



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE D
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

TÂNIA FILIPA SANTOS CARVALHO

Efeito da tiroidite autoimune na reserva ovárica

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA DA REPRODUÇÃO

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROFESSORA DOUTORA ANA TERESA MOREIRA DE ALMEIDA SANTOS
DR.^a HELENA MARIA DA CRUZ LOPES

MARÇO/2020

EFEITO DA TIROIDITE AUTOIMUNE NA RESERVA OVÁRICA

Tânia Filipa Santos Carvalho¹; Ana Teresa Moreira de Almeida Santos²; Helena Maria da Cruz Lopes²

¹Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal

²Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Endereço para correspondência: Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Edifício de São Jerónimo, Piso 2, Praceta Professor Mota Pinto, 3000-075 Coimbra, Portugal

E-mail: anateresasantos.tas@gmail.com

Índice

Lista de abreviaturas.....	2
Resumo.....	3
Abstract.....	5
Introdução.....	6
Materiais e Métodos.....	8
Resultados.....	11
Discussão e conclusões.....	15
Agradecimentos.....	19
Referências bibliográficas.....	20

Lista de abreviaturas

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

SMR – Serviço de Medicina da Reprodução

TAI – Tiroidite Autoimune

TPO – Peroxidase

TG – Tiroglobulina

HAM – Hormona Anti-Mulleriana

AMH – Anti-Mullerian Hormone

PMA – Procriação Medicamente Assistida

ART – Assisted Reproductive Technologies

FIV – Fertilização in Vitro

ICSI – Microinjeção Intracitoplasmática de espermatozoides

DAI – Doenças Autoimunes

TSH – Thyroid Stimulating Hormone

RR – Risco Relativo

Resumo

Introdução: A Tireoidite Autoimune (TAI) é a condição autoimune mais comum nas mulheres em idade reprodutiva. Vários estudos têm reportado uma associação entre TAI e insucesso reprodutivo, mesmo na presença de eutiroidismo. Os mecanismos subjacentes permanecem ainda desconhecidos, mas admite-se que a TAI se possa associar a uma diminuição da reserva ovárica. Alguns estudos investigaram essa hipótese, mas os resultados são controversos. A TAI foi também associada a piores *outcomes* das técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA), mas também não é consensual. Pretendemos avaliar se os níveis de Hormona Anti-Mulleriana (HAM), enquanto marcador da reserva ovárica, e o número de ovócitos colhidos aquando da realização de PMA são inferiores no grupo de mulheres eutiroides com TAI e determinar assim o impacto da autoimunidade tiroideia nestes parâmetros reprodutivos.

Materiais e Métodos: Realizámos um estudo retrospectivo que incluiu 1090 mulheres que recorreram ao Serviço de Medicina da Reprodução (SMR) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), entre abril de 2012 e janeiro de 2020. O estudo foi baseado na consulta de uma base de dados anonimizada. As 870 mulheres consideradas elegíveis foram divididas em 2 grupos, de acordo com a presença ou ausência de anticorpos anti-peroxidase (TPO) e/ou anti-tiroglobulina (TG). Os níveis de HAM foram analisados e comparados entre os grupos. Das 870 mulheres, 464 tinham sido submetidas a um primeiro ciclo de PMA. Estas foram divididas em 2 grupos de acordo com o mesmo critério e o número de ovócitos colhidos foi comparado entre os grupos.

Resultados: 18,62% das mulheres da nossa amostra apresentavam anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG elevados. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas nos níveis de HAM entre o grupo com TAI e o grupo de controlo ($p=0,394$). Nas 464 mulheres que recorreram a PMA, também não houve diferenças estatisticamente significativas quanto ao número de ovócitos colhidos ($p=0,547$).

Discussão e conclusão: A TAI não parece ter impacto sobre a reserva ovárica nem sobre o número de ovócitos colhidos aquando da realização de PMA. O desenho retrospectivo do nosso estudo é uma limitação e são necessários estudos com maior número de pacientes para clarificar esta relação, bem como para avaliar a influência da TAI noutros *outcomes* de PMA e para esclarecer os mecanismos através dos quais esta doença autoimune poderá afetar a reprodução humana.

Palavras-chave: Tiroidite autoimune; Reserva ovária; Hormona Anti-Mulleriana; Procriação Medicamente Assistida; Anticorpos anti-TPO; Anticorpos anti-TG; Infertilidade

Abstract

Introduction: Autoimmune thyroiditis (TAI) is the most common autoimmune condition in women of reproductive age. Several studies have reported an association between TAI and reproductive failure, even in the presence of euthyroidism. The underlying mechanisms are still unknown, but it was suggested that TAI could be associated with a lower ovarian reserve. Some studies have been conducted to investigate this hypothesis, yet the results are controversial. TAI was also associated with poorer outcomes of the assisted reproductive technologies (ART), but the results are also heterogeneous. Therefore, we intend to assess whether the levels of Anti-Mullerian Hormone (AMH) and the number of oocytes collected in an ART cycle are lower in the group of euthyroid women with TAI and thus determine the impact of thyroid autoimmunity on these reproductive parameters.

