

**Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino - SDB**  
**U.O.C. Clinica Ginecologica e Ostetrica**  
**Scuola di Specializzazione in Ginecologia e Ostetricia**  
Direttore Prof. G. B. Nardelli

**TESI DI SPECIALIZZAZIONE:**

**L'aggiunta di LH nei protocolli di  
stimolazione ovarica aumenta la  
maturazione endometriale precoce?**

**Relatore:** Prof. Michele Gangemi

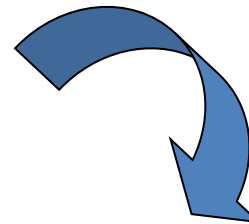
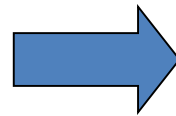
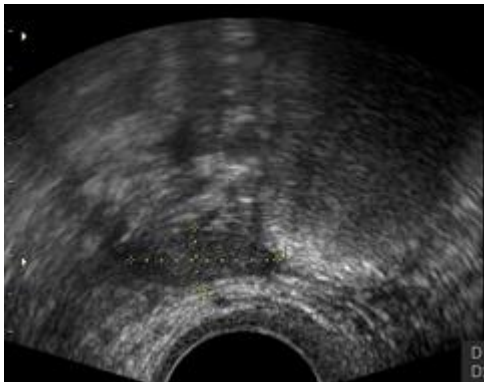
**Correlatore:** Prof. Josè Remohí

Dott.ssa Nicoletta Sianesi

# L'endometrio nell'ambito della medicina riproduttiva

Da sempre l'ovaio gode di maggiori attenzioni rispetto all'endometrio nel percorso diagnostico-terapeutico della coppia infertile....

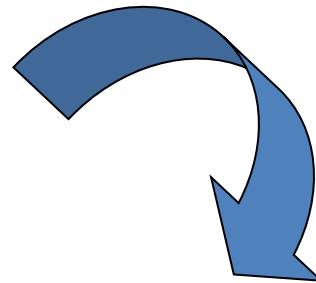
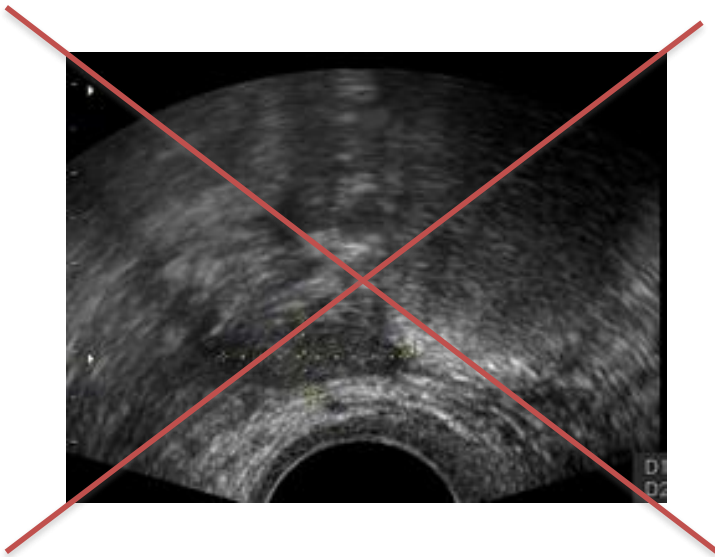
valutazione riserva ovarica



