamnesi familiare positiva per AINTD era presente in 191 donne (46.3%) (**Tab. I**), in 12 delle quali (6.3%) la AINTD in questione era il DM-1. Di queste 191 e di queste 12 donne, rispettivamente 43 (22.5%) e 6 (50%) svilupparono PPT.

Una storia familiare positiva per AITD (tra cui GD, HT o entrambi) era riportata in 28 donne (6.8%), delle quali 16 (57.1%) svilupparono PPT (**Tab. I**).

Quindi, tra le 63 donne con PPT, le frequenze di storia personale positiva per AINTD, di storia familiare positiva per AINTD e di storia familiare positiva per AITD erano rispettivamente pari al 46.0%, 68.2% e 25.4%. Il rapporto di probabilità [*odds ratio* (OR)] per storia familiare positiva per AITD nel gruppo PPT rispetto al gruppo nonPPT era circa 10 (**Tab. I**).

Tabella I. Fattori di rischio per tiroidite postpartum (PPT) in una coorte di 412 donne gravide.*

| Fattori di rischio | PPT, Sì [n= 63] | PPT, No [n= 349] | Statistica |
|---|--------------------|---------------------|--|
| Status di fumatrice | | | |
| Fumatrice, n= 18 (4.4%) | 2 [3.2%] | 16 [4.6%] | $\chi^2= 0.26, P= 0.88$ OR= 1.13 (0.56-2.30) |
| Ex-fumatrice, n= 79 (19.2%) | 12 [19.0%] | 67 [19.2%] | |
| Mai, n= 315 (76.4%) | 49 [77.8%] | 266 [76.2%] | |
| Precedenti aborti | | | |
| Sì (59/412= 14.3%) | 10/63= 15.9% | 49 /349= 14.0% | $\chi^2= 0.15, P= 0.70$ OR= 1.15 (0.55-2.42) |
| No (353/412= 85.7%) | 53/63= 84.1% | 300 /349= 86.0 | |
| Storia personale (patologie autoimm. non tiroidee) | | | |
| Positiva, n= 109 (26.5%) | 29 [46.0%] | 80 [22.9%] | $\chi^2= 14.65, P= 0.0001$ OR= 2.87 (1.64-5.0) |
| Negativa, n= 303 (73.5%) | 34 [54.0%] | 269 [77.1%] | |
| Storia familiare (patologie tiroidee) | | | |
| Positiva, n= 127 (30.8%) § | 27 [42.9%] | 100 [28.7%] | $\chi^2= 5.05, P= 0.025$ OR= 1.87 (1.08-3.24) |
| Negativa, n= 285 (69.2%) | 36 [57.1%] | 249 [71.3%] | |
| positività per T. di Hashimoto, n= 25 (6.1%) § | 15 [23.8%] | 10 [2.9%] | $\chi^2= 41.1, P= 6 \times 10^{-10}$ OR= 10.6 (4.5-24.92) |
| M. di Graves', n= 5 (1.2%) § | 3 [4.8%] | 2 [0.6%] | |
| T. Hashimoto e/o M. Graves', n= 28 (6.8%) § | 16 [25.4%] | 12 [3.4%] | $\chi^2= 40.6, P= 8 \times 10^{-10}$ OR= 9.6 (4.26-21.50) |
| Noduli tiroidei, n= 66 (16.0%) § | 11 [17.5%] | 55 [15.8%] | $\chi^2= 0.11, P= 0.73$ OR= 1.13 (0.56-2.30) |
| Nulla di specifico, n= 45 (10.9%) § | 6 [9.3%] | 39 [11.2%] | $\chi^2= 0.15, P= 0.70$ OR= 0.84 (0.34-2.07) |
| Storia familiare (patologie autoimm. non tiroidee) | | | |
| Positiva, n= 191 (46.4%) | 43 [68.2%] | 148 [42.4%] | $\chi^2= 14.34, P= 0.0002$ OR= 2.92 (1.65-5.17) |
| Negativa, n= 221 (53.6%) | 20 [31.7%] | 201 [57.6%] | |
| Status AbTPO, indipendentemente da AbTg | | | |
| AbTPO, positivi ≥ 101 U/ml, n= 56 (13.6%) | 39 [61.9%] | 17 [4.9%] | $\chi^2= 148, P= 5 \times 10^{-34}$ OR= 31.7 (15.7-64.2) |
| , negativi ≤ 100 U/ml, n= 356 (86.4%) | 24 [38.1%] | 332 [95.1%] | |
| , positivi ≥ 61 U/ml, n= 68 (16.5%) | 42 [66.7%] | 26 [7.4%] | $\chi^2= 136, P= 2 \times 10^{-31}$ OR= 24.8 (12.8-48.0) |
| , negativi ≤ 60 U/ml, n= 344 (83.5 %) | 21 [33.3%] | 323 [92.6%] | |

Tabella I. - continuazione

| Status AbTg, indipendentemente da AbTPO | | | |
|--|-------------|-------------|--|
| AbTg, positivi ≥ 101 U/ml, n= 29 (7.0%) | 17 [27.0%] | 12 [3.4%] | $\chi^2= 45.2, P= 1.8 \times 10^{-11}$ OR= 10.4 (4.66-23.12) |
| , negativi ≤ 100 U/ml, n= 383 (93.0%) | 46 [73.0%] | 337 [96.6%] | |
| , positivi ≥ 61 U/ml, n= 42 (10.2%) | 26 [41.3 %] | 16 [4.6%] | $\chi^2= 78.4, P= 8 \times 10^{-19}$ OR= 14.6 (7.19-29.73) |
| , negativi ≤ 60 U/ml, n= 370 (89.8%) | 37 [58.7 %] | 333 [9.5%] | |
| | | | |
| Tiroidite ecografica | | | |
| Presente, n= 144 (35.0 %) | 52 [82.5%] | 92 [26.4%] | $\chi^2= 74.1, P= 7.5 \times 10^{-18}$ OR= 13.2 (6.60-26.40) |
| Assente, n= 268 (65.0%) | 11 [17.5%] | 257 [73.6%] | |

Note a piede della Tab. I

* Il denominatore per calcolare le percentuali nella colonna “Fattori di rischio” è 412, e nella colonna “PPT, Sì” o “PPT, No” è rispettivamente 63 o 349. Le differenze statisticamente significative sono evidenziate in grassetto. La mancanza di un valore χ^2 nell’ultima colonna indica che l’analisi statistica è stata effettuata attraverso il test esatto di Fisher.

§ Nella suddivisione della positività, i numeri non si sommano a 127 poichè una donna può avere più di un parente con patologia tiroidea.

3.1.4a.2 Livelli sierici di AbTg, AbTPO ed ecografia tiroidea

Nell'intera coorte, 20 donne presentavano positività solo per AbTg (4.8%; AbTg+/AbTPO-), 47 solo per AbTPO (11.4%; AbTg-/AbTPO+), e 9 presentavano positività per entrambi gli anticorpi (2.2%; AbTg+/AbTPO+). Pertanto, 29 donne (7%) erano comunque AbTg+ e 56 (13.6%) erano comunque AbTPO+.

Delle 29 donne che erano AbTg+ indipendentemente dalla positività/negatività per AbTPO, 17 (58.6%) svilupparono PPT; tuttavia, la frequenza si riduceva a 9/20 (45.0%) considerando donne positive per i soli AbTg (**Tab. I**). Delle 56 donne che erano AbTPO+ indipendentemente dallo status degli AbTg, 39 (69.6%) svilupparono PPT (**Tab. I**); tuttavia, tale frequenza si riduceva modestamente [31/47 (66.0%)] considerando donne con positività solo per AbTPO.

Delle 9 donne che erano AbTg+/AbTPO+, 8 (88.9%) svilupparono PPT. Pertanto, l'ordine gerarchico di predittività per la PPT, era il seguente: positività per entrambi AbTPO e AbTg (89%) > positività per soli AbTPO (66%) > positività per soli AbTg (45%). Delle 336 donne negative per entrambi gli anticorpi (AbTg-/AbTPO-), appena 15 (4.5%) svilupparono PPT. Pertanto, delle 63 donne che avrebbero poi sviluppato PPT, solo 15 (23.8%) erano AbTg-/AbTPO-, mentre le altre 48 (76.2%) erano positive per almeno un anticorpo.

UST era presente in 144 donne (34.9%), delle quali 52 (36.1%) svilupparono PPT (**Tab. I**). Quindi, la maggior parte delle donne che avrebbe poi sviluppato PPT (52/63 [82.5%])

presentava UST già nel primo trimestre di gravidanza. Considerando le 336 donne negative per entrambi gli anticorpi (AbTPO-/ AbTg-), un quadro di UST era riscontrato più frequentemente nelle donne che svilupparono PPT [9/15 (60.0%)] rispetto a quelle che non la svilupparono [68/321 (21.2%)], $\chi^2 = 12.2$, $P = 0.0005$, $OR = 5.58$ (95% CI: 1.9 to 16.2) (dati non mostrati).

3.1.4b Predittività della PPT sulla base dell'abbassamento della soglia di positività degli Ab tiroidei nel primo trimestre di gravidanza

Come riportato sopra, il valore di riferimento (intervallo di normalità) per entrambi gli anticorpi era 0-100 U/ml. Come effettuato da Barca e al. [80] per gli AbTPO, abbiamo valutato se all'interno del range 61-100 U/ml (in pratica, la metà superiore dell'intervallo di normalità) per entrambi gli Ab fossero comprese donne che successivamente svilupparono PPT (**Tab. I**).

Come si può dedurre dalla **Tab. I**, c'erano 12 (2.9%) o 13 (3.1%) donne con AbTPO o AbTg entro il range 61-100 U/ml (indipendentemente dallo status dell'altro anticorpo). La frequenza con cui poi comparve la PPT era rispettivamente 3/12 (25.0%) e 9/13 (69.2%). Considerando selettivamente la positività di AbTPO o di AbTg per rispettive concentrazioni sieriche comprese tra 61 e 100 U/ml, entro tale range erano comprese 11 donne AbTPO+/AbTg- (2.7%) e 6 donne AbTPO-/AbTg+ (1.5%), con corrispondenti frequenze di comparsa di

PPT pari a 2/11 (18.2%) e 4/6 (66.7%). Pertanto, considerando come positivi valori anticorpali >61 U/ml (invece che >101 U/ml), si registrava un “guadagno” relativo agli AbTg, che permetteva di individuare un ulteriore 14% di donne (9/63) che svilupparono PPT e che erano “sfuggite” utilizzando come range di riferimento un valore ≥ 101 U/ml.

Quindi, sommando i risultati ottenuti considerando positivi Ab >101 U/ml con quelli ottenuti considerando positivi Ab >61 U/ml, il quadro finale era il seguente: indipendentemente dallo stato dell'altro Ab, la prevalenza di PPT era 42/68 (61.8%) nelle donne AbTPO+, e 26/42 (61.9%) nelle donne AbTg+ (**Tab. I**). Questi due tassi venivano confrontati con le corrispettive prevalenze sopramenzionate di 39/56 (69.6%) e 17/29 (58.6%) derivanti dal fissare la soglia di positività anticorpale ad una concentrazione sierica ≥ 101 U/ml (**Tab. I**). Considerando selettivamente la positività degli Ab, nell'intera coorte erano presenti 58 donne AbTPO+/AbTg- (14.1%), e altre 26 che erano AbTPO-/AbTg+ (6.3%). Le corrispettive prevalenze di comparsa di PPT erano 33/58 (56.9%) e 13/26 (50%). Queste due prevalenze si confrontano con le sopramenzionate corrispettive prevalenze di 31/47 (66%) e 9/20 (45%) ottenute fissando la soglia di positività anticorpale a ≥ 101 U/ml.

In conclusione, un piccolo numero aggiuntivo di PPT veniva identificato riducendo la soglia (*cut-off*) per gli Ab a ≥ 61 U/ml, ed in misura maggiore per gli AbTg rispetto agli AbTPO (9 casi aggiuntivi rispetto a 3).

3.1.4c Prevalenza dell'ipotiroidismo permanente (PH) e suoi fattori di rischio, valutati nel primo trimestre di gravidanza

Delle 63 donne che svilupparono PPT, 34 (54.0%) erano ipotiroidiche alla fine del 12° mese di follow-up postpartum, cioè potevano essere considerate evolute in PH (**Tab. II**). Le frequenze di fattori di rischio erano notevolmente più alte nel gruppo PH rispetto al gruppo di donne che tornarono eutiroidee, ma solo per due fattori fu raggiunta la significatività statistica: storia familiare positiva per AITD e storia familiare positiva per AINTD (**Tab. II**). La significatività statistica era borderline ($P=0.09$, $OR=2.2$) per la storia personale positiva per AINTD (**Tab. II**). Considerando le donne AbTPO-/AbTg- che svilupparono PPT, UST era presente in 5/6 (83.3%) tra quelle evolute in PH rispetto a 4/9 (44.4%) tra quelle che tornarono eutiroidee (dati non mostrati). La differenza tra i due gruppi con PPT si ampliava quando veniva ridotta la soglia di positività anticorpale a >60 U/ml, poiché le corrispettive frequenze erano 4/5 (80.0%) e 1/4 (25.0%) (dati non mostrati).

Tabella II. Fattori di rischio per ipotiroidismo permanente (PH).

| Fattori di rischio valutati al primo trimestre di gravidanza | PPT, PH | | Statistica |
|--|-----------------------|-----------------------|---|
| | Sì [n=34] | No [n= 29] | |
| AbTPO, ≥ 101 /Uml (n= 56) | 23 [67.6%] (41.1%) | 16 [55.2%] (28.6%) | $\chi^2= 1.03$, P= 0.31 OR= 1.70 (0.61-4.74) |
| , ≥ 61 U/ml (n= 68) | 24 [70.6%] (35.3%) | 18 [62.1%] (26.5%) | $\chi^2= 0.51$, P= 0.48 OR= 1.47 (0.51-4.20) |
| AbTg, ≥ 100 U/ml (n= 29) | 11 [32.4%] (37.9%) | 6 [20.7%] (20.7%) | $\chi^2= 1.08$, P= 0.30 OR= 1.83 (0.58-5.79) |
| , ≥ 61 U/ml (n= 42) | 14 [41.2%] (33.3%) | 12 [41.4%] (28.6%) | $\chi^2= 0.0003$, P=0.99 OR= 0.99 (0.36-2.71) |
| Tiroidite ecografica (n= 144) | 30 [88.2%] (20.8%) | 22 [75.9%] (15.3%) | P= 0.32 OR= 2.39 (0.62-9.17) |
| Storia personale positiva per AINTD (n= 109) | 17 [50.0%] (15.6%) | 12 [41.4%] (11.0%) | $\chi^2= 2.80$, P= 0.09 OR= 2.25 (0.86-5.86) |
| Storia familiare positiva per AINTD (n= 191) | 27 [79.4%] (14.1%) | 16 [55.2%] (8.4%) | $\chi^2= 4.24$, P= 0.039 OR= 3.13 (1.03-9.49) |
| Storia familiare positiva per AITD (n= 28) | 14 [41.2%] (50.0%) | 2 [6.9%] (7.1%) | P= 0.0029 OR= 9.45 (1.93-46.4) |

Abbreviazioni- AINTD= patologie autoimmunitarie non tiroidee; AITD= patologie autoimmunitarie tiroidee.