Methods: We conducted a retrospective study that included 1090 women who resorted to the Serviço de Medicina da Reprodução (SMR) of the Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), between April 2012 and January 2020. The study used an anonymized database. The 870 women considered eligible were divided into 2 groups, according to the presence of anti-peroxidase (TPO) and/or anti-thyroglobulin (TG) antibodies. AMH levels were analyzed and compared between those groups. Of the 870 women, 464 had undergone a first ART cycle. These were divided into 2 groups according to the same criteria and the number of oocytes collected was compared between the groups.

Results: 18,62% of the women in our sample had high anti-TPO and / or anti-TG antibodies. Considering the sample of 870 women, there were no differences in the levels of AMH between the group with TAI and the control group ($p = 0,394$). Among the 464 women submitted to an ART cycle, there were also no statistically significant differences in the number of oocytes collected ($p = 0,547$).

Discussion and conclusion: TAI had no impact on the ovarian reserve or the number of oocytes collected when performing ART. However, our study has some limitations, namely its retrospective design. Future studies are needed to confirm these findings, to investigate the influence of TAI on other ART outcomes and to elucidate the mechanisms through which this autoimmune disease may affect human reproduction.

Key words: Autoimmune thyroiditis; Ovarian reserve; Anti-Mullerian Hormone; Assisted reproductive technologies; Anti-TPO antibodies; Anti-TG antibodies; Infertility

Introdução

A Tiroidite de Hashimoto ou Tiroidite Autoimune (TAI) apresenta uma prevalência de 5 a 20%, sendo a condição autoimune mais comum nas mulheres em idade reprodutiva [1]. Caracteriza-se pela presença de autoanticorpos séricos anti-peroxidase (TPO) e anti-tiroglobulina (TG), que levam à inflamação crônica e disfunção progressiva da tiroide. Essa disfunção motiva, na maioria dos casos, uma evolução para hipotiroidismo, após uma fase mais ou menos longa de eutiroidismo [2].

Um nível de hormonas tiroideias adequado é essencial para uma função reprodutiva normal na mulher, levando o hipotiroidismo a irregularidades menstruais, infertilidade e aumento da morbidade durante a gravidez. A TAI é a principal causa de hipotiroidismo, que se associa a dificuldades reprodutivas. No entanto, mesmo num estado de eutiroidismo, tem sido reconhecido que a TAI acarreta *per se* um maior risco de insucesso reprodutivo, tal como outras doenças autoimunes órgão-específicas [3].

O primeiro estudo a relacionar a TAI com problemas de fertilidade data de 1975, no qual Wilson *et al.* não encontraram diferença significativa na frequência de TAI entre mulheres inférteis com disfunção ovulatória e mulheres férteis. Porém, 21 anos depois, Roussev *et al.* verificaram uma frequência de autoanticorpos TPO e/ou TG significativamente superior no grupo de doentes com falência reprodutiva relativamente ao grupo de controlo. Posteriormente, em 1997, Geva *et al.* descreveram uma incidência de TAI 4 vezes maior em mulheres com infertilidade tubária e idiopática. Em 2003, Poppe *et al.* encontraram também uma frequência de TAI maior em mulheres inférteis do que em mulheres férteis, numa proporção de 18% vs. 8%. Apesar de nem todos os estudos apresentarem resultados concordantes, quando os dados foram agrupados obteve-se uma prevalência significativamente superior de TAI em mulheres inférteis, estimando-se um Risco Relativo (RR) de 1,95 [1,4].

Os mecanismos que explicam a diminuição da fertilidade nestas mulheres não são ainda compreendidos, tendo sido proposto que a TAI possa estar associada a uma diminuição da reserva ovárica. A reserva ovárica traduz o *pool* de folículos ováricos disponíveis para recrutamento. Um biomarcador fiável dessa reserva é a Hormona Anti-Mulleriana (HAM), uma glicoproteína produzida pelas células da camada granulosa de folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais [5]. Foram conduzidos alguns estudos no sentido de averiguar aquela hipótese, com recurso ao doseamento da HAM [6-13], contudo, os resultados mostraram-se conflituosos.

No contexto de Procriação Medicamente Assistida (PMA), foi sugerido que a positividade dos anticorpos anti-TPO e anti-TG pudesse funcionar como um marcador independente para o insucesso dessas técnicas. Geva *et al.*, em 1997, foi o primeiro a associar a presença de anticorpos anti-tiroideus com o insucesso reprodutivo após Fertilização in Vitro (FIV) [14]. Mais recentemente, uma meta-análise concluiu que a TAI não afeta o resultado da FIV nem da Microinjeção Intracitoplasmática (ICSI) em termos de número de ovócitos colhidos, de probabilidade de fertilização, de implantação e de gravidez clínica. No entanto, estes autoanticorpos tiveram um efeito prejudicial no curso da gravidez, aumentando o risco de aborto e diminuindo a probabilidade de nados-vivos [15]. Porém, outros estudos não encontram esta associação entre a TAI e as taxas de abortamento e de nados-vivos [16, 17], persistindo assim o debate acerca do efeito da autoimunidade tiroideia nos *outcomes* de PMA.