**FATTORE OVARICO**



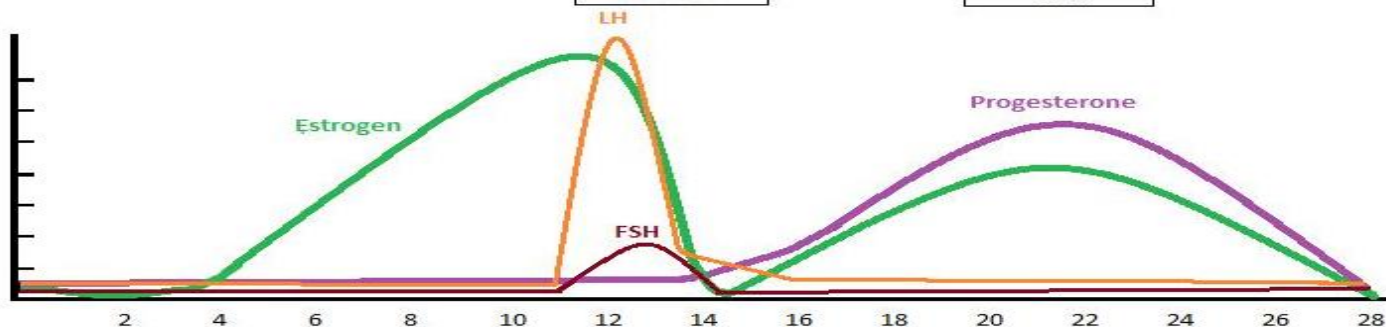
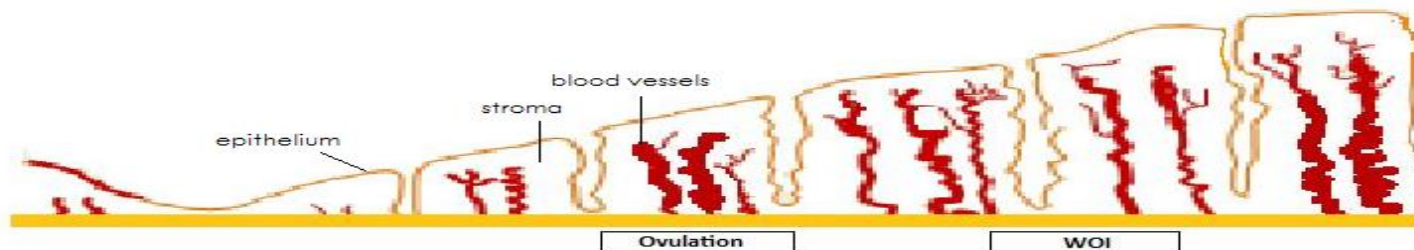
...Tuttavia è noto che un endometrio patologico/non recettivo è alla base di multipli fallimenti dell'impianto.



**FATTORE ENDOMETRIALE**



# Ciclo endometriale

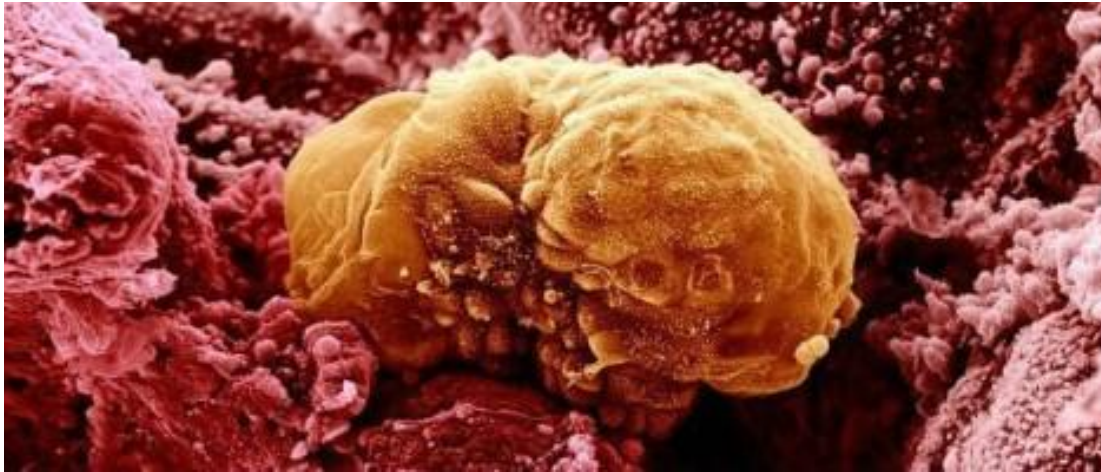


Menstrual	Proliferative	Secretory		
Desquamation	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cellular proliferation</li> <li>Cellular differentiation</li> <li>Extracellular matrix remodeling</li> <li>Angiogenesis and vasculogenesis</li> <li>DNA synthesis</li> <li>Adhesion</li> <li>Ion channels</li> </ul>	<i>Early-secretory</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>Metabolism</li> <li>Transport</li> <li>Proliferation inhibition</li> <li>Mitosis inhibition</li> </ul>	<i>Mid-secretory</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>Metabolism</li> <li>Glandular secretion</li> <li>Cell differentiation</li> <li>Cell communication</li> <li>Innate immune response</li> <li>Response to stress</li> <li>Response to wounding</li> <li>Adhesion</li> <li>Proteolysis regulation</li> </ul>	<i>Late-secretory</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>Extracellular matrix degradation</li> <li>Inflammatory response</li> <li>Apoptosis</li> </ul>

Estrogeni e progesterone sono i modulatori ormonali dominanti nel ciclo endometriale

# Impianto della blastocisti

Un importante fattore limitante il successo riproduttivo è costituito dal **successo dell'impianto** della blastocisti nell'utero:



Uno dei fattori critici per il successo dell'impianto dell'embrione è che l'endometrio sia **recettivo** per la blastocisti.