Il confronto statistico è riportato in parentesi quadra. La mancanza di un valore χ^2 nell'ultima colonna indica che l'analisi statistica è stata effettuata attraverso il test esatto di Fisher.

• 3.1.5 DISCUSSIONE

Questo nostro studio ha mostrato che tra le donne gravide che vivono nell'area dello Stretto di Messina, il tasso di PPT è pari al 15.3%. Questo valore è compreso tra il 3.9% della Puglia [31] ed il 22.1% della Liguria [29], ma è più vicino a quest'ultimo.

Tali differenze di prevalenza della PPT possono essere attribuite a differenze riguardo alla prevalenza di positività degli AbTPO durante la gravidanza, poiché la nostra prevalenza di positività (13.6%) è chiaramente più vicina a quella della Liguria (15.1%) [29] rispetto a quella pugliese (6.0%) [31]. Dato che nello studio pugliese sono stati misurati gli AbTPO e non anche gli AbTg, la frequenza di positività per gli AbTg può essere confrontata solo con lo studio ligure [29]; di nuovo, i due valori sono molto simili (7.0% vs 8.1%). Tuttavia, mentre il nostro tasso di donne AbTg+ che poi svilupparono PPT era simile a quello della coorte ligure (27.0% vs 21.1%), il corrispettivo tasso di positività per gli AbTPO differiva (61.9% vs 47.4%), essendo il valore più vicino a quello della coorte pugliese (57.4%) [31]. Inoltre, nel nostro studio, come in quello ligure, si è dimostrato simile il ruolo predittivo degli AbTg+ nei confronti della PPT (58.6% [17/29] e 57.1% [12/21]). Questa similarità di predittività è presente anche per gli AbTPO+ (69.6% [39/56] e 69.2% [27/39]), in contrasto con la coorte pugliese (37.2% [97/261]).

Per quanto concerne gli AbTPO, come descritto dal gruppo ligure [29], abbiamo trovato che sulla base della positività per tali

Ab, lo sviluppo di PPT può essere predetto in circa 2/3 dei casi nelle gravide AbTPO+.

A completamento del nostro studio, abbiamo valutato il ruolo predittivo per futura comparsa di PPT e/o PH esercitato da: 1) livelli alto/normali di Ab tiroidei; 2) quadro di infiammazione tiroidea rilevato ecograficamente.

Il dosaggio di entrambi gli Ab e l'abbassamento della soglia di positività, considerando come predittore positivo la presenza di almeno un Ab a concentrazioni sieriche ≥ 61 U/ml, consente di identificare un numero addizionale di casi di PPT o PH rispetto alla strategia classica di impiego dei soli AbTPO con una soglia di positività ≥ 101 U/ml.

Il numero di casi aggiuntivi era relativamente basso (3 per AbTPO, ma 9 per TgAb), corrispondenti al 4.8% e 14.3% dei 63 casi di PPT. Riguardo al PH, questa strategia permetteva di identificare 1 caso aggiuntivo (AbTPO) e 3 casi aggiuntivi (AbTg), corrispondenti al 2.9% e 8.8% dei 34 casi di PPT complicati da PH. Pertanto, il ruolo predittivo dei livelli di AbTPO compresi tra 61-100 U/ml nel primo trimestre di gravidanza era 25% per la PPT e 23.1% per PH; invece, per gli AbTg il rischio era pari al 69.2% e 23.1%. Insomma, uno screening per PPT e PH basato sul dosaggio di entrambi gli Ab e considerando come positivi valori alto/normali degli stessi, è più utile rispetto a quello basato sul dosaggio dei soli AbTPO e impiegando valori di positività convenzionali, cioè maggiori del limite superiore di normalità.

Per quanto riguarda la UST, abbiamo trovato che un quadro di tiroidite ecografica riscontrato nel primo trimestre di gravidanza conferisce un significativo rischio per PPT (OR= 13.2) rispetto alla sua assenza, e che questo rischio è simile a quello dato dalla positività degli AbTg (**Tab. I, ultima riga, ultima colonna**). In uno studio pugliese [74] su 74 donne AbTPO+ al primo trimestre di gravidanza, la frequenza di UST alla 10^a settimana di gravidanza era 86.5%, praticamente uguale al nostro (85.7%). Delle 74 donne, 36 (49%) svilupparono poi la PPT [74], appena meno frequentemente rispetto al 60.7% del nostro studio. Inoltre, nella nostra coorte, su 356 donne AbTPO-, 76 (21.3%) presentavano UST nel primo trimestre e 24 svilupparono PPT (31.6% di 76, 6.7% di 356). Tuttavia, considerata l'alta frequenza di UST nell'intera coorte di donne (35%) e l'elevatissima frequenza nel gruppo che sviluppò PPT (>80%), la UST non risultava un fattore predittivo per lo sviluppo di PH.

Infine, abbiamo confermato i dati recentemente riportati in letteratura che mostrano che circa la metà delle donne con PPT va incontro a PH [28].

3.2 (STUDIO n. 2)

DOSAGGIO DI AUTOANTICORPI ANTI-ORMONI TIROIDEI NEL PRIMO TRIMESTRE DI GRAVIDANZA E LORO RUOLO PREDITTIVO DELLA TIROIDITE POSTPARTUM

• 3.2.1 RAZIONALE DELLO STUDIO

Come già accennato, una percentuale compresa tra il 33 e il 50% delle donne gravide AbTPO+ è a rischio di sviluppare PPT [28]. Conseguentemente, lo screening effettuato impiegando solo il dosaggio di questo tipo di Ab non permette di individuare un 50-67% di donne che svilupperanno PPT. Inoltre, è stato osservato che sia AITD che AINTD (tra cui il DM-1) sono associate, rispetto al passato, a una minor frequenza di positività dei classici anticorpi anti-tiroide ed, invece, ad una frequenza via via crescente di AbOT [82-84,69]. E' quindi possibile che tra le donne che non risultino positive ai classici anticorpi anti-tiroide ma che svilupperanno PPT, esista un certo numero di donne AbOT positive. Ne consegue, che il dosaggio degli AbOT potrebbe essere utile per identificare queste donne.

- **3.2.2 SCOPO DELLO STUDIO**

Sulla base di questo presupposto e di quanto descritto nello studio n. 1, come estensione di quest'ultimo (ed utilizzando quindi la stessa coorte), obiettivo dello studio n. 2 è stato quello di valutare se il dosaggio di AbOT (IgM-T3, IgG-T3, IgM-T4 e IgG-T4) in donne al primo trimestre di gravidanza potesse essere utile nell'incrementare la predittività della PPT. Traendo vantaggio dalla casistica dello studio n. 1, ove erano stati dosati anche AbTg, AbTPO ed effettuata l'ecografia tiroidea, abbiamo potuto valutare il valore predittivo degli AbOT da soli o combinati con uno o più tra AbTg, AbTPO e UST.

- **3.2.3 PAZIENTI E METODI**

3.2.3a Coorte

Vedasi studio n. 1.

3.2.3b Metodi

Gli AbOT sono stati misurati al momento dell'arruolamento (7^a - 11^a settimana di gravidanza). I sieri delle 412 donne sono stati ottenuti alla prima visita e conservati a -20° fino al momento del dosaggio.

Il dosaggio di AbOT (IgM-T3, IgG-T3, IgM-T4 e IgG-T4), è basato su una tecnica di precipitazione radioimmunologica [85]. Mezzo millilitro di siero (500 µL) viene incubato con 0.5 µCi

[125I]T3 o [125I]T4 (Perkin Elmer Italia, Milano, Italia) per un'ora a temperatura ambiente (23°C). Venti µL di questo incubato vengono, a loro volta, incubati con 150 µL di soluzione contenente anti-IgM o anti-IgG umane (Sigma-Aldrich, Milano, Italia) ad una concentrazione di 0.5% per 24 h a 4°C. Sia anti-IgM che anti-IgG sierici sono stati prediluiti 1:10 con soluzione salina contenente BSA. Dopo incubazione, col gamma-counter è viene misurata la radioattività (definita radioattività totale). Successivamente, la mistura è centrifugata a $2,000 \times g$ per 20 min, ed il supernatante viene aspirato. Col gamma-counter veniva misurata la radioattività immunoprecipitata (intesa anche come radioattività legata da anti-IgM o da anti-IgG) dopo aspirazione del supernatante. I risultati venivano espressi come percentuale di radioattività immunoprecipitata rispetto alla radioattività totale.

Ciascun siero è stato analizzato in duplicato per ognuno dei quattro tipi di AbOT. Per evitare variazioni inter-dosaggio, tutti i 412 sieri sono stati analizzati in 4 distinti dosaggi: uno per IgM-T3, uno per IgG-T3, uno per IgM-T4 e uno per IgG-T4. Abbiamo dosato gli AbOT anche in controlli negativi e positivi, cioè sieri negativi per tutti i 4 tipi di AbOT e sieri positivi per un tipo di AbOT (IgM-T3, IgG-T3, IgM-T4 e IgG-T4). La positività di AbOT era definita dalla proporzione di radioattività [125I]T3 o [125I]T4 immunoprecipitata (numeratore) rispetto alla corrispondente radioattività che era stata aggiunta prima dell'immunoprecipitazione (denominatore) in misura al di sopra

di queste soglie: 3.9% (IgM-T3), 3.6% (IgG-T3), 3.4% (IgM-T4) o 3.9% (IgG-T4). In caso di valori borderline, il dosaggio veniva ripetuto.

In relazione alla specificità di legame ormonale, gli AbOT potevano appartenere ad una di queste tipologie: AbT3 (leganti soltanto la T3), AbT4 (leganti soltanto la T4), AbT3/T4 (leganti sia T3 sia T4). In relazione alla classe Ig, gli AbOT potevano appartenere ad una di queste tre tipologie: IgM, IgG, sia IgM che IgG. Quindi, il repertorio degli AbOT è eterogeneo: da AbOT di un singolo tipo (per esempio, IgM-T3) ad AbOT di tipo quadruplo (contemporanea presenza di IgM-T3, IgG-T3, IgM-T4, IgG-T4).

Per correlare gli AbOT con gli AbTg e gli AbTPO (entrambi dosati nello stesso siero degli AbOT usando il kit di elettrochemiluminescenza della Roche, Mannheim, Germania; intervallo di normalità: 0-100 U/ml per ambedue), sulla base di quanto detto nello studio n. 1, abbiamo usato due soglie di positività tanto per gli AbTg quanto per gli AbTPO: ≥ 101 U/ml e ≥ 61 U/ml.

Infine, come già detto, abbiamo anche valutato la correlazione degli AbOT con UST riscontrata al momento dell'arruolamento [86].

3.2.3c Statistica

Il confronto tra le proporzioni e le variabili categoriali è stato eseguito usando il test χ^2 o il test esatto di Fisher, come

appropriato. Il livello di significatività statistica era sempre $P < 0.05$. Valori di P tra 0.10 e 0.05 erano considerati avere un grado di significatività borderline.

- **3.2.4 RISULTATI**

3.2.4a Frequenza di AbOT

La positività al primo trimestre di gravidanza per almeno uno degli AbOT è stata riscontrata in 21/412 donne (5.1%), ma con una frequenza 7 volte maggiore nelle donne che in seguito svilupparono PPT rispetto a quelle che non la svilupparono (12/63 [19.0%] vs 9/349 [2.6%], $P = 4.6 \times 10^{-8}$) (**Tab. I**). All'interno del gruppo PPT, gli AbOT erano presenti almeno 3 volte più frequentemente nelle donne che svilupparono PH rispetto a quelle che tornarono eutiroidee (26.5% [9/34] vs 10.3% [3/29], $P = 0.12$).

Delle 21 donne AbOT+, 2 erano affette da DM-1 che, come detto prima, rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo di PPT. Entrambe le donne DM-1+ e AbOT+ svilupparono la PPT con successiva evoluzione in PH (**Tab. I**, nota). Altre 2 donne con DM-1 nella nostra coorte di 412 donne gravide non presentavano AbOT; di queste, solo una sviluppo' PPT senza evoluzione in PH.