Este trabalho tem 2 objetivos principais: avaliar se a reserva ovárica das mulheres eutiroideias com anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG é inferior à do grupo de controlo e ainda avaliar o número de ovócitos colhidos nos dois grupos de mulheres que foram submetidas a técnicas de PMA no Serviço de Medicina da Reprodução (SMR) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC).

Materiais e Métodos

Procedemos à realização de um estudo retrospectivo, que se baseou na consulta de uma base de dados anonimizada, obtida através do sistema informático do Serviço de Medicina da Reprodução do CHUC.

Foram incluídas 1090 mulheres que recorreram a este serviço entre abril de 2012 e janeiro de 2020, tendo os critérios de inclusão correspondido à presença de doseamentos recentes de anticorpos anti-TPO e anti-TG e de HAM.

A informação pesquisada abrangeu os seguintes dados: idade, Índice de Massa Corporal (IMC), hábitos tabágicos, história da doença atual, antecedentes pessoais médicos e cirúrgicos, regularidade dos ciclos menstruais, hormonas androgénicas (testosterona total, androstenediona e dehidroepiandrosterona), ecografia transvaginal, valor de HAM, anticorpos anti-TPO e anti-TG, TSH e o número de ovócitos colhidos no primeiro ciclo de PMA.

Foram excluídas deste estudo mulheres com Síndrome do Ovário Poliquístico (SOP), outras Doenças Autoimunes (DAI), disfunção tiroideia (TSH <0,4 uUI/mL; TSH >4 uUI/mL), doenças oncológicas tratadas com quimio e/ou radioterapia e níveis de HAM > 7 ng/mL (figura 1). O SOP foi definido com base nos Critérios de Roterdão, que foram averiguados em cada uma das mulheres. O grupo de doentes com outras DAI encontra-se descrito na tabela 1. Desta forma, foram excluídas um total de 220 mulheres e consideradas elegíveis as restantes 870.

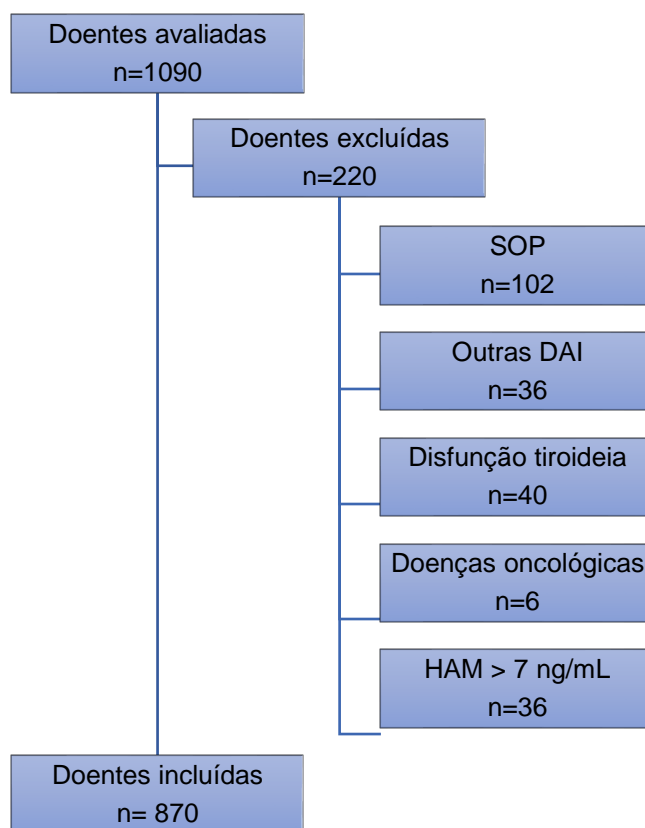


Figura 1: Fluxograma do processo de inclusão de doentes

Tabela 1: Lista das outras DAI que motivaram a exclusão de mulheres nesta população

Outras DAI encontradas na população em estudo	Nº de doentes (n=36)
Artrite Reumatóide	5
Psoríase	5
Espondilites	5
Diabetes Mellitus tipo 1	4
Doença Inflamatória Intestinal	4
Doença de Graves	3
Doença de Addison	2
Síndrome Anti-fosfolipídico	2
Síndrome de Sjogren	1
Síndrome de Behçet	1
Doença Celíaca	1
Lúpus Dérmico	1
Lúpus Eritematoso Sistémico	1
Doença autoimune reumatológica não especificada	1

As 870 mulheres foram divididas em 2 grupos: doentes com anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG acima do valor de referência e doentes com anticorpos abaixo desse nível (grupo de controlo).

O primeiro objetivo deste estudo foi comparar a reserva ovária entre o grupo de mulheres com valor positivo para os anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG e o grupo de controlo, tendo a reserva ovária sido determinada através do doseamento da HAM.

Como segundo objetivo, pretendemos comparar o número de ovócitos colhidos nessas mulheres durante a realização do primeiro ciclo de PMA (464 das 870 iniciais foram submetidas a técnicas de PMA), independentemente do protocolo de estimulação ovária aplicado a cada caso.