L'endometrio è un tessuto per la maggior parte del tempo **refrattario** all'impianto

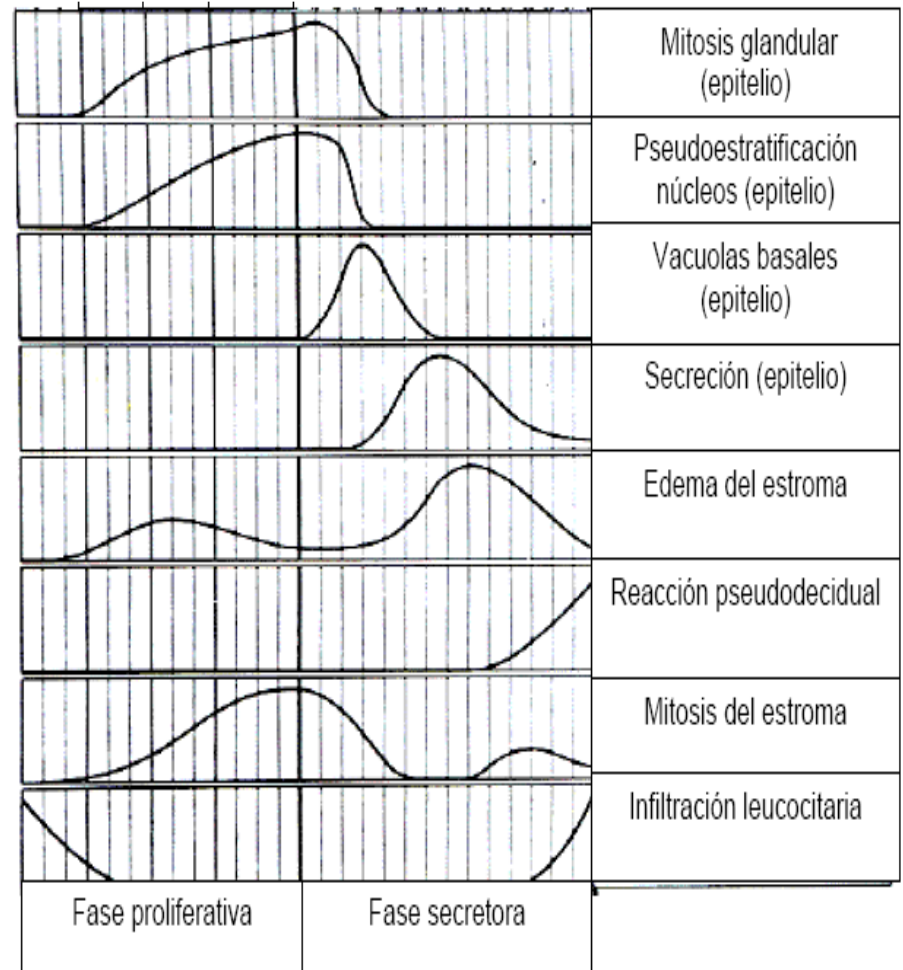
Esiste una **finestra d'impianto** endometriale cioè un periodo temporalmente limitato nel quale l'endometrio consente l'impianto della blastocisti.



Dal 19° al 24° giorno del ciclo mestruale

# Maturazione endometriale precoce (MEP)

Anticipazione di almeno 2 giorni nelle modificazioni istologiche endometriali, secondo i **Criteri di Noyes** correlate ai dati cronologici del ciclo mestruale.