Tabella I. Frequenza e repertorio degli AbOT.

| AbT3 | | AbT4 | | Numero e % | PPT | | Statistica § |
|---------------------------------------|-----|------|-----|-------------------|------------------|------------------|---|
| IgM | IgG | IgM | IgG | Totale (n=412) | Si (n= 63) | No (n= 349) | |
| Assenti tutti gli AbOT | | | | 391 (94.9%) | 51 (81%) | 340 | $\chi^2 = 29.9,$ P= 4.6x10⁻⁸ |
| Almeno un Ab presente | | | | 21 (5.1%) | 12 (19.0%) | 9 (2.6%) | |
| Un AbOT | | | | 15 (3.6%) [71.4%] | 9 (14.3%) [75%] | 6 (1.7%) [66.7%] | $\chi^2 = 31.3,$ P= 2.2x10⁻⁸ |
| + | Neg | Neg | Neg | 4 (1%) [19%] | 2 (3.2%) [16.7%] | 2 (0.6%) [22.2%] | P= 0.08 |
| Neg | + | Neg | Neg | 4 (1%) [19%] | 3 (4.8%) [25%] | 1 (0.3%) [11.1%] | P= 0.007 |
| Neg | Neg | + | Neg | 4 (1%) [19%] | 2 (3.2%) [16.7%] | 2 (0.6%) [22.2%] | P= 0.08 |
| Neg | Neg | Neg | + | 3 (0.7%) [14.3%] | 2 (3.2%) [16.7%] | 1 (0.3%) [11.1%] | P= 0.044 |
| Due AbOT | | | | 6 (1.5%) [28.6%] | 3 (4.8%) [25%] | 3 (0.9%) [33.3%] | P= 0.03 |
| + | + | Neg | Neg | 2 (0.5%) [9.5%] | 1 (1.6%) [8.3%] | 1 (0.3%) [11.1%] | |
| Neg | + | + | Neg | 1 (0.2%) [4.8%] | 0 | 1 (0.3%) [11.1%] | |
| Neg | + | Neg | + | 1 (0.2%) [4.8%] | 1 (1.6%) [8.3%] | 0 | |
| + | Neg | + | Neg | 0 | 0 | 0 | |
| + | Neg | Neg | + | 1 (0.2%) [4.8%] | 1 (1.6%) [8.3%] | 0 | |
| Neg | Neg | + | + | 1 | 0 | 1 (0.3%) [11.1%] | |
| Tre AbOT | | | | 0 | 0 | 0 | |
| + | + | + | Neg | | | | |
| Neg | + | + | + | | | | |
| + | Neg | + | + | | | | |
| + | + | Neg | + | | | | |
| Quattro AbOT | | | | 0 | 0 | 0 | |
| + | + | + | + | | | | |
| Sulla base dell' ormone legato | | | | | | | |
| Solo T3 (IgM, IgG o entrambi) | | | | 10 (2.4%) [47.6%] | 6 (9.5%) [50%] | 4 (1.1%) [44.4%] | P= 0.0005 |
| Solo T4 (IgM, IgG o entrambi) | | | | 8 (1.9%) [38.1%] | 4 (6.3%) [33.3%] | 4 (1.1%) [44.4%] | P= 0.011 |
| T3 & T4 (IgM, IgG o entrambi) | | | | 3 (0.7%) [14.3%] | 2 (3.2%) [16.7%] | 1 (0.3%) [11.1%] | P= 0.044 |
| Tutti assenti | | | | 391 | 51 (81%) | 340 (97.4%) | |
| Sulla base della classe di Ig | | | | | | | |
| Solo IgM (T3, T4 o T3+T4) | | | | 8 (1.9%) [38.1%] | 4 (6.3%) [33.3%] | 4 (1.1%) [44.4%] | P= 0.011 ^ |
| Solo IgG (T3, T4 o T3+T4) | | | | 8 (1.9%) [38.1%] | 6 (9.5%) [50%] | 2 (0.6%) [22.2%] | P= 0.0002 ^ |
| IgM & IgG (T3, T4 o T3+T4) | | | | 5 (1.2%) [23.8%] | 2 (3.2%) [16.7%] | 3 (0.9%) [33.3%] | P= 0.17 ^ |
| Tutti assenti | | | | 391 | 51 (81%) | 340 (97.4%) | |

Note a piede della Tab. I

* Le percentuali in parentesi tonda si riferiscono alla distribuzione in tutte le donne (n= 412), PPT positive (n= 63) o PPT negative (n= 349). Le percentuali in parentesi quadra si riferiscono alla distribuzione tra i casi di donne AbOT+ [n= 12 per PPT, n= 9 per nonPPT]. Riguardo le 2/4 donne con diabete mellito di tipo 1 (DM-1) che erano AbOT+, il loro repertorio di AbOT era rappresentato da un singolo anticorpo (IgG-T3) in una donna e due AbOT (IgG-T3+IgM-T4) nell'altra

§ I dati statistici si riferiscono alle differenze tra le proporzioni riportate in parentesi nel gruppo PPT *vs* il gruppo nonPPT. Le differenze tra le percentuali in parentesi quadra nel gruppo PPT *vs* il gruppo nonPPT non raggiungevano la significatività ($P > 0.10$). I valori di P riportati in ***grassetto corsivo*** indicano una significatività statistica borderline (P tra 0.10 e 0.05). I valori di P scritti in **grassetto** indicano una significatività statistica ($P < 0.05$ almeno).

^ Test esatto di Fisher

3.2.4b Tipologia di AbOT

Gli AbOT possono essere categorizzati in quattro differenti modi. Le possibili combinazioni derivanti dal riscontro di uno, due, tre o quattro AbOT danno origine a quattro categorie per un totale di 15 possibilità (**Tab. I**). Se si considera il tipo di ormone tiroideo legato dagli AbOT, il risultato è rappresentato da tre categorie (leganti solo T3, leganti solo T4 o leganti entrambi T3 e T4), e così anche nel caso di stratificazione basata sulla classe Ig (solo IgM, solo IgG, entrambi IgM e IgG) (**Tab. I**).

La categoria più frequente era rappresentata dal riscontro di un solo tipo di AbOT (15/21 [71.4%]), mentre non sono mai stati riscontrati tre o quattro AbOT. C'era anche un'evidente gerarchia riguardo la specificità ormonale AbT3 [10/21; 47.6%] > AbT4 [8/21; 38.1%] > AbT3 e AbT4 [3/21; 14.3%]). Invece, per quanto riguarda le classi Ig, AbOT-IgM e AbOT-IgG erano le più rappresentate e con la medesima frequenza (8/21 [38.1%]). Per alcune categorie di AbOT, il repertorio differiva quando il gruppo di donne che avevano sviluppato PPT veniva confrontato con il gruppo non-PPT (**Tab. I**). Per esempio, nel gruppo PPT, la presenza di un solo AbOT era 8 volte maggiore (14.3% vs 1.7%, $P= 2.2 \times 10^{-8}$) e quella di AbT3 era 9 volte maggiore (9.5% vs 1.1%, $P= 0.011$). Nelle due donne AbOT+ con DM-1, il repertorio era rappresentato dalla presenza di un solo AbOT (IgG-T3) o due (IgG-T3+IgM-T4), repertorio riscontrato in pazienti non gravide con DM-1 (**Tab. I, nota**).

3.2.4c Associazione di AbOT con AbTg, AbTPO e UST

I dati sulla positività al primo trimestre di gravidanza per ciascun parametro (AbOT, AbTg, AbTPO, UST) sono riportati nella **Tab. II**. I tassi di positività per AbOT nell'intera coorte (21/412 [5.1%]), nel gruppo PPT+ (12/63 [19.0%]) e in quello PH+ (9/34 [26.5%]) erano significativamente più bassi rispetto ai corrispondenti tassi di positività di AbTPO e/o AbTg considerando una soglia di positività ≥ 101 U/ml (76/412 [18.4%], 48/63 [76.2%] e 28/34 [82.4%]) o ai tassi di UST+ (144/412 [35.0%], 52/63 [82.5%] e 30/34 [88.2%]) (**Tab. II**).

La positività gestazionale per almeno un AbOT era riscontrata in 9/76 donne (11.8%) con positività per AbTg e/o AbTPO (soglia di positività per entrambi gli Ab ≥ 101 U/ml) rispetto a 12 delle rimanenti 336 donne con negatività per entrambi AbTg e AbTPO (3.6%, $P= 0.0031$) (**Tab. III**). Delle 9 donne AbOT+ nel gruppo AbTg+ e/o AbTPO+, tutte (100%) sviluppavano la PPT rispetto a 3/12 (25%) donne AbOT+ nel gruppo con negatività per AbTg e AbTPO ($P= 0.0011$) (**Tab. III**). Di queste 9 e 3 donne, 8 e 1 presentavano un'evoluzione in PH (88.9% e 33.3%, rispettivamente, $P= 0.12$) (**Tab. III**). I risultati non si modificavano abbassando la soglia di positività per AbTg e AbTPO a ≥ 61 U/ml (**Tab. III**). Infatti, la positività gestazionale per almeno un AbOT era presente in 11/93 donne (11.8%) con AbTg+ e/o AbTPO+ rispetto a 10/319 (3.1%) nel gruppo di donne con AbTPO e AbTg negativi ($P= 0.0008$) (**Tab. III**). Delle 11 donne AbOT+ nel gruppo AbTg+ e/o AbTPO+, 9 (81.8%)

svilupparono PPT rispetto a 3/10 (30%) donne nel gruppo con negatività anticorpale ($P= 0.03$) (**Tab. III**). All'interno del gruppo PPT, il tasso di PH era 8/9 rispetto a 1/3 ($P= 0.12$) (**Tab. III**).

Per quanto concerne le due donne AbOT+ con DM-1 che svilupparono PPT (evoluta in PH in entrambi i casi), esse erano rispettivamente AbTg- (<60 U/ml)/AbTPO+ (>100 U/ml) e AbTg+/AbTPO+ (>100 U/ml, entrambi). Delle 2 donne con DM-1 AbOT-, quella che sviluppò PPT non complicata da PH era AbTg- (<60 U/ml)/AbTPO+ (>100 U/ml), mentre quella che non sviluppò PPT era AbTg+ (>100 U/ml)/AbTPO-.

Per quanto riguarda l'associazione tra AbOT e UST, AbOT erano presenti in 12/144 donne con UST rispetto a 9/268 senza UST (8.3% vs 3.4%, $P= 0.029$) (**Tab. III**). Delle 12 donne AbOT+ con UST, 9 (75%) svilupparono PPT e 3 non la svilupparono (25%, $P= 0.087$); nel gruppo PPT, il tasso di PH era 8/9 rispetto a 1/3 nel gruppo non-PPT ($P= 0.12$) (**Tab. III**). Inoltre, le 2 donne AbOT+ con DM-1 che svilupparono PPT (evoluta in PH), mostravano entrambe UST; le altre due donne con DM-1 AbOT-, avevano entrambe UST, ma solo una sviluppò PPT, che non evolvette in PH.

Concludendo, AbOT sono stati riscontrati in 13/153 donne (8.5%) con positività gestazionale per uno dei tre test (UST, AbTg e AbTPO [soglia ≥ 101 U/ml]) rispetto a 8/259 donne (3.1%) con tutti i test negativi ($P= 0.016$) (**Tab. III**). Di queste 13 donne AbOT+ con almeno un test positivo, 10 svilupparono

PPT (76.9%) rispetto a 1 solo caso su 8 donne AbOT+ con negatività per gli altri test (12.5%, P= 0.0075, OR= 23.3 [95% CI, da 2 a 275] (**Tab. III**). Delle 21 donne AbOT+, 15 presentavano un quadro di UST (71.4%), un tasso non significativamente più basso rispetto al tasso di 57/67 (85.1%) presente nelle donne AbTPO+ o rispetto al tasso di 35/41 (85.4%) presente nelle donne AbTg+ (dati non mostrati). Inoltre, i risultati non si modificavano usando una soglia di positività anticorpale ≥ 61 U/ml sia per AbTPO che per AbTg. Infatti, AbOT erano presenti in 13/159 donne con positività gestazionale per tiroidite, AbTg e AbTPO rispetto alle rimanenti 8/253 donne aventi tutti e tre i test negativi (8.2% vs 3.2%, P= 0.024). Come detto sopra, ad una soglia di positività ≥ 101 U/ml, il tasso di PPT era 10/13 vs 1/8 (P= 0.0075).

Tabella II. Stato degli AbOT al momento dell'arruolamento, in gruppi stratificati sulla base del successivo sviluppo di tiroidite postpartum (PPT) e, all'interno di questo gruppo, sulla base dell'evoluzione in ipotiroidismo permanente (PH). Per confronto, è riportato anche lo stato di AbTPO, AbTg e tiroidite ecografica (UST).

| | Tutti (n= 412) | PPT | | PH | |
|----------------------------------|-------------------|---|---------------------|---|---------------------|
| | | Assente (n= 349) | Presente (n= 63) | Assente (n= 29) | Presente (n= 34) |
| Stato AbOT | | | | | |
| Tutti e 4 assenti | 391 | 340 | 51 | 26 (89.7%) | 25 (73.5%) |
| Almeno uno positivo | 21 (5.1%) | 9 (2.6%) | 12 (19.0%) | 3 (10.3%) | 9 (26.5%) |
| Statistica | | $\chi^2 = 29.9, P = 4.6 \times 10^{-8}$ OR= 8.9 (3.6-22.1) | | P= 0.12 OR= 3.1 (0.7-12.9) | |
| Stato degli Ab tiroidei | | | | | |
| AbTPO- & AbTg- | 336 (81.6%) | 321 (92.0%) | 15 (23.8%) | 9 (31.0%) | 6 (17.6%) |
| AbTPO e/o AbTg+ | 76 (18.4%) | 28 (8.0%) | 48 (76.2%) | 20 (69.0%) | 28 (82.4%) |
| Statistica | | $\chi^2 = 164.8, P = 9.9 \times 10^{-38}$ OR= 36.7 (18.3-73.6) | | $\chi^2 = 1.54, P = 0.22$ OR= 2.1 (0.6-6.8) | |
| AbTPO- & AbTg- | 336 (81.6%) | 321 (92.0%) | 15 (23.8%) | 11 (38.0%) | 6 (17.6%) |
| AbTPO+ & AbTg+ | 9 (2.2%) | 1 (0.3%) | 8 (12.7%) | 2 (6.9%) | 6 (17.6%) |
| AbTPO+ & AbTg- | 47 (11.4%) | 16 (4.6%) | 31 (49.2%) | 14 (48.3%) | 17 (50%) |
| AbTPO- & AbTg+ | 20 (4.8%) | 11 (3.1%) | 9 (14.3%) | 4 (13.8%) | 5 (14.8%) |
| | | df=3, $\chi^2 = 174.8,$ P= 1.2x10⁻³⁷ | | df=3, $\chi^2 = 3.7,$ P=0.29 | |
| AbTPO- indipendentemente da AbTg | 356 (86.4%) | 332 | 24 | 13 | 11 |
| AbTPO+ indipendentemente da AbTg | 56 (13.6%) | 17 (4.9%) | 39 (61.9%) | 16 (55.2%) | 23 (67.6%) |
| Statistica | | $\chi^2 = 148, P = 5 \times 10^{-34}$ OR= 31.7 (15.7-64.2) | | $\chi^2 = 1.03, P = 0.31$ OR= 1.70 (0.61-4.74) | |
| AbTg- indipendentemente da AbTPO | 383 (93.0%) | 337 | 46 | 23 | 23 |
| AbTg+ indipendentemente da AbTPO | 29 (7.0%) | 12 (3.4%) | 17 (27.0%) | 6 (20.7%) | 11 (32.4%) |
| Statistica | | $\chi^2 = 45.2, P = 1.8 \times 10^{-11}$ OR= 10.38 (4.7-23.1) | | $\chi^2 = 1.08, P = 0.30$ OR= 1.83 (0.58-5.79) | |
| Tiroidite all'ecografia | | | | | |
| Assente | 268 (65.0%) | 257 (73.6%) | 11 (17.5%) | 7 (24.1%) | 4 (11.8%) |
| Presente | 144 (35.0%) | 92 (26.4%) | 52 (82.5%) | 22 (75.9%) | 30 (88.2%) |
| Statistica | | $\chi^2 = 74.1, P = 7.5 \times 10^{-18}$ OR= 13.2 (6.60-26.40) | | P= 0.32 OR= 2.39 (0.62-9.17) | |

Note a piede della Tab. II

La soglia di positività per AbTg e AbTPO è ≥ 101 U/ml. I valori di P scritti in **grassetto** indicano una significatività statistica (almeno $P < 0.05$). La statistica è data dalla presenza di PPT o PH vs assenza di PPT o PH.