Todas as análises foram efetuadas pelo laboratório de hormonologia do CHUC, cujos valores de referência são 0,4 – 4,0 uUI/mL para a TSH, <40 UI/ml para o anticorpo anti-TPO e <40 UI/ml para o anticorpo anti-TG. Os doseamentos da TSH e dos anticorpos foram realizados através de imunoenaios de eletroquimioluminescência da Afinity Abbott ® e o doseamento de HAM através de ensaios imunoenzimáticos da Immunotech SAS ®.

A análise estatística dos resultados foi feita através do IBM® SPSS® 26.0 para Windows®. A população foi globalmente descrita segundo as suas características, sendo as variáveis contínuas apresentadas como média ± desvio padrão e as variáveis categóricas como percentagens. A normalidade das variáveis foi averiguada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e as comparações de dados contínuos foram realizadas com o teste t de Student para categorias independentes. O teste qui-quadrado foi aplicado para comparar os dados categóricos. Considerou-se o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Resultados

A população estudada incluiu 1090 mulheres, das quais 870 foram elegíveis para o presente estudo. Destas, 162 mulheres tinham anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG acima do valor de referência (18,62%) e 708 anticorpos abaixo do valor de referência (81,38%). Os dados relativos à idade, IMC e TSH encontram-se descritos na tabela II e o consumo tabágico na tabela III.

A média das idades foi de $34,88 \pm 3,95$ anos (18 a 44 anos). Em relação ao IMC, existiam dados apenas para 855 mulheres, tendo sido calculada uma média de $24,16 \pm 4,62$ kg / m² (15,22 a 43,71 kg / m²). Relativamente aos valores de TSH, a média corresponde a $1,58 \pm 0,74$ uUI / mL (0,40 a 3,96 uUI / mL). Quanto ao consumo tabágico, 203 mulheres (23,33%) são fumadoras e 667 (76,67%) são não fumadoras.

Não se encontrou diferença estatisticamente significativa na idade ($35,20 \pm 4,07$ anos vs. $34,80 \pm 3,92$ anos, $p=0,251$) nem no IMC ($24,09 \pm 4,81$ kg / m² vs. $24,18 \pm 4,58$ kg / m², $p=0,832$) entre o grupo com anti-TPO e/ou anti-TG e o grupo de controlo. Houve uma diferença significativa entre os dois grupos para o valor de TSH ($1,93 \pm 0,88$ uUI / mL vs. $1,50 \pm 0,68$ uUI / mL, $p<0,001$) e para o consumo tabágico (17,30% vs. 24,70%, $p=0,044$) (tabela IV).

Tabela II: Características da população em estudo – idade, IMC e TSH

	Nº de doentes	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Idade	870	34,88	35,50	3,95	18	44
IMC	855	24,16	22,95	4,62	15,22	43,71
TSH	870	1,58	1,40	0,74	0,40	3,96

A idade encontra-se expressa em anos, o IMC em kg / m² e a TSH em uUI / mL.

Tabela III: Características da população em estudo – consumo tabágico

	Grupo com tiroidite	Grupo de controlo	Total
Não fumadoras	134	533	667 (76,67%)
Fumadoras	28	175	203 (23,33%)
Total	162 (18,62%)	708 (81,38%)	870 (100%)

Os valores apresentados correspondem ao número absoluto de mulheres.

Tabela IV: Comparação das características das 870 mulheres em estudo entre o grupo com tireoide autoimune e o grupo de controlo

	Grupo com tiroidite	Grupo de controlo	P
Idade (anos)	35,20 ± 4,07	34,80 ± 3,92	0,251
IMC (kg / m²)	24,09 ± 4,81	24,18 ± 4,58	0,832
TSH (uUI / mL)	1,93 ± 0,88	1,50 ± 0,68	<0,001
Hábitos tabágicos	17,30%	24,70%	0,044

Os valores são apresentados como média ± desvio-padrão ou em percentagem.

O primeiro objetivo deste trabalho foi comparar o nível de HAM entre os 2 grupos em estudo. Os resultados não mostraram uma diferença estatisticamente significativa entre os valores de HAM no grupo de mulheres com anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG e no grupo de controlo (1,90 ± 1,44 UI / ml vs. 2,01 ± 1,52 UI / ml, p=0,394), confirmando assim que a presença destes anticorpos não tem influência sobre os níveis de HAM (tabela VIII). O valor médio de HAM foi de 2,00 UI / ml, a mediana de 1,60 e o desvio-padrão de 1,51. Os valores mínimos e máximos foram, respetivamente 0,01 e 7,00 UI / ml.

O segundo objetivo consistiu em determinar se a presença de anticorpos influencia o número de ovócitos colhidos aquando da realização de PMA. Do total das 870 mulheres estudadas, 464 (53,33%) efetuaram um primeiro ciclo de PMA, das quais 75 (16,16%) tinham anticorpos presentes e 389 (84,84%) não. A idade, IMC, TSH e HAM encontram-se descritos na tabela V e o consumo tabágico na tabela VI.