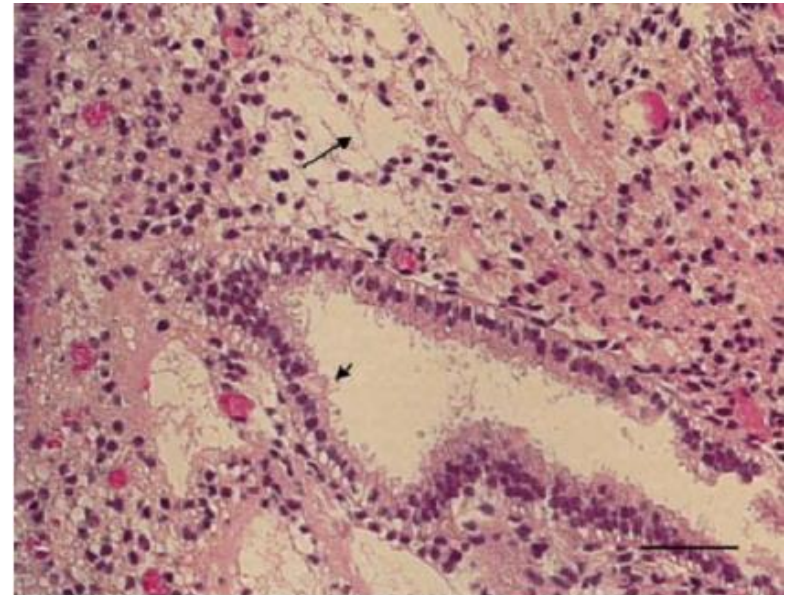


Noyes et al, 1950

# Maturazione endometriale precoce

Si può riscontrare:

- In fase proliferativa: comparsa di modificazioni secretive in anticipo di 2-4 giorni. (Lass A et al, 1998)
- In fase medio-luteale: anticipazione della maturazione endometriale con asincronia glandulo-stromale. (Basir G et al, 2001)





# Maturazione endometriale precoce e stimolazione ovarica

- ▶ Le modificazioni della maturazione endometriale sono indotte dal progesterone dopo la fase di preparazione estrogenica.
- ▶ La stimolazione ovarica può determinare una MEP per effetto degli elevati livelli di ormoni steroidei a cui viene sottoposto l'endometrio.
- ▶ La MEP, infatti, viene tradizionalmente associata ad un aumento prematuro dei livelli di progesterone in seguito ad una precoce liberazione di LH (luteinizzazione precoce)...

...Tuttavia diversi studi dimostrano che l'impatto della stimolazione ovarica sulla MEP non si correla necessariamente ad un aumento di LH o progesterone.

(Marchini M, 1991; Papanikolaou EG, 2015)



La MEP potrebbe essere correlata all'**effetto** del progesterone sull'endometrio e non necessariamente all'aumento dei suoi livelli plasmatici.



Si può riscontrare un aumento dei recettori del progesterone indotto dagli estrogeni senza una "luteinizzazione precoce" sierica.

# Maturazione endometriale precoce e gravidanza

Diversi studi riportano ripercussioni negative sulla possibilità di gravidanza quando la differenza cronologica supera i 3 giorni di maturazione.



## Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up

*Efstratios Kolibianakis, M.D., Claire Bourgain, M.D., Carola Albano, M.D.,  
Kaan Osmanagaoglu, M.D., Johan Smits, M.D., Ph.D.,  
Andre Van Steirteghem, M.D., Ph.D., and Paul Devroey, M.D., Ph.D.*

*Centre for Reproductive Medicine, Dutch-Speaking Brussels Free University, Brussels, Belgium*

**Objective:** To assess the effect of ovarian stimulation with recombinant FSH, GnRH antagonists, and hCG on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up.

**Design:** Prospective study.

**Setting:** Tertiary referral center.

**Patient(s):** Fifty-five women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF/intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

**Intervention(s):** [1] Ovarian stimulation with recombinant FSH, starting on day 2 of the cycle and GnRH antagonist, starting after a median of 6 days of recombinant FSH stimulation (range, 5–12 days); [2] hCG administration for ovulation induction; and [3] aspirational biopsy of endometrium at oocyte pick-up.

**Main Outcome Measure(s):** Endometrial histology at oocyte pick-up by Noyes criteria.

**Result(s):** Advancement of endometrial maturation ( $2.5 \pm 0.1$  days) as compared to the expected chronological date was observed in all antagonist cycles at oocyte retrieval. Endometrial advancement at oocyte pick-up increased in line with values of LH at initiation of stimulation and the duration of recombinant FSH treatment before the antagonist was started.

**Conclusion(s):** The higher the values of LH at initiation of stimulation and the longer the duration of recombinant FSH treatment before the antagonist is started, the more advanced the endometrial maturation at oocyte pick-up. (Fertil Steril® 2002;78:1025–9. ©2002 by American Society for Reproductive Medicine.)