Confronto tra stato di AbOT+ con un altro stato nell'intera coorte: 5.1% (AbOT+) vs 18.4% (AbTPO e/o AbTg+), $\chi^2 = 35.35$, **$P = 2.8 \times 10^{-9}$** , OR= 0.24 [95% CI da 0.14 a 0.39]; 5.1% vs 13.6% (AbTPO+ indipendentemente da AbTg), $\chi^2 = 17.55$, **$P = 2.8 \times 10^{-5}$** , OR= 0.34 [da 0.20 a 0.57]; 5.1% vs 7.0% (AbTg+ indipendentemente da AbTPO), $\chi^2 = 1.36$, $P = 0.24$, OR= 0.71 [da 0.40 a 1.27]; 5.1% vs 35.0% (tiroidite ecografica presente), $\chi^2 = 114.6$, **$P = 9.4 \times 10^{-27}$** , OR= 0.10 [da 0.06 a 0.16].

Confronto tra stato di AbOT+ con un altro stato in donne con PPT: 19.0% (AbOT+) vs 76.2% (AbTPO e/o AbTg+), $\chi^2 = 41.24$, **$P = 1.3 \times 10^{-10}$** , OR= 0.07 [da 0.03 a 0.17]; 19.0% vs 61.9% (AbTPO+ indipendentemente da AbTg), $\chi^2 = 24.0$, **$P = 9.6 \times 10^{-7}$** , OR= 0.14 [da 0.06 a 0.32]; 19.0% vs 27.0% (AbTg+ indipendentemente da AbTPO), $\chi^2 = 1.12$, $P = 0.29$, OR= 0.64 [da 0.27 a 1.47]; 19.0% vs 82.5% (tiroidite ecografica presente), $\chi^2 = 50.81$, **$P = 1.0 \times 10^{-12}$** , OR= 0.05 [da 0.02 a 0.12].

Confronto tra stato di AbOT+ con un altro stato in donne con PH: 26.5% (AbOT+) vs 82.4% (AbTPO e/o AbTg+), $\chi^2 = 21.40$, **$P = 3.7 \times 10^{-6}$** , OR= 0.08 [da 0.02 a 0.25]; 26.5% vs 67.6% (AbTPO+ indipendentemente da AbTg), $\chi^2 = 11.57$, **$P = 0.0007$** , OR= 0.17 [da 0.06 a 0.49]; 26.5% vs 32.4% (AbTg+ indipendentemente da AbTPO), $\chi^2 = 0.28$, $P = 0.59$, OR= 0.75 [da 0.26 a 2.15]; 26.5% vs 88.2% (tiroidite ecografica presente), **$P = 2.6 \times 10^{-7}$** , OR= 0.05 [da 0.01 a 0.17], tramite test esatto di Fisher.

Tabella III. Positività per almeno un tipo di AbOT al primo trimestre di gravidanza in donne stratificate sulla base dello stato degli anticorpi tiroidei.

| | AbOT positivi | PPT | | PH | |
|---|--|---|------------------|--|----------------|
| | | Assente | Presente | Assente | Presente |
| Tutte (n= 412) | 21 (5.1%) | 9/21 (42.9%) | 12/21 (57.1%) | 3/12 (25%) | 9/12 (75%) |
| Test per AbTg e AbTPO | | | | | |
| AbTg e AbTPO negativi (<101 U/ml), n= 336 | 12 (3.6%) | 9/12 (75%) | 3/12 (25%) | 2/3 (66.7%) | 1/3 (33.3%) |
| AbTg e/o AbTPO positivi (≥101 U/ml), n= 76 | 9 (11.8%) | 0/9 | 9/9 (100%) | 1/9 (11.1%) | 8/9 (88.9%) |
| Statistica | $\chi^2= 8.76$, P= 0.0031 OR= 3.6 [1.5-8.9] | P= 0.0011 (test esatto di Fisher), OR= 52 [2-1142] | | P= 0.12 (test esatto di Fisher), OR= 16 [0.7-383] | |
| AbTg e/o AbTPO negativi (<61 U/ml), n= 319 | 10 (3.1%) | 7/10 (70%) | 3/10 (30%) | 2/3 (66.7%) | 1/3 (33.3%) |
| AbTg e/o AbTPO positive (≥61 U/ml), n= 93 | 11 (11.8%) | 2/11 (18.2%) | 9/11 (81.8%) | 1/9 (11.1%) | 8/9 (88.9%) |
| Statistica | $\chi^2= 11.25$, P= 0.0008 , OR= 4.1[1.7-10.1] | P= 0.03 (test esatto di Fisher), OR= 10.5 [1.4-81] | | P= 0.12 (test esatto di Fisher), OR= 16 [0.7-383] | |
| Valutazione ecografica | | | | | |
| Tiroidite ecografica assente, n= 268 | 9 (3.4%) | 6/9 (66.7%) | 3/9 (33.3%) | 2/3 (66.7%) | 1/3 (33.3%) |
| Tiroidite ecografica presente, n= 144 | 12 (8.3%) | 3/12 (25.0%) | 9/12 (75.0%) | 1/9 (11.1%) | 8/9 (88.9%) |
| Statistica | $\chi^2= 4.8$, P= 0.029 , OR= 2.6 [1.1-6.4] | P= 0.087 (test esatto di Fisher), OR= 6.0 [0.9-40] | | P= 0.12 (test esatto di Fisher), OR= 16 [0.7-383] | |
| Test combinati | | | | | |
| Negatività per tutti i tre test (Ab neg. a <101 U/ml), n= 259 | 8 (3.1%) | 7/8 (87.5%) | 1/8 (12.5%) | 1/1 | 0/1 |
| Positività per ognuno di essi (Ab pos. a ≥101 U/ml), n= 153 | 13 (8.5%) | 3/13 (23.1%) | 10/13 (76.9%) | 2/10 (20%) | 8/10 (80%) |
| Statistica | $\chi^2= 5.8$, P= 0.016 OR= 2.9 [1.2-7.2] | P= 0.0075 (test esatto di Fisher), OR= 23.3 [2-275] | | P= 0.27 (test esatto di Fisher), OR= 10 [0.3-337] | |

Tabella III – continuazione

| | | | | | |
|--|--|---|---------------|--|------------|
| Negatività per tutti i tre test (Ab neg. a <61 U/ml), n= 259 | 8 (3.1%) | 7/8 (87.5%) | 1/8 (12.5%) | 1/1 | 0/1 |
| Positività per ognuno di essi (Ab pos. a ≥61 U/ml), n= 153 | 13 (8.5%) | 3/13 (23.1%) | 10/13 (76.9%) | 2/10 (20%) | 8/10 (80%) |
| | $\chi^2 = 5.8$, P= 0.016 OR= 2.9 [1.2-7.2] | P= 0.0075 (test esatto di Fisher), OR= 23.3 [2-275] | | P= 0.27 (test esatto di Fisher), OR= 10 [0.3-337] | |

Note a piede della Tab. III

I valori di P scritti in **grassetto** indicano una significatività statistica (almeno $P < 0.05$). I valori di P scritti in *grassetto corsivo* indicano una significatività statistica borderline (P tra 0.10 e 0.05).

• 3.2.5 DISCUSSIONE

Questo studio, che ha ricercato la presenza di AbOT in una coorte di donne gravide campionate al primo trimestre di gravidanza, rappresenta una novità nel panorama della letteratura. L'unico altro studio in cui venivano dosati AbOT faceva riferimento a una coorte di donne arruolate nel postpartum e non durante la gravidanza [67]. Inoltre, nel medesimo studio gallese [67], gli AbOT erano stati dosati mediante una tecnica di precipitazione del siero miscelato con analoghi radiomarcati T4-Amerlex o T3-Amerlex. L'agente precipitante utilizzato [glicole polietilenico 6000 (PEG)] non ha capacità precipitanti specifiche, il che impedisce di poter distinguere tra le classi Ig. Inoltre, il PEG sovrastima la reale quantità di ligando precipitato poiché vengono precipitate anche altre proteine oltre alle immunoglobuline, quali albumina e α 1-antitripsina [87], il che è importante poiché albumina e α 1-antitripsina trasportano gli ormoni tiroidei nel plasma [88].

In questo studio abbiamo mostrato che una donna gravida su 20, residente nella nostra area geografica, ha una positività per almeno uno dei 4 AbOT, nel primo trimestre di gravidanza e che in $\frac{3}{4}$ dei casi si tratta di un singolo AbOT. La frequenza di positività di AbOT è inferiore rispetto a quella di 5 o 6 donne gravide della stessa coorte che sono positive per AbTg e/o AbTPO. Inoltre, gli AbOT tendono ad essere più frequenti in donne gravide AbTPO+ e/o AbTg+ e in quelle che presentano UST.

Abbiamo poi mostrato che la positività per AbOT è associata con lo sviluppo di PPT, con un tasso analogo a quello riportato in letteratura (33-50%) per un marcatore classico di PPT che è la positività per AbTPO. Infatti, 12/21 (57.1%) donne gravide AbOT+ svilupparono PPT rispetto a 39/56 (69.6%) donne AbTPO+ o 17/29 (58.6%) donne AbTg+ presenti nella stessa coorte e che pure svilupparono PPT [86]. Analogamente, la predittività degli AbOT per PH (42.9% [9/21]) è comparabile a quella degli AbTPO (41.1% [23/56]) e degli AbTg (37.9% [11/29]) [86]. Anche se la positività degli AbOT è più specifica rispetto a quella di AbTPO e/o AbTg, tuttavia la bassa sensibilità ne preclude l'impiego routinario come marker gestazionale di PPT. Un possibile impiego degli AbOT potrebbe essere rappresentato dall'utilizzo selettivo nel gruppo di gravide con positività per AbTg e/o AbTPO (≥ 101 U/ml), un gruppo che rappresenta quasi un quinto (76/412 [18.4%]) della nostra coorte di donne. Infatti, il 100% (9/9) delle donne con positività sia per AbTg che per AbTPO che per AbOT sviluppava PPT, e il 90% di queste evolveva in PH. Tuttavia, questo sottogruppo con tripla positività rappresenta solo il 12% (9/76) delle donne con AbTg e/o AbTPO positivi.

Una limitazione dello studio è rappresentata (per ridotto budget) dal non aver potuto dosare gli AbOT in più tempi della gravidanza e del postpartum; tuttavia il nostro outcome principale era appunto rappresentato dal poter verificare il ruolo

di AbOT come predittori di PPT e PH quando dosati già nel primo trimestre di gestazione.

3.3 (STUDIO n. 3)

IL CONSUMO DI PESCE AZZURRO PROTEGGE DALLA COMPARSA DI TIROIDITE POSTPARTUM MENTRE IL CONSUMO DI PESCE SPADA LA FAVORISCE

• 3.3.1 RAZIONALE DELLO STUDIO

In letteratura è documentato l'effetto protettivo del consumo di pesce o della supplementazione con acidi grassi polinsaturi omega 3 (PUFA), nella prevenzione delle patologie autoimmuni e non autoimmuni, al contrario della carne, il cui consumo ha spesso effetti opposti [89-97]. Tuttavia, i pesci, soprattutto i grossi pesci predatori come il pesce spada, sono tra i principali esseri viventi che ingeriscono (e quindi accumulano) agenti inquinanti, tra cui il mercurio [89,90,98], mentre il pesce azzurro è particolarmente ricco di PUFA e povero -in quanto di piccola taglia- di agenti inquinanti [89].

Nel territorio in cui viviamo sia il pesce spada sia il pesce azzurro, sono abbondanti, e grazie a questa possibilità è stato condotto un precedente studio su 236 donne gravide [89]. In quello studio, era stato dimostrato che il consumo esclusivo o prevalente di pesce spada (gruppo A) era associato ad alti livelli di positività degli anticorpi anti-tiroide (AbTPO e AbTg) ai vari tempi valutati (1°, 2°, 3° trimestre di gestazione e 4° giornata postpartum). Al contrario, il consumo esclusivo o predominante di pesce azzurro (gruppo B) era associato ad AbTPO e AbTg

negativi. Livelli anticorpali intermedi erano presenti nel gruppo C (scarso consumo di pesce spada con o senza scarso consumo di pesce azzurro, ma predominante consumo di altri pesci) e nel gruppo D (consumo di pesce diverso dal pesce spada e dal pesce azzurro). Anche le frequenze di positività tanto per AbTg quanto per AbTPO erano più alte nel gruppo A, più basse nel gruppo B, ed intermedie nei gruppi C e D. In quello studio fu anche arruolato un piccolo numero di donne che non consumavano alcun tipo di pesce (carnivore; gruppo E); in tali donne sia le frequenze sia le concentrazioni sieriche tanto di AbTg quanto di AbTPO erano ancor più alte di quelle del gruppo A [89].

3.3.2 SCOPO DELLO STUDIO

Sulla base di quanto detto sopra, scopo di questo studio è stato quello di ampliare la coorte dei pazienti dello studio precedente [89] per verificare se il consumo di differenti tipi di pesce nei 4 gruppi (e il consumo di carne in assenza di consumo di pesce), e quindi la differente frequenza di positività anticorpale, si potesse tradurre in differenti frequenze di PPT e, eventualmente, di PH. A tal fine, abbiamo anche esteso il follow-up a 12 mesi postpartum.