A média das idades foi 34,55 anos ± 3,63 anos (22 a 39 anos). Em relação ao IMC, existiam dados apenas para 457 mulheres, tendo sido calculada uma média de 23,74 ± 4,37 kg / m² (15,22 a 43,44 kg / m²). Relativamente aos valores de TSH, a média corresponde a 1,61 ± 0,76 uUI / mL (0,40 a 3,96 uUI / mL). O valor médio de HAM foi de 2,16 ± 1,52 UI / ml (0,01 a 7,00 UI / ml). Quanto ao consumo tabágico, 113 mulheres (24,35%) são fumadoras e 351 (75,65%) são não fumadoras.

As características das mulheres em ambos os grupos foram comparáveis em termos de idade, IMC e HAM, sendo significativamente diferentes quanto aos níveis de TSH. A proporção de mulheres que fumava é idêntica nos 2 grupos de mulheres que recorreram a técnicas de PMA (tabela VII).

O número de ovócitos colhidos foi em média 7,60, com uma mediana de 6,00 e um desvio padrão de 4,42. O valor mínimo e o máximo foram, respetivamente, 0 e 31. Não se observou diferença estatisticamente significativa (7,95 ± 5,98 vs. 7,53 ± 5,30, p=0,547) no

número de ovócitos colhidos entre o grupo com valores de anticorpos elevados e o grupo de controlo (tabela VIII).

Tabela V: Características das 464 mulheres submetidas a PMA - Idade, IMC, TSH e HAM

	Nº de doentes	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Idade	464	34,55	35,00	3,63	22	39
IMC	457	23,74	22,51	4,37	15,22	43,44
TSH	464	1,61	1,50	0,76	0,40	3,96
HAM	464	2,16	1,80	1,52	0,10	7,00

A idade encontra-se expressa em anos, o IMC em kg / m², a TSH em uUI / mL e a HAM em UI / ml.

Tabela VI: Características das 464 mulheres submetidas a PMA - Consumo tabágico

	Grupo com tiroidite	Grupo de controlo	Total
Não fumadoras	61	290	351 (75,65%)
Fumadoras	14	99	113 (24,35%)
Total	75 (16,16%)	389 (83,84%)	464 (100%)

Os valores apresentados correspondem ao número absoluto de mulheres.

Tabela VII: Comparação das características das mulheres submetidas a PMA entre o grupo com tiroide autoimune e o grupo de controlo

	Grupo com tiroidite	Grupo de controlo	P
Idade (anos)	34,71 ± 3,56	34,52 ± 3,65	0,679
IMC (kg / m²)	23,40 ± 4,42	23,80 ± 4,36	0,470
TSH (uUI / mL)	2,01 ± 0,93	1,53 ± 0,70	<0,001
HAM (UI / ml)	2,16 ± 1,47	2,16 ± 1,53	0,999
Hábitos tabágicos	18,67%	25,45%	0,210

Os valores são apresentados como média ± desvio-padrão ou em percentagem.

Tabela VIII: Comparação dos níveis de HAM e do número de ovócitos colhidos em contexto de PMA entre o grupo com tiroidite autoimune e o grupo de controlo

	HAM		Número de ovócitos	
	Grupo com tiroidite	Grupo de controlo	Grupo com tiroidite	Grupo de controlo
Número de doentes	162	708	75	389
Média ± Desvio padrão	1,90 ± 1,44	2,01 ± 1,52	7,95 ± 5,98	7,53 ± 5,30
P	0,394		0,547	

A HAM encontra-se expressa em UI / ml e o número de ovócitos em valor absoluto.

Discussão e conclusões

A TAI é a doença autoimune mais frequente nas mulheres em idade reprodutiva [1]. Estima-se uma prevalência de 5 a 20%, sendo que, na nossa amostra, os anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG estavam presentes em 18,62% das mulheres.

Tem sido reconhecido que, mesmo num estado eutiroideu, a presença de anticorpos anti-tiroideus afeta a fertilidade feminina, assim como a evolução da gravidez. Os mecanismos não são ainda conhecidos, mas pensa-se que os anticorpos anti-TPO e anti-TG atravessem a barreira hematofolicular durante a maturação dos ovócitos, gerando um ambiente citotóxico que prejudica o seu desenvolvimento [18]. Outra hipótese é a de que a TAI se associa a uma imunidade anormal, traduzida por alterações do perfil de células T endometriais e alterações no perfil de secreção de citocinas que interferem com o processo de gravidez, justificando assim a menor fertilidade observada neste grupo de mulheres [1]. Alguns autores também propuseram que o défice de vitamina D associado às doenças autoimunes em geral pudesse interferir na fertilidade e gravidez das mulheres com TAI. Foi ainda apontado um outro mecanismo, que se baseia no facto da autoimunidade tiroideia se poder associar a uma menor capacidade da glândula em se adaptar a situações que envolvam aumento de estrogénios, tais como a hiperestimulação ovárica e a gravidez, dificultando assim esses processos [1,4].

Visto que a infertilidade pode afetar até 10% dos casais e as técnicas de PMA são cada vez mais o tratamento para estas situações [19], é importante determinar que fatores podem afetar a fertilidade dos casais e os *outcomes* de PMA. Deste modo, apesar dos mecanismos ainda não serem claros, é pertinente investigar se a TAI poderá representar um deles.