# Maturazione endometriale precoce ed espressione genica

L'utilità dei criteri istologici nella datazione endometriale è stata ampiamente dibattuta.



Introduzione dello studio genetico dell'endometrio  
mediante

**TECNICHE DI MICROARRAY**

Possibilità di determinare se l'endometrio è recettivo all'embrione durante il periodo della finestra di impianto.

(Haouzi D, 2009; Horcajadas J, 2007)

# Maturazione endometriale precoce ed espressione genica

Human Reproduction, Vol.24, No.5 pp. 1085–1091, 2009

Advanced Access publication on January 27, 2009 doi:10.1093/humrep/den501

human  
reproduction

ORIGINAL ARTICLE *Infertility*

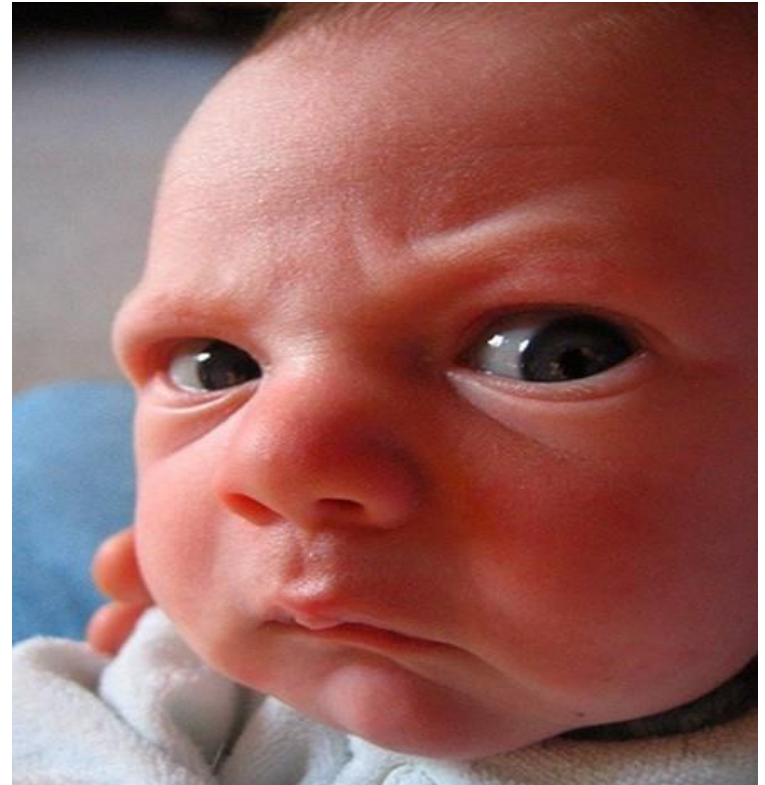
## In GnRH antagonist/rec-FSH stimulated cycles, advanced endometrial maturation on the day of oocyte retrieval correlates with altered gene expression

Inge Van Vaerenbergh<sup>1,4</sup>, Leentje Van Lommel<sup>2</sup>, Vanessa Ghislain<sup>1</sup>,  
Peter In't Veld<sup>1</sup>, Frans Schuit<sup>2</sup>, Human Mousavi Fatemi<sup>3</sup>,  
Paul Devroey<sup>3</sup>, and Claire Bourgain<sup>1</sup>

La MEP in cicli stimolati con antagonista del GnRH si correla ad un espressione genica alterata.

## Scopo dello studio

L'aggiunta di LH esogeno alla stimolazione può avere un ruolo sul fenomeno della maturazione endometriale precoce?



Comparare la presenza di MEP (analisi istologica + analisi microarray) tra due protocolli di stimolazione ovarica:

- rFSH e antagonista
- rFSH + rLH e antagonista

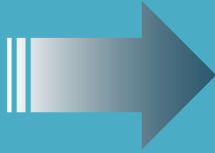
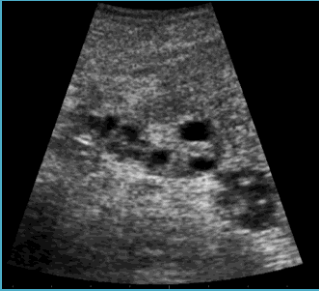
Studio prospettico nel quale sono stati analizzati 12 cicli di ovodonazione:

sei donanti di ovociti, sottoposte a due cicli di stimolazione ovarica presso il Dipartimento Donanti dell'IVI di Valencia.