3.3.3 PAZIENTI E METODI

3.3.3a Coorte

Per l'arruolamento delle 412 donne sono stati utilizzati gli stessi criteri di inclusione ed esclusione del precedente studio [89] e la stessa metodologia dello studio n. 1 descritto sopra [86].

I criteri di inclusione prevedevano di: (i) essere una donna Caucasica, residente stabilmente nell'area dello Stretto di Messina; (ii) non avere una storia di uso di droghe o alcool ad eccezione del consumo di un bicchiere di vino ai pasti principali; (iii) avere stabili abitudini alimentari negli ultimi 5 anni, comprendenti consumo domiciliare di pesce non fritto; (iv) avere un familiare che potesse confermare il consumo di pesce. Inoltre, condizione necessaria per l'arruolamento era che le donne non avessero avuto aborti nel corso della gravidanza, così da poter continuare la valutazione per i 12 mesi postpartum.

I criteri di esclusione erano: (i) presenza di patologie tiroidee note; (ii) presenza di disfunzioni tiroidee misconosciute e scoperte allo screening iniziale; (iii) sviluppo di GD durante la gravidanza o il postpartum. Per evitare difficoltà nello stimare il consumo di pesce, abbiamo escluso donne con i seguenti criteri: (i) consumo di pesce misto a riso/pasta, sebbene l'assunzione di pasta/riso condito con brodo o sugo di pesce fosse permesso massimo una volta al mese; (ii) pasti al ristorante/locali da asporto più di una volta al mese. Per evitare anche il ruolo, come possibili fattori confondenti, delle sostanze tossiche rilasciate dalle lattine o un possibile declino degli anticorpi tiroidei indotto

farmacologicamente, abbiamo escluso donne che consumavano cibo in scatola e che erano in trattamento con immunosoppressori.

Per la valutazione biochimica ed ecografica sono stati utilizzati gli stessi criteri dello studio n. 1 e n. 2 (vedasi sopra).

3.3.3b Consumo di pesce

Come nel precedente studio relativo al consumo di pesce [86], abbiamo sottoposto le donne ad un questionario [99] supportato dalla presenza di foto a colori per mostrare le porzioni e il tipo di pesce e sulla base di questo, abbiamo stratificato le donne in 4 gruppi (A, B, C, D). Il gruppo A comprendeva donne che consumavano quasi esclusivamente pesce spada ma non pesce azzurro; il gruppo B donne che mangiavano quasi esclusivamente pesce azzurro ma non pesce spada, il gruppo C donne che assumevano pesce spada (minoritariamente) e altri pesci (non necessariamente pesce azzurro) e il gruppo D comprendeva donne che consumavano pesci diversi dal pesce spada e dal pesce azzurro (**Tab. I**). Lo studio comprendeva, inoltre, anche un piccolo gruppo di donne che non mangiavano pesce (gruppo E). Alla luce dei risultati dello studio precedente [89], abbiamo pensato potesse essere interessante arruolare quest' ultimo gruppo (consumo esclusivo di carne) allo scopo di confrontarlo con le consumatrici di pesce. La porzione di pesce assunta da tutte le donne era di 150 grammi; ai fini statistici, il numero di

porzioni di pesce consumato mensilmente e la frequenza di pesce consumato ogni mese coincidevano.

Tabella I. Suddivisione delle 412 donne gravide in differenti gruppi sulla base del tipo di pesce consumato, e frequenza del consumo di pesce.

| Gruppo | Frequenza del consumo di pesce (N°/mese) * | Tipo di pesce consumato § |
|---------------|---|---|
| A (n= 92) | 7.5 | Pesce spada soltanto o predominantemente Altro pesce (merluzzo, totano, calamaro, polpo, gamberi), comunque <u>NON pesce azzurro</u> |
| B (n= 85) | 7.5 | Soltanto o predominantemente pesce azzurro (qualsiasi tipo tra acciuga, sardina, alaccia, spratto, aguglia, sauro, sgombro, cicerello, spatola) Altro pesce (nasello, merluzzo, salmone, sogliola, calamaro, polpo, totano, orata, spigola, gamberi, cozze) |
| C (n= 108) | 8.0 | Pesce spada (<u>minoritariamente</u>)+ qualsiasi tra: nasello, merluzzo, salmone, sogliola, calamaro, polpo, totano, orata, spigola, gamberi, cozze, pesce azzurro [vedi gruppo B]. |
| D (n= 117) | 8.0 | Qualsiasi pesce diverso da pesce spada e pesce azzurro: nasello, merluzzo, salmone, sogliola, calamaro, polpo, totano, orata, spigola, gamberi, cozze, vongole. |
| E (n=10) | 0 | Nessun tipo di pesce |

* Valori medi. Poichè il pesce veniva consumato come antipasto a pranzo o cena, il numero di porzioni di pesce consumato ogni mese e la frequenza di pesce consumato ogni mese coincidevano.

§ Il pesce consumato più frequentemente (almeno 50%) è scritto in **grassetto**.

3.3.3c Outcomes

Gli outcomes primari di questo studio erano relativi al periodo postpartum e comprendevano i tassi di PPT e PH, mentre gli outcomes secondari riguardavano il periodo gravidico ed erano rappresentati dal tasso di positività di AbTPO o AbTg e dal tasso ecografico di tiroidite.

3.3.3d Statistica

Vedi studio n. 1

- **3.3.4 RISULTATI**

3.3.4a Consumo di pesce

La distribuzione delle donne nei diversi gruppi ha confermato i precedenti dati [89]. Per esempio, le consumatrici in maniera esclusiva o predominante di pesce spada (gruppo A) rappresentavano il 22.9% delle 412 consumatrici di pesce (24.4% nella precedente coorte) [89]), mentre le gravide che comunque consumavano pesce spada (gruppo A + gruppo C) rappresentavano nel complesso il 49.7% (49.1% nella precedente coorte) [89]. Essendo stata riscontrata una frequenza di consumo di pesce compresa tra 7.0 e 7.8 volte/mese, quindi analoga a quello dello studio precedente (da 7.5 a 8.0 volte/mese o due volte/settimana) [89], i quattro gruppi rimanevano confrontabili dal punto di vista della frequenza (**Tab. I**). Pertanto, eventuali differenze negli outcomes non potevano essere imputabili a

differenze di tipo quantitativo ma a differenze esclusivamente di tipo qualitativo.

3.3.4b Outcomes primari: PPT e PH

I dati riguardanti gli outcomes primari (prevalenza di PPT e PH) e gli outcomes secondari (vedi sezione successiva) sono riassunti nella parte inferiore della **Tab. II**.

La prevalenza globale della PPT era 63/412 (15.3%), con un valore massimo tra le non consumatrici di pesce (gruppo E, 40%) (**Fig. 1**). Tra le consumatrici di pesce, il gruppo A mostrava la prevalenza più alta, ed il gruppo B la prevalenza più bassa (23.9% vs 4.7%, $P < 0.0001$), con una differenza di circa 5 volte tra questi due gruppi (**Fig. 1**). I gruppi C e D presentavano una frequenza intermedia (15.7% e 13.7%), che era statisticamente maggiore ($P < 0.05$) rispetto alla frequenza del 4.7% presente nel gruppo B (**Fig. 1**). Dei gruppi C e D, quest'ultimo aveva una prevalenza di PPT inferiore in maniera borderline rispetto al gruppo A ($P < 0.10$). Inoltre, tutte le 63 donne con PPT, presentavano un'evidenza ecografica di tiroidite a 6 e 12 mesi postpartum.

Il tasso di PH nelle donne con PPT era simile tra i gruppi (approssimativamente 55%). Tuttavia, considerate le differenze sopradette nei tassi di PPT, la frequenza di PH tra tutte le donne che consumavano pesce (comprendenti sia donne con PPT che donne che non avevano sviluppato la PPT) era massima nel gruppo A e minima nel gruppo B (13.0% vs 2.4%, $P < 0.001$), con

frequenze intermedie negli altri due gruppi di consumatrici di pesce.

Tabella II. Tassi di positività, al primo trimestre di gravidanza, degli anticorpi anti-tiroide (AbTg, AbTPO), di tiroidite ecografica e di disfunzione tiroidea [compreso ipotiroidismo permanente (PH)] in donne stratificate sulla base del consumo di pesce e del tipo di pesce consumato (gruppi A-E)

| | Gruppi sulla base del pesce consumato | | | | No pesce | Intera coorte |
|--|---------------------------------------|-------------------------------|--|--|--------------|------------------|
| | A (n= 92) | B (n= 85) | C (n= 108) | D (n= 117) | E (n= 10) | Tutte (n=412) |
| GRAVIDANZA (arruol.) | | | | | | |
| Status Ab | | | | | | |
| AbTPO+, indipend. da AbTg [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 20 (21.7%) $\chi^2= 10.9^d$ | 4 (4.7%) $\chi^2= 10.9^d$ | 15 (13.9%) $\chi^2= 4.52^b$ | 14 (12.0%) $\chi^2= 3.61^a$ $\chi^2= 3.20^a$ | 3 (30%) | 56 (13.6%) |
| AbTPO-, indipend. da AbTg | 72 (78.3%) | 81 (95.3%) | 93 (86.1%) | 103 (88.0%) | 7 (70%) | 356 (86.4%) |
| AbTg+, indipend. da AbTPO [vs. group A] [vs. group B] | 13 (14.1%) $\chi^2= 7.9^b$ | 2 (2.4%) $\chi^2= 7.9^b$ | 7 (6.5%) $\chi^2= 3.23^a$ | 5 (4.3%) $\chi^2= 6.4^b$ | 2 (20%) | 29 (7.0%) |
| AbTg-, indipend. da AbTPO | 79 (85.9%) | 83 (97.6%) | 101 (93.5%) | 112 (95.7%) | 8 (80%) | 383 (93.0%) |
| AbTPO+ & AbTg+ [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 2 (2.2%) | 0 | 3 (2.8%) | 3 (2.6%) | 1 (10%) | 9 (2.2%) |
| AbTPO+ & AbTg- [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 18(19.5%) $\chi^2= 8.69^c$ | 4 (4.7%) $\chi^2= 8.69^c$ | 12 (11.1%) $\chi^2= 2.8^a$ $\chi^2= 2.6^a$ | 11 (9.4%) $\chi^2= 4.45^b$ | 2 (20%) | 47 (11.4%) |
| AbTPO- & AbTg+ [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 11(12.0%) $\chi^2= 6.0^b$ | 2 (2.4%) $\chi^2= 6.0^b$ | 4 (3.7%) $\chi^2= 4.9^b$ | 2 (1.7%) $\chi^2= 9.3^c$ | 1 (10%) | 20 (4.8%) |
| AbTPO- & AbTg- [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 61(66.3%) $\chi^2= 19.0^d$ | 79(92.9%) $\chi^2= 19.0^d$ | 89 (82.4%) $\chi^2= 6.9^c$ $\chi^2= 4.7^b$ | 101 (86.3%) $\chi^2= 11.8^d$ | 6 (60%) | 336 (81.6%) |
| Tiroidite ecografica [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 41(44.6%) $\chi^2= 4.3^b$ | 25(29.4%) $\chi^2= 4.3^b$ | 37 (34.2%) | 37 (31.6%) $\chi^2= 3.7^a$ | 4 (40%) | 144 (34.9%) |
| POSTPARTUM | | | | | | |
| Disfunzione tiroidea (PPT) [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 22 (23.9%) $\chi^2= 13.0^d$ | 4 (4.7%) $\chi^2= 13.0^d$ | 17 (15.7%) $\chi^2= 6.0^b$ | 16 (13.7%) $\chi^2= 3.6^a$ $\chi^2= 4.4^b$ | 4 (40%) | 63 (15.3%) |
| PH in donne con PPT [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 12/22 (54.5%) | 2/4 (50%) | 9/17 (52.9%) | 9/16 (56.2%) | 2/4 (50%) | 34/63 (54%) |
| PH nell'intera coorte [vs. gruppo A] [vs. gruppo B] | 12 (13.0%) $\chi^2= 6.9^c$ | 2 (2.4%) $\chi^2= 6.9^c$ | 9 (8.3%) $\chi^2= 3.2^a$ | 9 (7.7%) $\chi^2= 2.7^a$ | 2 (20%) | 34 (8.2%) |

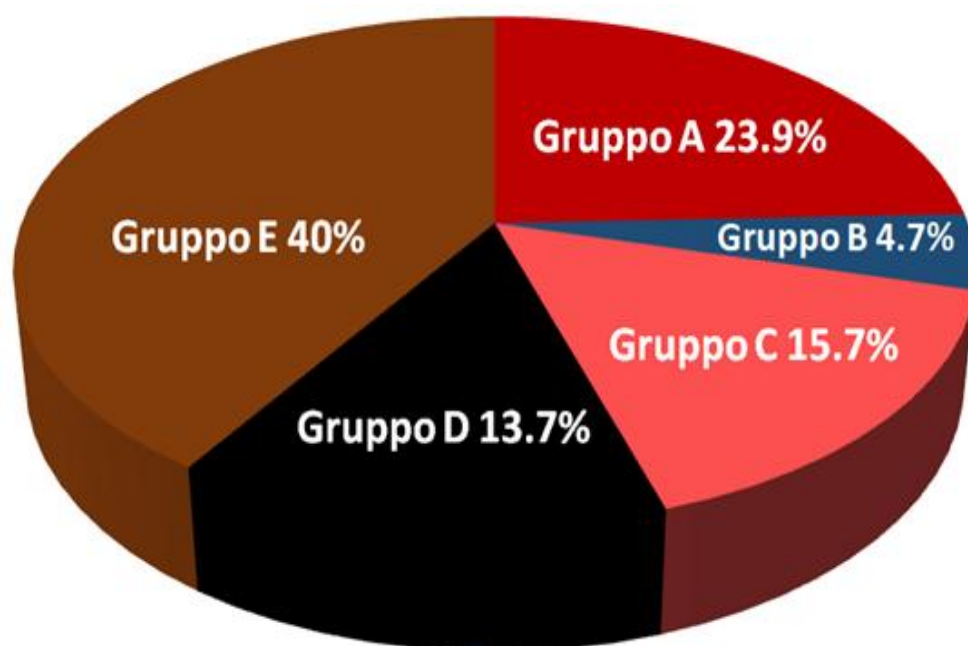
Note a piede della Tab. II

Per i dettagli sul tipo di pesce consumato, si rimanda alla sezione Metodi. Il Gruppo E non assumeva pesce, ma solo carne.