Um ponto forte do nosso estudo foi a definição criteriosa das doentes a excluir. Em primeiro lugar, excluámos todas as doentes com valores de TSH acima e abaixo dos limites de referência para eliminar, respetivamente, a influência de um hipo ou de um hipertiroidismo nos resultados. Estes desequilíbrios de hormonas tiroideias, tal como é conhecido, têm consequências a nível reprodutivo, devendo a sua interferência ser eliminada quando se pretende avaliar somente o efeito da autoimunidade. De seguida, verificámos os antecedentes pessoais médicos e cirúrgicos de cada mulher, de modo a identificar aquelas com outras DAI ou história de neoplasias quimio e/ou radiotratadas que pudessem enviesar a nossa análise. Examinámos também cada doente quanto ao cumprimento dos critérios de Roterdão, o que constitui uma vantagem relativamente a alguns outros estudos que excluem apenas as mulheres com ciclos irregulares, sem examinar os demais parâmetros que definem o SOP. De facto, séries recentes apontam no sentido da existência de uma maior prevalência de TAI

em doentes com SOP [20, 21], pelo que este síndrome é um fator importante a determinar e a excluir quando se pretende avaliar somente a influência da TAI na reprodução. Excluimos também doentes com valores de HAM > 7 ng/mL, visto serem, segundo Seifer *et al.* [22], valores anormalmente elevados e poderem assim corresponder a SOP's não identificados pelos critérios anteriormente mencionados. Não excluimos as doentes com tiroidite que se encontravam a fazer medicação com levotiroxina nem as doentes com história de cirurgia ovárica prévia por quistos, endometriomas ou outros motivos, o que constitui uma limitação ao nosso estudo.

Na nossa amostra, a idade e o IMC eram comparáveis entre o grupo com tiroidite e o grupo de controlo, não constituindo assim uma fonte de viés. Os níveis de TSH, tal como seria de esperar, eram significativamente superiores no grupo com anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG. O consumo de tabaco, considerando as 870 mulheres estudadas, foi significativamente superior no grupo de controlo, mas o p (0,044) é pouco inferior ao limiar de significância ($p < 0,05$). Quando consideradas as 464 mulheres que recorreram a técnicas de PMA, o p relativo ao consumo de tabaco deixou de ser estatisticamente significativo (0,21). Nesse conjunto de mulheres, os níveis de HAM são semelhantes entre os dois grupos, não constituindo assim um fator confundente quando comparámos o número de ovócitos colhidos.

A associação entre tiroidite autoimune e níveis de reserva ovárica ainda é um tema debatido [6-13], sendo que alguns estudos demonstram uma menor reserva ovárica em mulheres com anticorpos anti-tiroideus. De acordo com os nossos resultados, não há diferença estatisticamente significativa nos níveis de HAM entre mulheres com anticorpos anti-TPO e anti-TG acima do valor de referência e mulheres com anticorpos abaixo desse valor, ou seja, não há associação entre tiroidite autoimune e níveis de reserva ovárica. Estes resultados vão ao encontro dos de dois estudos com amostras numerosas, tendo um deles comparado a frequência de anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG entre duas categorias de reserva ováricas (normal e baixa) em cerca de 6000 mulheres [6] e outro avaliado a frequência de anticorpos anti-TPO em três diferentes categorias de reserva ovárica (baixa, normal e alta) em cerca de 5000 mulheres [7]. Outros autores também obtiveram resultados semelhantes em estudos de menor dimensão [8, 9]. Porém, há estudos com amostras consideráveis que encontram valores significativamente inferiores de HAM no grupo com tiroidite em comparação com o grupo de controlo [10] ou que reportam uma maior frequência de anticorpos anti-tiroideus em mulheres com reserva ovárica baixa ou com infertilidade idiopática [11, 12]. Paradoxalmente, Tuten *et al.*, num estudo com 81 mulheres, descreveu níveis superiores de HAM no grupo com tiroidite, mas o número de participantes era pequeno [13]. Uma desvantagem ao analisar os resultados destes estudos é que as amostras de cada um foram selecionadas de acordo com diferentes critérios de inclusão, podendo alguns dos

resultados variantes advir dessas diferenças. Desta forma, depreende-se que com amostras maiores e com critérios de inclusão de doentes mais uniformes, poderá ser possível esclarecer esta associação.

Neste trabalho apenas comparámos a média \pm desvio-padrão da HAM nos 2 grupos de doentes, podendo uma investigação adicional passar por dividir as doentes segundo diferentes categorias de reserva ovárica e verificar se a frequência de TAI é semelhante entre elas.

Em relação ao número de ovócitos colhidos, não observámos na nossa amostra uma diferença significativa entre o grupo com anticorpos anti-TPO e/ou anti-TG e o grupo de controlo. Estes resultados estão em consonância com os de 2 artigos recentes [6, 23], bem como os de uma meta-análise de 12 estudos de 2016 [15].

Como perspetiva futura, seria ainda importante analisar a influência da TAI noutros parâmetros de PMA, como a taxa de fertilização, o número de embriões obtidos, a taxa de gravidez bioquímica, de gravidez clínica, de abortamentos e de nados-vivos, bem como a taxa de complicações obstétricas.