I simboli per la significatività statistica: ^a, P tra 0.10 e 0.05 (significatività borderline); ^b, P <0.05; ^c, P < 0.001, ^d, P <0.0001. Gli spazi relativi al confronto statistico vuoti indicano un livello di P >0.10

La distribuzione dei 4 tipi di Ab (AbTPO+ & AbTg+, AbTPO+ & AbTg-, AbTPO- & AbTg+ e AbTPO- & AbTg-) tra i quattro gruppi era statisticamente differente ($\chi^2 = 29.5$, P = 0.0005).

Figura 1. Percentuale di prevalenza della PPT sulla base della stratificazione in gruppi in base al tipo di pesce consumato



3.3.4c Outcomes secondari

3.3.4c.1 Tasso di positività per Ab tiroidei

Lo status degli anticorpi tiroidei era considerato nelle sue molteplici possibilità: (i) positività (o negatività) di un Ab indipendentemente dalla positività dell'altro Ab; (ii) positività (o negatività) di un Ab considerando anche la positività (o negatività) dell'altro Ab.

Analogamente al *pattern* descritto sopra per la PPT, la frequenza di positività di AbTPO o AbTg era massima nel gruppo A (21.7% o 14.1%) e minima nel gruppo B (4.7% o 2.4%) (**Fig. 2**), con una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($P < 0.0001$ o $P < 0.05$) (**Tab. II**). Intermedie erano invece le frequenze di entrambi gli Ab negli altri due gruppi, con una differenza almeno borderline rispetto al gruppo A e/o al gruppo B (**Fig. 2**). Esisteva una concordanza con i dati precedenti [89], come mostrato dalla positività di AbTPO nei gruppi A, B, C e D (25%, 0%, 14.7% e 8.8% nel precedente studio, *vs* 21.7%, 0%, 13.9% e 12.0% in questo studio). Le non consumatrici di pesce mostravano alti tassi di positività per entrambi gli Ab (30% o 20%) (**Tab. II**).

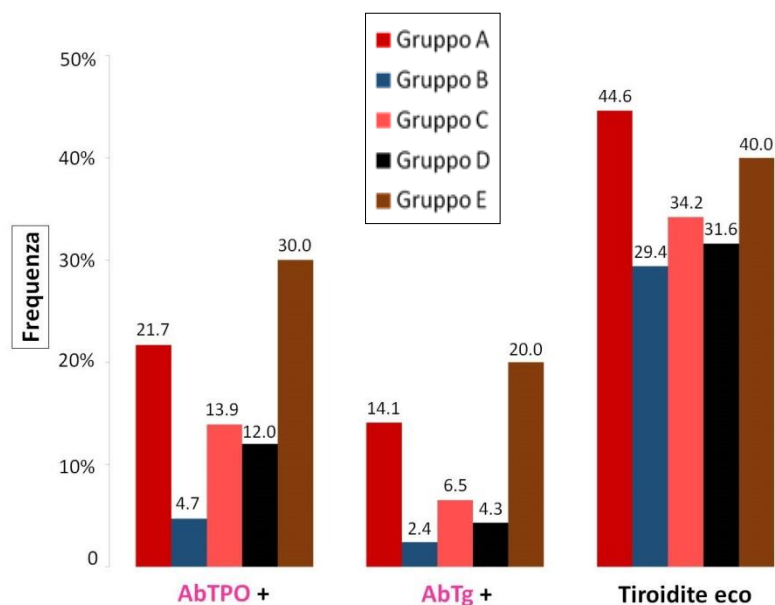
Nell'altra modalità di categorizzazione degli Ab tiroidei, erano possibili 4 combinazioni di AbTPO e AbTg, che andavano da una positività di entrambi (AbTPO e AbTg) a una negatività di entrambi (**Tab. II**).

Complessivamente, la distribuzione nelle quattro categorie era statisticamente significativa ($P < 0.001$). La prima categoria

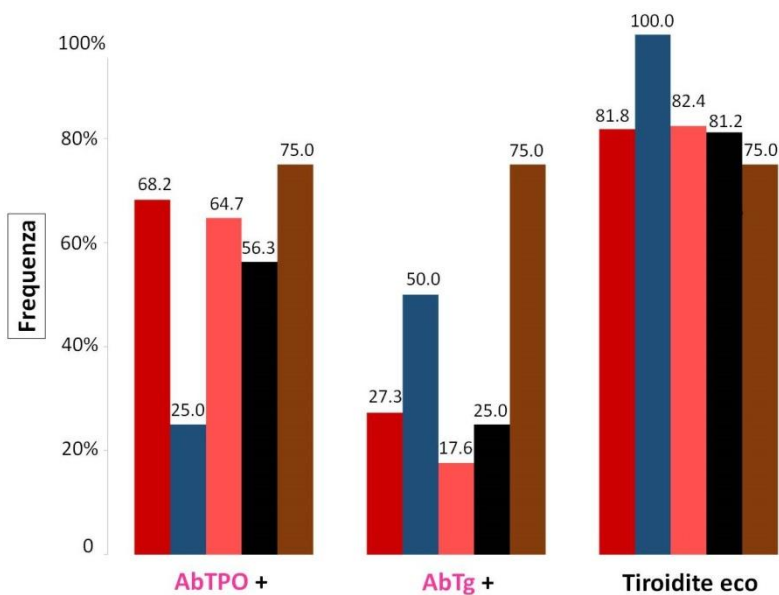
(AbTPO e AbTg entrambi positivi) era quella meno rappresentata, con tassi di sovrapposizione nei quattro gruppi di consumatrici di pesce. La seconda e la terza categoria (AbTPO+/AbTg- e AbTPO-/AbTg+) erano invece iper-rappresentate nel gruppo A e sottorappresentate nel gruppo B, con tassi intermedi (soprattutto per la positività di AbTPO) negli altri due gruppi. Di conseguenza, la quarta categoria (AbTPO-/AbTg-) aveva la frequenza minima nel gruppo A e la frequenza massima nel gruppo B ($P < 0.0001$), con frequenze intermedie negli altri due gruppi. La distribuzione degli Ab nel gruppo E mimava quella del gruppo A.

Abbiamo anche provato a quantificare i tassi di positività anticorpale e di categorizzazione degli Ab sulla base del sottogruppo di appartenenza delle donne che hanno sviluppato la PPT (**Tab. III; Figura 2**). In considerazione del relativamente basso numero di donne con PPT, soprattutto all'interno del gruppo B ($n = 4$), le differenze non erano statisticamente significative. Tuttavia, il trend è quello di una positività di AbTPO circa 2.5 volte maggiore indipendentemente da AbTg (68% *vs* 25%) e di una positività di AbTPO + AbTg (9.1% *vs* 0%) nel gruppo A rispetto al gruppo B.

Figura 2. Frequenza di positività, nel primo trimestre di gestazione, per AbTPO, AbTg e tiroidite evidenziata all'ecografia, nelle donne sottospecificate, e stratificate in gruppi in base al consumo di pesce.



In tutte le donne di ciascun gruppo
(A, n= 92; B, n= 85; C, n= 108; D, n=117; E, n= 10)



Nelle donne di ciascun gruppo che ebbero PPT
(A, n= 22; B, n= 4; C, n= 17; D, n=16; E, n= 4)

Tabella III. Tassi, al primo trimestre di gravidanza, di positività per gli anticorpi anti-tiroide (AbTg, AbTPO) e di tiroidite ecografica, in donne che hanno sviluppato PPT stratificate in base al tipo di pesce consumato.

| | Gruppi sulla base del pesce consumato | | | | No pesce E (n= 4) | Intera coorte Tutte (n= 63) |
|---------------------------|---------------------------------------|-------------|---------------|---------------|-------------------------|-----------------------------------|
| | A (n= 22) | B (n= 4) | C (n= 17) | D (n= 16) | | |
| GRAVIDANZA | | | | | | |
| Stato Ab | | | | | | |
| AbTPO+, indipend. da AbTg | 15 (68.2%) | 1 (25%) | 11 (64.7%) | 9 (56.3%) | 3 (75%) | 39 (61.9%) |
| AbTPO-, indipend. da AbTg | 7 (31.8%) | 3 (75%) | 6 (35.3%) | 7 (43.7%) | 1 (25%) | 24 (38.1%) |
| | P= 0.26 (test esatto di Fisher) | | | | | |
| | Df= 3, $\chi^2= 2.91$, P= 0.406 | | | | | |
| | | | | | | |
| AbTg+, indipend. da AbTPO | 6 (27.3%) | 2 (50%) | 3 (17.6%) | 4 (25%) | 3 (75%) | 18 (28.6%) |
| AbTg-, indipend. da AbTPO | 16 (72.7%) | 2 (50%) | 14 (82.3%) | 12 (75%) | 1 (25%) | 45 (71.4%) |
| | P= 0.56 (test esatto di Fisher) | | | | | |
| | Df= 3, $\chi^2= 1.86$, P= 0.60 | | | | | |
| | | | | | | |
| AbTPO+ & AbTg+ | 2 (9.1%) | 0 | 2 (11.8%) | 3 (18.8%) | 1 (25%) | 8 (12.7%) |
| AbTPO+ & AbTg- | 13 (59.1%) | 1 (25%) | 9 (52.9%) | 6 (37.5%) | 2 (50%) | 31 (49.2%) |
| AbTPO- & AbTg+ | 4 (18.2%) | 2 (50%) | 1 (5.9%) | 1 (6.2%) | 1 (25%) | 9 (14.3%) |
| AbTPO- & AbTg- | 3 (13.6%) | 1 (25%) | 5 (29.4%) | 6 (37.5%) | 0 | 15 (23.8%) |
| | Df= 3, $\chi^2= 2.86$, P= 0.41 | | | | | |
| | Df= 9, $\chi^2= 10.53$, P= 0.31 | | | | | |
| | | | | | | |
| Ecografia tiroidea | | | | | | |
| Tiroidite ecografica | 18 (81.8%) | 4 (100%) | 14 (82.4%) | 13 (81.2%) | 3 (75%) | 52 (82.5%) |

3.3.4c.2 Tassi di tiroidite all'ecografia tiroidea (UST)

La tiroidite rilevata ecograficamente era riscontrata nei diversi gruppi con lo stesso *pattern* descritto precedentemente per gli Ab tiroidei (**Fig. 2**), con un'iper-rappresentazione nel gruppo A (44.6%), una sotto-rappresentazione nel gruppo B (29.4%), e una rappresentazione intermedia negli altri due gruppi (**Tab. II**).

Avrebbe potuto essere interessante quantificare la frequenza di tiroidite nel sottogruppo delle donne che hanno sviluppato la PPT, mantenendo la stratificazione sulla base del pesce consumato (**Tab. III**). Tuttavia, il relativamente basso numero di donne nei quattro gruppi, specialmente nel gruppo A (n=4) e gli alti tassi di tiroidite presenti nei gruppi (80% o superiore) precludono il raggiungimento di una significatività statistica (**Fig. 2**).

3.3.5 DISCUSSIONE

Come riportato nella sezione Risultati, i dati di questo studio sono in accordo con quelli riportati in una coorte più piccola di pazienti (n= 242) [89]. Trascurando le consumatrici di carne ma non di pesce (gruppo E), abbiamo mostrato che il più alto tasso di positività degli Ab tiroidei presente nel primo trimestre di gravidanza nelle donne che consumano solo o preferenzialmente pesce spada (gruppo A) si traduce nel più alto tasso di successiva comparsa di PPT, mentre il tasso più basso di positività gestazionale degli Ab tiroidei presente nelle donne che non

consumano pesce spada ma consumano esclusivamente o preferenzialmente pesce azzurro (gruppo B) si traduce nel più basso tasso di successiva comparsa di PPT. In particolare, un tasso di positività di AbTPO di 4.6 e 5.9 volte maggiore nel gruppo A rispetto al gruppo B corrisponde a un tasso di 5.1 volte maggiore di PPT nel gruppo A rispetto al gruppo B. Inoltre, era atteso un tasso di PPT particolarmente alto anche nel gruppo di non consumatrici di pesce (gruppo E). Questa attesa è stata confermata, essendo il tasso di PPT nel gruppo E più alto rispetto al gruppo A.

Abbiamo anche riscontrato un tasso 5.4 volte maggiore di PH nel gruppo A rispetto al gruppo B. Le donne del gruppo A che svilupparono PPT avevano la stessa probabilità di evolvere in PH rispetto alle donne del gruppo B o degli altri gruppi. Tuttavia, a causa dello scarso numero di donne con PPT nel gruppo B (n=4), questo dato necessita di ulteriori conferme.

Riguardo il contenuto di PUFA (acido docosaesaenoico [DHA] e acido eicosapentaenoico [EPA], avevamo trovato [89] che l'assunzione mediana mensile di DHA+EPA era massima nel gruppo B (12.7 g), in misura significativamente maggiore ($P < 0.001$) rispetto agli altri tre gruppi di consumatrici di pesce (A= 6.3, C= 5.7, D= 4.1). Invece, per quanto riguarda il Se (anch'esso avente azione protettiva), l'assunzione stimata mediana mensile (495 μg) era massima nel gruppo A con valori di 411 μg nel gruppo B ($P = 0.06$ vs A), 361 μg nel gruppo C ($P < 0.01$ vs A o B), e 342 μg nel gruppo D ($P < 0.001$ vs A o B)

[89]. Poichè un'aumentata assunzione di iodio può scatenare un'autoimmunità tiroidea, si potrebbe attribuire la maggiore o minore frequenza di PPT a un'aumentata ingestione rispettivamente di pesce ricco o povero in iodio. Tuttavia, non è questo il caso, poichè pesce spada, acciughe e sardine hanno un contenuto in iodio simile tra loro (24-29 mcg iodio/100 grammi) [99], e poiché i gruppi di donne non differivano per la frequenza di pesce consumato [vedi **Tab. I**]. Infine, l'ingestione stimata media mensile di mercurio (agente immunotossico), era notevolmente differente nel gruppo A rispetto al gruppo B (1063 vs 25 µg, $P < 0.001$), con valori di 251 µg nel gruppo C ($P < 0.001$ vs gruppi A e B), e 30 µg nel gruppo D ($P < 0.001$ vs A, non significativo vs B) [89]. L'inquinamento ambientale è sempre più ampiamente considerato come un fattore esogeno capace di scatenare l'autoimmunità tiroidea, anche all'interno della nostra area geografica [27,100,101].

Il nostro studio ha almeno i seguenti punti di forza: [a] l'arruolamento di una coorte omogenea di donne, [b] le stabili abitudini alimentari, [c] il largo consumo di pesce spada nel nostro territorio (essendo lo stretto di Messina una delle maggiori aree di deposizione di uova del pesce spada), ma anche di altri tipi di pesce, così consentendo la stratificazione in gruppi di comparabile dimensione campionaria.

Limitazioni del nostro studio riguardano la possibile difficoltà ad essere replicato in altri paesi, e per ragioni obiettive. Infatti, il consumo domiciliare di pesce locale, fresco, selvaggio,

acquistato principalmente in mercati all'aperto e consumato non-fritto nel contesto della dieta mediterranea (caratteristiche del nostro studio), contrasta con il consumo di pesce di acquacultura, importato, surgelato, precotto, spesso fritto nel contesto di una dieta non salutare (verosimili caratteristiche di successivi altri studi in altre nazioni).

L' FDA Americana e l'Agenzia per la Protezione dell' Ambiente consigliano alle donne in gravidanza e ai bambini (i) di evitare l'assunzione di grandi pesci per il potenziale elevato contenuto di mercurio (ad esempio squalo, pesce spada, sgombero, o tile gibboso proveniente dal Golfo del Messico), e (ii) mangiare circa 227–340 g, (due pasti medi) a settimana di pesce e molluschi poveri in mercurio (es. salmone, gamberetto, merluzzo, tonno in scatola, tilapia, pesce gatto e baccalà) [102]. In base alla protezione fornita dal pesce azzurro, un'altra limitazione del nostro studio è rappresentata dal basso numero di donne che hanno sviluppato PPT in questo sottogruppo di consumatrici di pesce, il che preclude conclusioni definitive sull'effetto protettivo del pesce azzurro riguardo l'evoluzione di PPT in PH. Tuttavia, il numero di donne nella coorte totale (n= 412) non è piccolo, e rientra nel range compreso tra 120 e 4384 (mediana 571) riportata negli studi precedenti sulla PPT in 14 paesi [28]. A tal proposito, i differenti studi condotti nel mondo hanno riportato un ampio range di prevalenza della PPT (da 1 al 22%), talvolta all'interno dello stesso paese. Quindi, in base a questo nostro studio, è lecito avanzare il sospetto che le coorti di

gravide arruolate abbiano poi avuto diverse prevalenze di PPT perché possono differire per le abitudini alimentari, in particolare per il diverso tipo di pesce consumato e per la frequenza di non consumatrici di pesce nell'intera coorte.

Concludendo, lo stabile consumo di pesce ricco in omega-3 e scarsamente contaminato, iniziato anni prima della gravidanza e continuato durante la gestazione e il postpartum, protegge dallo sviluppo di PPT. Il valore di questo effetto protettivo emerge anche quando sono consumati sia pesce azzurro che pesce spada, in quanto il pesce azzurro attenua il rischio di PPT conferito dal consumo di pesce spada. Comunque, il rischio di PPT è massimo nelle donne che non consumano alcun tipo di pesce, a favore del consumo di carne. La protezione dalla PPT conferita da un regolare consumo di pesce azzurro, si riflette in un basso tasso di tiroidite autoimmune sia dal punto di vista umorale che ecografico, ossia anticorpi tiroidei ed evidenza ecografica di tiroidite.

Sulla base dei risultati del presente studio, la PPT dovrebbe essere aggiunta alla lista delle patologie autoimmuni che possono essere prevenute o migliorate grazie al consumo di pesce (o alla supplementazione con olio di pesce/PUFA) e favorite invece dal non consumo di pesce o da un elevato consumo di carne. Quindi, è possibile un corretto approccio alimentare ai disordini autoimmunitari tiroidei, favorendo il consumo di pesce azzurro, pesce che peraltro apporta benefici aggiuntivi sugli outcomes gestazionali e neonatali rispetto a quelli correlati

all'autoimmunità [79]. Per chi non gradisse il pesce, potrebbe essere proponibile (ma da verificare con studio *ad hoc*) l'approccio nutraceutico con supplementazione a base di omega-3. Peraltro, il beneficio di altri nutraceutici in alcuni disordini tiroidei, autoimmuni e non, è già stato riportato in letteratura [72,74,103-105].

4.0 CONCLUSIONI

Gli studi condotti hanno mostrato la presenza di una relativa elevata prevalenza di PPT nell'area dello stretto di Messina, pari al 15.3%. Abbiamo confermato l'importante ruolo predittivo della positività sierica per AbTPO, ma abbiamo mostrato il maggior valore dell'abbinare il dosaggio degli AbTPO a quello degli AbTg. Pertanto, uno screening basato sull'impiego del dosaggio di entrambi gli Ab (rispetto al classico impiego dei soli AbTPO) fornisce dei vantaggi in termini di predittività della patologia. Inoltre, l'abbassamento della soglia di positività anticorpale tanto per gli AbTg quanto per gli AbTPO (da >101 U/ml a ≥ 61 U/ml, usando kits che - come i nostri- hanno intervalli di riferimento tra 0 e 100 U/ml), consente di identificare un maggior numero di casi di PPT (ed anche di PH) rispetto alla strategia classica di impiego di una soglia di positività ≥ 101 U/ml. Ed ancora, segni ecografici di tiroidite (UST) presenti nel primo trimestre di gravidanza conferiscono un significativo rischio per PPT (OR= 13.2) rispetto alla loro assenza.

Anche l'impiego degli AbOT, quando riservato ad una tipologia di gravide, può avere un importante ruolo predittivo. Circa una gravida su 20, residente nella nostra area geografica, presenta una positività per AbOT, la quale è maggiore nelle donne aventi "triplice positività", cioè positività per AbTPO, per AbTg e per UST. Infatti, anche trascurando l'effettuazione dell'ecografia tiroidea, aggiungere la condizione di "positività per AbOT" alla

suddetta condizione di positività sia per AbTg che per AbTPO (a prescindere dalla soglia di positività, >60 oppure >100 U/ml), significa rischio del 100% di sviluppo della PPT e rischio del 90% di sua evoluzione in PH [Come scritto nei Risultati dello studio n. 2, il 100% (9/9) delle donne AbTg+/AbTPO+/AbOT+ sviluppava PPT, e il 90% di queste evolveva in PH]. Pertanto, il dosaggio di AbOT, impiegato selettivamente nelle donne con positività per AbTg e/o AbTPO, potrebbe essere utile nell'individuare le donne che hanno il massimo rischio di sviluppare PPT e PH.

Abbiamo, inoltre, confermato i dati recentemente riportati in letteratura che mostrano che, nell'intera coorte di donne, circa la metà delle donne con PPT va incontro a PH.

Infine, abbiamo dimostrato come lo stabile consumo di pesce azzurro sia associato ad una relativamente bassa frequenza sia di positività di Ab antitiroide sia di comparsa di PPT, esercitando dunque un effetto protettivo su quest'ultima. Viceversa, uno stabile consumo di pesce spada è associato, ad una relativamente alta frequenza sia di positività di Ab antitiroide sia di comparsa di PPT. Pertanto, la PPT dovrebbe essere aggiunta alla lista delle patologie autoimmuni che possono beneficiare (prevenzione o miglioramento) di un approccio dietetico (o di supplementazione con PUFA).

5.0 BIBLIOGRAFIA

1. Rivkees SA, Mandel SJ. Thyroid disease in pregnancy. *Horm Res Paediatr.* 2011;76 Suppl 1:91-6.
2. De Leo S, Pearce EN. Autoimmune thyroid disease during pregnancy. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018;6:575-586.
3. Moleti M, Trimarchi F, Vermiglio F. Thyroid physiology in pregnancy. *Endocr Pract.* 2014;20:589-96.
4. Springer D, Jiskra J, Limanova Z, Zima T, Potlukova E. Thyroid in pregnancy: From physiology to screening. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2017;54:102-116.
5. Di Bari F, Granese R, Le Donne M, Vita R, Benvenga S. Autoimmune Abnormalities of Postpartum Thyroid Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:166.
6. Goldman MH, Sfedu E, Aboul-Hosn H, Nutt R. Addison's disease presenting in the postpartum state. *J Med Soc N J.* 1983;80:1030-1.
7. McGill IG. Addison's disease presenting as a crisis in the puerperium. *Br Med J.* 1971;2:566.
8. Peschel G. Addison's disease in the puerperium. *Z Gesamte Inn Med.* 1955;10:810-4.
9. Takasu N, Nakayama Y. A patient with postpartum hypopituitarism (Sheehan's syndrome) developed postpartum autoimmune thyroiditis (transient thyrotoxicosis and hypothyroidism): A case report and review of the literature. *J Thyroid Res.* 2011;2011:413026.
10. De Bellis A, Colella C, Bellastella G, Lucci E, Sinisi AA, Bizzarro A, et al. Late primary autoimmune

hypothyroidism in a patient with postdelivery autoimmune hypopituitarism associated with antibodies to growth hormone and prolactin-secreting cells. *Thyroid*. 2013; 23:1037-41.

11. Manetti L, Parkes AB, Lupi I, Di Cianni G, Bogazzi F, Albertini S, et al. Serum pituitary antibodies in normal pregnancy and in patients with postpartum thyroiditis: a nested case-control study. *Eur J Endocrinol*. 2008; 159:805-9.
12. Landek-Salgado MA, Gutenberg A, Lupi I, Kimura H, Mariotti S, Rose NR, et al. Pregnancy, postpartum autoimmune thyroiditis, and autoimmune hypophysitis: intimate relationships. *Autoimmun Rev*. 2010;9:153-7.
13. Argatska A, Nonchev B, Orbetzova M, Pehlivanov B. Postpartum thyroid dysfunction in women with autoimmune thyroiditis. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32:379-82.
14. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:489-99.
15. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A, Fallahi P. Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmun Rev*. 2015;14:174-80.
16. Nguyen CT, Sasso EB, Barton L, Mestman JH. Graves' hyperthyroidism in pregnancy: a clinical review. *Clin Diabetes Endocrinol*. 2018 Mar 1;4:4.
17. Kuijpers JL, De Hann-Meulman M, Vader HL, Pop VJ, Wiersinga WM, Drexhage HA. Cell-mediated immunity

and postpartum thyroid dysfunction: a possibility for the prediction of disease? *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1959-66.

18. Guleria I, Sayegh MH. Maternal acceptance of the fetus: true human tolerance. *J Immunol.* 2007;178:3345-51.
19. Groer ME, Jevitt C, Ji M. Immune Changes and Dysphoric Moods Across the Postpartum. *American Journal of Reproductive Immunology.* 2015; 73:193-8.
20. Chiovato L, Lapi P, Fiore E, Tonacchera M, Pinchera A. Thyroid autoimmunity and female gender. *J Endocrinol Invest.* 1993;16:384-91.
21. Arck P, Hansen PJ, Mulac Jericevic B, Piccinni MP, Szekeres-Bartho J. Progesterone during pregnancy: endocrine-immune cross talk in mammalian species and the role of stress. *Am J Reprod Immunol.* 2007;58:268-79.
22. Weetman AP. Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat Rev Endocrinol.* 2010;6:311-8.
23. Watanabe M, Iwatani Y, Kaneda T, Hidaka Y, Mitsuda N, Morimoto Y, et al. Changes in T, B, and NK lymphocyte subsets during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 1997;37:368-77.
24. Amin S, Peterson EJ, Reed AM, Mueller DL. Pregnancy and rheumatoid arthritis: insights into the immunology of fetal tolerance and control of autoimmunity. *Curr Rheumatol Rep.* 2011;13:449-55.
25. Østensen M, Sicher P, Förger F, Villiger PM. Activation markers of peripheral blood mononuclear cells in late

- pregnancy and after delivery: a pilot study. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:318-20.
26. Vita R, Lapa D, Vita G, Trimarchi F, Benvenga S. A patient with stress-related onset and exacerbations of Graves disease. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2009;5:55-61.
27. Guarneri F, Benvenga S. Environmental factors and genetic background that interact to cause autoimmune thyroid disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2007;14:398-409.
28. Stagnaro-Green A. Approach to the patient with postpartum thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:334-42.
29. Filippi U, Brizzolara R, Venuti D, Cesarone A, Maritati VA, Podestà M, et al. Prevalence of post-partum thyroiditis in Liguria (Italy): an observational study. *J Endocrinol Invest.* 2008;31:1063-8.
30. Roti E, Bianconi L, Gardini E, Minelli R, De Franco ML, Bacchi Modena A, et al. Postpartum thyroid dysfunction in an Italian population residing in an area of mild iodine deficiency. *J Endocrinol Invest.* 1991;14:669-74.
31. Stagnaro-Green A, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Negro R. High rate of persistent hypothyroidism in a large-scale prospective study of postpartum thyroiditis in southern Italy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:652-7.
32. Lervang HH, Pryds O, Ostergaard Kristensen HP. Thyroid dysfunction after delivery: incidence and clinical course, *Acta Med Scand.* 1987;222:369-374.

33. Feld-Rasmussen U, Høier-Madsen M, Rasmussen NG, Hegedus L, Hornnes P. Anti-thyroid peroxidase antibodies during pregnancy and postpartum: relation to postpartum thyroiditis. *Autoimmunity*. 1990;6:211-4.
34. Bech K, Hertel J, Rasmussen NG, Hegedus L, Hornnes PJ, Feldt-Rasmussen U, et al. Effect of maternal thyroid autoantibodies and post-partum thyroiditis on the fetus and neonate. *Acta. Endocrinol. (Copenh)*. 1991;125:146-9.
35. Freeman R, Rosen H, Thyssen B. Incidence of thyroid dysfunction in an unselected postpartum population, *Arch. Intern Med*. 1986;146:1361-4.
36. Nikolai TF, Turney SL, Roberts RC. Postpartum lymphocytic thyroiditis: prevalence, clinical course, and long-term follow-up. *Arch Intern Med*. 1987;147:221-4.
37. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH, el-Harazy E, Wallenstein S, Davies TF. A prospective study of lymphocyte-initiated immunosuppression in normal pregnancy: evidence of a T-cell etiology for postpartum thyroid dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;74:645-53.
38. Kuijpers JL, Pop VJ, Vader HL, Drexhage HA, Wiersinga WM. Prediction of postpartum thyroid dysfunction: can it be improved? *Eur J Endocrinol*. 1998;139:36-43.
39. Pop VJ, de Rooy HA, Vader HL, van der Heide D, van Son MM, Komproe IH. Microsomal antibodies during gestation in relation to postpartum thyroid dysfunction and depression. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1993;129:26-30.
40. Fung HY, Kologlu M, Collison K, John R, Richards CJ, Hall R, et al. Postpartum thyroid dysfunction in Mid Glamorgan. *Br Med J. (Clin Res Ed)*. 1988;296: 241-4.