Uma outra variável que teria interesse em ser analisada é a TSH. De facto, alguns estudos têm identificado que um valor superior a 3,0 uUI/mL em mulheres eutiroideias com TAI se associa a níveis inferiores de HAM [9]. Além disso, um estudo caso-controlo identificou uma correlação negativa entre os níveis de TSH e os de HAM [24]. Todavia, outros não encontram associação entre TSH e níveis de reserva ovárica [12]. Tem sido também estudado o efeito que um valor de TSH acima ou abaixo de 2,5 uUI/mL tem no decurso da gravidez. Embora muitos autores não encontrem diferenças relativas a diversos parâmetros, como taxa de gravidez clínica, de abortamento e de nados vivos [16, 25-27], o tema permanece ainda controverso.

Com base na hipótese de que a patofisiologia da TAI passa por uma incapacidade da tiroide em se adaptar a situações que impliquem aumento de estrogénios, alguns autores recomendaram a suplementação com levotiroxina nas mulheres com TAI. Com efeito, verificaram-se incrementos menos marcados de TSH ao longo da gravidez no grupo tratado, bem como uma diminuição marcada na taxa de abortamento e de parto pré-termo [1]. Estes resultados podem sugerir que o tratamento com levotiroxina deva ser sistematicamente oferecido a todas mulheres eutiroideias com TAI que planeiem submeter-se a PMA, tendo a American Thyroid Association afirmado em 2017 que esse tratamento pode ser considerado, tendo em conta os seus potenciais benefícios em comparação com os seus mínimos riscos [28]. Um estudo identificou também um aumento dos níveis de HAM após suplementação com

levotiroxina em doentes inférteis com TAI, pelo que esta área merece uma investigação mais aprofundada [29].

Em conclusão, estudos futuros são necessários para confirmar os achados até agora reportados e elucidar acerca do papel da TAI na reprodução, bem com os mecanismos subjacentes através dos quais a função tiroideia e a autoimunidade se associam à reserva ovárica e a *outcomes* de PMA.

Enquanto o impacto da TAI e os seus mecanismos não são cabalmente esclarecidos, é importante continuar a fazer o rastreio desta patologia em mulheres inférteis, pois é a causa mais frequente de disfunção tiroideia, podendo o tratamento adequado com levotiroxina restaurar essa função, recuperar a fertilidade e até evitar a necessidade de PMA. É também importante nas mulheres com diagnóstico de TAI monitorizar os níveis de TSH ao longo da gravidez, de modo a detetar e tratar um hipotiroidismo que possa surgir.

O nosso estudo tem como principal limitação o facto de ser retrospectivo, não podendo ser excluída a presença de vieses relacionados com este modo de colheita de dados. Por conseguinte, os resultados devem ser interpretados com cautela.

Agradecimentos

À Professora Doutora Teresa e à Dr.^a Helena por terem orientado e co-orientado, respetivamente, esta tese e pelo auxílio prestado na elaboração da mesma.

À Doutora Mariana Ramos, que, por boa vontade, me concedeu uma ajuda fundamental na obtenção dos dados e respetiva análise estatística.

Aos meus pais e irmão, por todo o apoio e carinho desde sempre prestados.

Ao meu namorado e aos meus amigos.

Referências bibliográficas

1. Artini, P. G., Uccelli, A., Papini, F., Simi, G., Di Bernardino, O. M., Ruggiero, M., & Cela, V. (2013). Infertility and pregnancy loss in euthyroid women with thyroid autoimmunity. *Gynecological Endocrinology*, 29(1), 36–41.
2. Caturegli, P., De Remigis, A., & Rose, N. R. (2014). Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria. *Autoimmunity Reviews*.
3. Carp, H. J. A., Selmi, C., & Shoenfeld, Y. (2012). The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. *Journal of Autoimmunity*.
4. Krassas, G. E., Poppe, K., & Glinoe, D. (2010). Thyroid function and human reproductive health. *Endocrine Reviews*, 31(5), 702–755.
5. Verissimo, R., & Silvestre, M. (2016). Ovarian reserve markers and antral follicle count. *Acta Obstetrica e Ginecologia Portuguesa*, 10(4), 308–316.
6. Ke, H., Hu, J., Zhao, L., Ding, L., Jiao, X., & Qin, Y. (2020). Impact of Thyroid Autoimmunity on Ovarian Reserve, Pregnancy Outcomes, and Offspring Health in Euthyroid Women Following In Vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection. *Thyroid*, (157), 1–51.
7. Polyzos, N. P., Sakkas, E., Vaiarelli, A., Poppe, K., Camus, M., & Tournaye, H. (2015). Thyroid autoimmunity, hypothyroidism and ovarian reserve: a cross-sectional study of 5000 women based on age-specific AMH values. *Human Reproduction*, 30(7), 1690–1696.
8. Özalp Akın, E., & Aycan, Z. (2018). Evaluation of the Ovarian Reserve in Adolescents with Hashimoto's Thyroiditis Using Serum Anti-Müllerian Hormone Levels. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 10(4), 331–335.
9. Weghofer, A., Barad, D. H., Darmon, S., Kushnir, V. A., & Gleicher, N. (2016). What affects functional ovarian reserve, thyroid function or thyroid autoimmunity? *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 1–6.
10. Saglam, F., Onal, E. D., Ersoy, R., Koca, C., Ergin, M., Erel, O., & Cakir, B. (2015). Anti-Müllerian hormone as a marker of premature ovarian aging in autoimmune thyroid disease. *Gynecological Endocrinology*, 31(2), 165–168.
11. Chen, C.W., Huang, Y.L., Tzeng, C.R., Huang, R.L., & Chen, C.H. (2017). Idiopathic Low Ovarian Reserve Is Associated with More Frequent Positive Thyroid Peroxidase Antibodies. *Thyroid*, 27(9), 1194–1200.
12. Korevaar, T. I. M., Mínguez-Alarcón, L., Messerlian, C., De Poortere, R. A., Williams, P. L., Broeren, M. A., et al. (2018). Association of Thyroid Function and Autoimmunity with Ovarian Reserve in Women Seeking Infertility Care. *Thyroid*, 28(10), 1349–1358.
13. Tuten, A., Hatipoglu, E., Oncul, M., Imamoglu, M., Acikgoz, A. S., Yilmaz, N., et al. (2014). Evaluation of ovarian reserve in Hashimoto's thyroiditis. *Gynecological Endocrinology*,