41. Bech K, Hertel J, Rasmussen NG, Hegedus L, Hornnes PJ, Feldt-Rasmussen U, et al. Effect of maternal thyroid autoantibodies and post-partum thyroiditis on the fetus and neonate. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1991;125:146-9.
42. Freeman R, Rosen H, Thyssen B. Incidence of thyroid dysfunction in an unselected postpartum population. *Arch Intern Med*. 1986;146:1361-4.
43. Kita M, Goulis DG, Avramides A. Post-partum thyroiditis in a Mediterranean population: a prospective study of a large cohort of thyroid antibody positive women at the time of delivery. *J Endocrinol Invest*. 2002;25:513-9.
44. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, Chen H, Dosiou C, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid*. 2017;27:315-89.
45. Stagnaro-Green A, Akhter E, Yim C, Davies TF, Magder L, Petri M. Thyroid disease in pregnant women with systemic lupus erythematosus: increased preterm delivery. *Lupus*. 2011;20:690-9.
46. Elefsiniotis IS, Vezali E, Pantazis KD, Saroglou G. Post-partum thyroiditis in women with chronic viral hepatitis. *J Clin Virol*. 2008;41:318-9.
47. Jalkanen A, Saraste M, Gfeller A, Surcel HM, Airas L. Increased thyroid autoimmunity among women with multiple sclerosis in the postpartum setting. *Mult Scler*. 2013;19:1734-42.
48. Bech K, Høier-Madsen M, Feldt-Rasmussen U, Jensen BM, Mølsted-Pedersen L, Kuhl C. Thyroid function and

autoimmune manifestations in insulin-dependent diabetes mellitus during and after pregnancy. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1991;124:534-9.

49. Gallas PR, Stolk RP, Bakker K, Endert E, Wiersinga WM. Thyroid dysfunction during pregnancy and in the first postpartum year in women with diabetes mellitus type 1. *Eur J Endocrinol*. 2002;147:443-51.
50. Alvarez-Marfany M, Roman SH, Drexler AJ, Robertson C, Stagnaro-Green A. Long-term prospective study of postpartum thyroid dysfunction in women with insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79:10-6.
51. Triggiani V, Ciampolillo A, Guastamacchia E, Licchelli B, Fanelli M, Resta F, et al. Prospective study of post-partum thyroid immune dysfunctions in type 1 diabetic women and in a healthy control group living in a mild iodine deficient area. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2004; 26:215-24.
52. Maleki N, Tavosi Z. Evaluation of thyroid dysfunction and autoimmunity in gestational diabetes mellitus and its relationship with postpartum thyroiditis. *Diabet Med*. 2015;32:206-12.
53. Galanti MR, Cnattingius S, Granath F, Ekbom-Schnell A, Ekbom A. Smoking and environmental iodine as risk factors for thyroiditis among parous women. *Eur J Epidemiol*. 2007;22:467-72.
54. Lazarus JH, Ammari F, Oretti R, Parkes AB, Richards CJ, Harris B. Clinical aspects of recurrent postpartum thyroiditis. *Br J Gen Pract*. 1997;47:305-8.

55. Muller AF, Drexhage HA, Berghout A. Postpartum thyroiditis and autoimmune thyroiditis in women of childbearing age: recent insights and consequences for antenatal and postnatal care. *Endocr Rev.* 2001;22:605-30.
56. Parkes AB, Darke C, Othman S, Thomas M, Young N, Richards CJ, et al. Major histocompatibility complex class II and complement polymorphisms in postpartum thyroiditis. *Eur J Endocrinol.* 1996;134:449-53.
57. Mizukami Y, Michigishi T, Nonomura A, Hashimoto T, Nakamura S, Tonami N, et al. Postpartum thyroiditis. A clinical, histologic, and immunopathologic study of 15 cases. *Am J Clin Pathol.* 1993;100:200-5.
58. Pearce EN. Thyroid disorders during pregnancy and postpartum. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015;29:700-6.
59. Hurtado-Hernández Z, Segura-Domínguez A. [Postpartum thyroiditis. A review]. *Semergen.* 2013;39:272-8.
60. Lazarus JH. Clinical manifestations of postpartum thyroid disease. *Thyroid.* 1999;9:685-9.
61. Le Donne M, Settineri S, Benvenga S. Early postpartum alexithymia and risk for depression: relationship with serum thyrotropin, free thyroid hormones and thyroid autoantibodies. *Psychoneuroendocrinology.* 2012;37:519-33.
62. Samuels MH. Subacute, silent, and postpartum thyroiditis. *Med Clin North Am.* 2012;96:223-33.
63. Ide A, Amino N, Kang S, Yoshioka W, Kudo T, Nishihara E, et al. Differentiation of postpartum Graves' thyrotoxicosis from postpartum destructive thyrotoxicosis

using antithyrotropin receptor antibodies and thyroid blood flow. *Thyroid*. 2014;24:1027-31.

64. Benvenga S, Burek CL, Talor M, Rose NR, Trimarchi F. Heterogeneity of the thyroglobulin epitopes associated with circulating thyroid hormone autoantibodies in Hashimoto's thyroiditis and non-autoimmune thyroid diseases. *J Endocrinol Invest*. 2002;25:977-82.
65. Jansson R, Forberg R. Influence of endogenous T3-autoantibodies on thyroid hormone measurements in a woman with transient postpartum thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 1985;8:253-6.
66. Teti C, Nazzari E, Galletti MR, Mandolino MG, Pupo F, Pesce G, et al. Unexpected Elevated Free Thyroid Hormones in Pregnancy. *Thyroid*. 2016;26:1640-4.
67. John R, Othman S, Parkes AB, Lazarus JH, Hall R. Interference in thyroid-function tests in postpartum thyroiditis. *Clin Chem*. 1991;37:1397-400.
68. John R, Henley R, Shankland D. Concentrations of free thyroxin and free triiodothyronine in serum of patients with thyroxin- and triiodothyronine-binding autoantibodies. *Clin Chem*. 1990;36:470-3.
69. Benvenga S, Pintaudi B, Vita R, Di Vieste G, Di Benedetto A. Serum thyroid hormone autoantibodies in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100:1870-8.
70. Kämpe O, Jansson R, Karlsson FA. Effects of L-thyroxine and iodide on the development of autoimmune postpartum thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;70:1014-8.

71. Nøhr SB, Jørgensen A, Pedersen KM, Laurberg P. Postpartum thyroid dysfunction in pregnant thyroid peroxidase antibody-positive women living in an area with mild to moderate iodine deficiency: is iodine supplementation safe? *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3191-8.
72. Duntas LH, Benvenga S. Selenium: an element for life. *Endocrine.* 2015;48:756-75.
73. Wu Q, Rayman MP, Lv H, Schomburg L, Cui B, Gao C, et al. Low population selenium status is associated with increased prevalence of thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:4037-47.
74. Negro R, Greco G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D, Hassan H. The influence of selenium supplementation on postpartum thyroid status in pregnant women with thyroid peroxidase autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1263-8.
75. Mao J, Pop VJ, Bath SC et al. Effect of low-dose selenium on thyroid autoimmunity and thyroid function in UK pregnant women with mild-to-moderate iodine deficiency. *Eur J Nutr.* 2016;55:55-61.
76. Krysiak R, Kowalcze K, Okopien B. The effect of vitamin D on thyroid autoimmunity in non-lactating women with postpartum thyroiditis. *Eur J Clin Nutr.* 2016;70:637-9.
77. Breese McCoy SJ. Coincidence of remission of postpartum Graves' disease and use of omega-3 fatty acid supplements. *Thyroid Res.* 2011;4:16.
78. Benvenga S, Vigo MT, Metro D, Granese R, Vita R, Le Donne M. Type of fish consumed and thyroid

autoimmunity in pregnancy and postpartum. *Endocrine*. 2016;52:120-9.

79. Le Donne M, Alibrandi A, Vita R, Zanghì D, Triolo O, Benvenga S. Does eating oily fish improve gestational and neonatal outcomes? Findings from a Sicilian study. *Women Birth*. 2016;29:e50-7.
80. Barca MF, Knobel M, Tomimori E, Cardia MS, Medeiros-Neto G. Prevalence and characteristics of postpartum thyroid dysfunction in São Paulo, Brazil. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;53:21-31.
81. Stagnaro-Green A, Abalovich E, Alexander F, Azizi J, Mestman R, Negro A, et al.; American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum, Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. 2011;21:1081-1125.
82. Benvenga S, Trimarchi F. Increasing frequency and clinical significance of thyroid hormone autoantibodies. *Curr Opin Endocrinol Diab*. 2004;11:209-13.
83. Vita R, Santaguida MG, Virili C, Segni M, Galletti M, Mandolfino M, et al. Serum thyroid hormone antibodies are frequent in patients with polyglandular autoimmune syndrome type 3, particularly in those who require thyroxine treatment. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:212.
84. Colucci R, Lotti F, Dragoni F, Arunachalam M, Lotti T, Benvenga S, et al. High prevalence of circulating autoantibodies against thyroid hormones in vitiligo and

correlation with clinical and historical parameters of patients. *Br J Dermatol.* 2014;171:786-98.

85. Benvenga S, Bartolone L, Squadrito S, Trimarchi F. Thyroid hormone autoantibodies elicited by diagnostic fine needle biopsy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:4217-23.
86. Benvenga S, Di Bari F, Vita R, Le Donne M, Triolo O, Granese R, et al. Relatively high rate of postpartum thyroiditis in the Straits of Messina area. Predictivity of both postpartum thyroiditis and permanent hypothyroidism by performing, in the first trimester of gestation, thyroid ultrasonography and measurement of serum thyroperoxidase and thyroglobulin autoantibodies. *J Clin Transl Endocrinol* 2018;15:12-18.
87. Robinson MW, Scott DG, Bacon PA, Walton KW, Coppock JS, Scott DL. What proteins are present in polyethylene glycol precipitates from rheumatic sera? *Ann Rheum Dis.* 1989;48:496-501.
88. Benvenga S, Lapa D, Trimarchi F. Thyroxine binding to members and non-members of the serine protease inhibitor family. *J Endocrinol Invest* 2002;25:32-8.
89. Benvenga S, Vigo MT, Metro D, Granese R, Vita R, Le Donne M. Type of fish consumed and thyroid autoimmunity in pregnancy and early postpartum. *Endocrine.* 2016;52:120-9.
90. Schell LM, Gallo MV, Ravenscroft J, DeCaprio AP: Persistent organic pollutants and anti-thyroid peroxidase levels in Akwesasne Mohawk young adults. *Environ Res.* 2009;109:86-92.
91. Shapiro JA, Koepsell TD, Voigt LF, Dugowson CE, Kestin M, Nelson JL: Diet and rheumatoid arthritis in

women: a possible protective effect of fish consumption. *Epidemiology*. 1996;7:256-63.

92. Pestka JJ, Vines LL, Bates MA, He K, Langohr I. Comparative effects of n-3, n-6 and n-9 unsaturated fatty acid-rich diet consumption on lupus nephritis, autoantibody production and CD4+ T cell-related gene responses in the autoimmune NZBWF1 mouse. *PLoS One*. 2014;9:e100255.
93. Kong W, Yen JH, Ganea D. Docosahexaenoic acid prevents dendritic cell maturation, inhibits antigen-specific Th1/Th17 differentiation and suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Behav Immun*. 2011;25:872-82.
94. Stene LC, Joner G; Norwegian Childhood Diabetes Study Group. Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:1128-34.
95. Jelinek GA, Hadgkiss EJ, Weiland TJ, Pereira NG, Marck CH, van der Meer DM. Association of fish consumption and Ω 3 supplementation with quality of life, disability and disease activity in an international cohort of people with multiple sclerosis. *Int J Neurosci*. 2013;123:792-800.
96. Grant WB. The role of meat in the expression of rheumatoid arthritis. *Br J Nutr*. 2000;84:589-95.
97. Muntoni S, Mereu R, Atzori L, Mereu A, Galassi S, Corda S, et al. High meat consumption is associated with type 1 diabetes mellitus in a Sardinian case-control study. *Acta Diabetol*. 2013;50:713-9.

98. Fish: What Pregnant Women and Parents Should Know-Draft Updated Advice by FDA and EPA <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm393070.htm>. 2017. Accessed 08 July 2019
99. Salvini S, Parpinel M, Gnagnarella P, Maisonneuve P, Turrini A. Banca dati di composizione degli alimenti per studi epidemiologici in Italia. Milano, Istituto Europeo di Oncologia. <http://www.bda-ieo.it> 2015. Accessed 20 January 2019.
100. Arena S, Latina A, Baratta R, Burgio G, Gullo D, Benvenga S. Chronic lymphocytic thyroiditis: could it be influenced by a petrochemical complex? Data from a cytological study in South-Eastern Sicily. *Eur J Endocrinol.* 2015;172:383-9.
101. Benvenga S, Antonelli A, Vita R. Thyroid nodules and thyroid autoimmunity in the context of environmental pollution. *Rev Endocr Metab Disord.* 2015;16,319-40.
102. Fish: What Pregnant Women and Parents Should Know-Draft Updated Advice by FDA and EPA <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm393070.htm>. (2017) Accessed 15 February 2019.
103. Benvenga S, Amato A, Calvani M, Trimarchi F. Effects of carnitine on thyroid hormone action. *Ann NY Acad Sci.* 2004;1033:158-167.
104. Nordio M, Pajalich R. Combined treatment with Myo-inositol and selenium ensures euthyroidism in subclinical hypothyroidism patients with autoimmune thyroiditis. *J Thyroid Res.* 2013;2013:424163.

105. Benvenga S, Vicchio T, Di Bari F, Vita R, Fallahi P, Ferrari SM, et al. Favorable effects of selenomethionine, myo-inositol or their combination on the hydrogen peroxide-induced oxidative stress of peripheral mononuclear cells from patients with Hashimoto's thyroiditis: preliminary in vitro studies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(2 Suppl):89-101.