30(10), 708–711.

14. Medenica, S., Nedeljkovic, O., Radojevic, N., Stojkovic, M., Trbojevic, B., & Pajovic, B. (2015). Thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity in euthyroid women in achieving fertility. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 19(6), 977–987.
15. Busnelli, A., Paffoni, A., Fedele, L., & Somigliana, E. (2016). The impact of thyroid autoimmunity on IVF/ICSI outcome: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 22(6), 775–790.
16. Unuane, D., Velkeniers, B., Bravenboer, B., Drakopoulos, P., Tournaye, H., Parra, J., & De Brucker, M. (2017). Impact of thyroid autoimmunity in euthyroid women on live birth rate after IUI. *Human Reproduction*, 32(4), 915–922.
17. Poppe, K., Autin, C., Veltri, F., Kleynen, P., Grabczan, L., Rozenberg, S., & Ameye, L. (2018). Thyroid Autoimmunity and Intracytoplasmic Sperm Injection Outcome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(5), 1755–1766.
18. Monteleone, P., Parrini, D., Faviana, P., Carletti, E., Casarosa, E., Uccelli, A., et al. (2011). Female Infertility Related to Thyroid Autoimmunity: The Ovarian Follicle Hypothesis. *American Journal of Reproductive Immunology*, 66(2), 108–114.
19. Santos, T., Ramos, M., Esterilidade e procriação medicamente assistida. 1st ed. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra; 2010
20. Garelli, S., Masiero, S., Plebani, M., Chen, S., Furmaniak, J., Armanini, D., & Betterle, C. (2013). High prevalence of chronic thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 169(2), 248–251.
21. Kowalczyk, K., Franik, F., Kowalczyk, D., Pluta, D., Blukacz, L., Madej, P. (2017). Thyroid disorders in polycystic ovary syndrome. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(2), 346–360.
22. Seifer, D. B., Baker, V. L., & Leader, B. (2011). Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertility and Sterility*, 95(2), 747–750.
23. Sakar, M. N., Unal, A., Atay, A. E., Zebitay, A. G., Verit, F. F., Demir, et al. (2016). Is there an effect of thyroid autoimmunity on the outcomes of assisted reproduction? *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 36(2), 213–217.
24. Kuroda, K., Uchida, T., Nagai, S., Ozaki, R., Yamaguchi, T., Sato, Y., et al. (2015). Elevated serum thyroid-stimulating hormone is associated with decreased anti-Müllerian hormone in infertile women of reproductive age. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(2), 243–247.
25. Cai, Y. Y., Zhong, L. P., Guan, J., Guo, R. J., Niu, B., Ma, Y. P., & Su, H. (2017). Outcome

- of in vitro fertilization in women with subclinical hypothyroidism. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 15(1), 2–7.
26. Plowden, T. C., Schisterman, E. F., Sjaarda, L. A., Zarek, S. M., Perkins, N. J., Silver, R., et al. (2016). Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity are not associated with fecundity, pregnancy loss, or live birth. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 101(6).
 27. Unuane, David, Velkeniers, B., Deridder, S., Bravenboer, B., Tournaye, H., & De Brucker, M. (2016). Impact of thyroid autoimmunity on cumulative delivery rates in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertility and Sterility*, 106(1), 144–150.
 28. Khachikovna, S. G., Mkrlichevich, G. A., Kharryasovna, D. L., & Alexandrovna, N. D. (2019). Does subclinical hypothyroidism and/or thyroid autoimmunity influence the IVF/ICSI outcome? Review of the literature. *Gynecological Endocrinology*, 35(sup1), 56–59.
 29. Kuroda, M., Kuroda, K., Segawa, T., Noh, J. Y., Yoshihara, A., Ito, K., et al. (2018). Levothyroxine supplementation improves serum anti-Müllerian hormone levels in infertile patients with Hashimoto's thyroiditis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 44(4), 739–746.