# Stimolazione con FSH

MESTRUAZIONE



Ecografie seriate

Dosaggi ormonali sierici

Pick up

1

2

4

6

8

10

12

14 (hCG+ 2)

hCG+ 7

rFSH 187.5 UI/dia

hCG

Antagonista 0,25

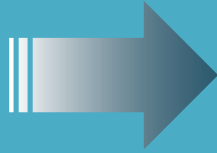
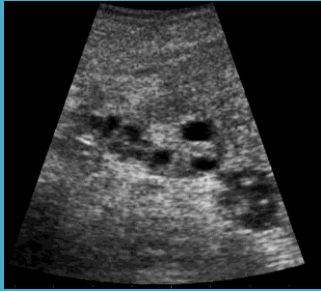
Biopsia

Biopsia

90 mg di PROGESTERONE intravaginale in gel (Crinone®)

# Stimolazione con FSH + LH

MESTRUAZIONE



Ecografie seriate

Dosaggi ormonali sierici

Pick up

1

2

4

6

8

10

12

14 (hCG+ 2)

hCG+ 7

rFSH 187.5 UI/dia

rLH 75 UI/dia

Antagonista 0,25

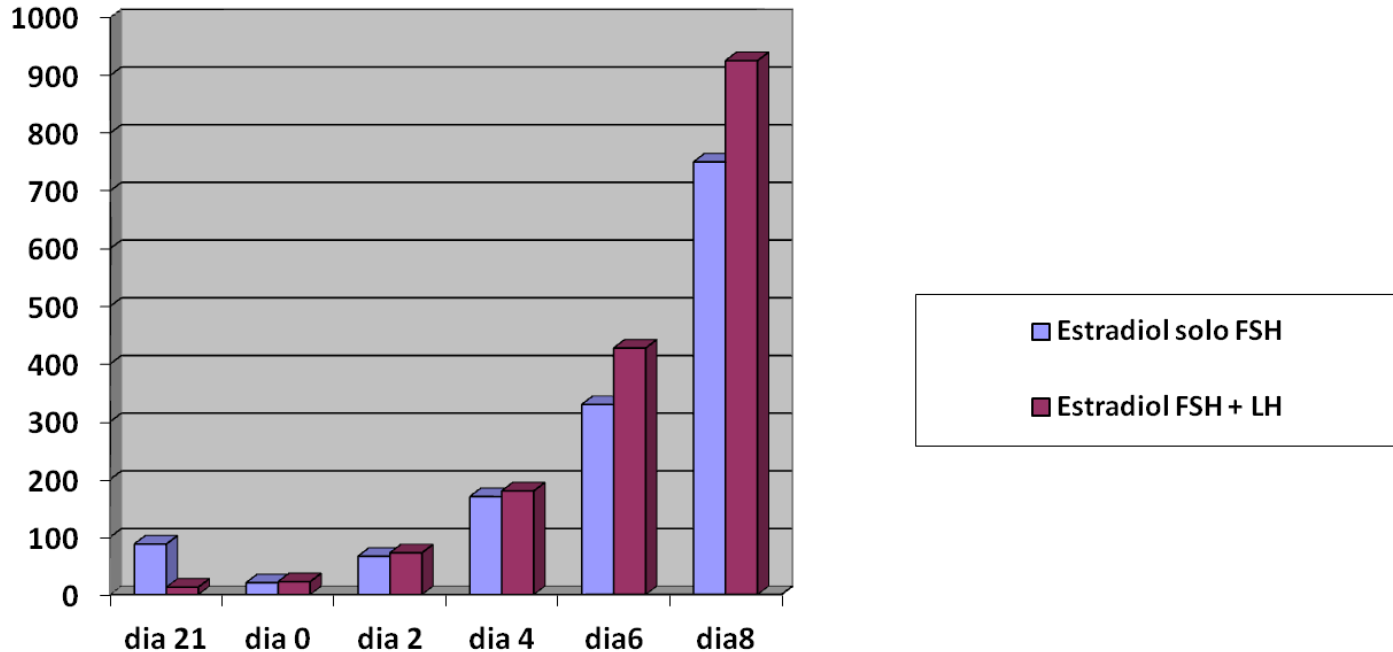
hCG

Biopsia

Biopsia

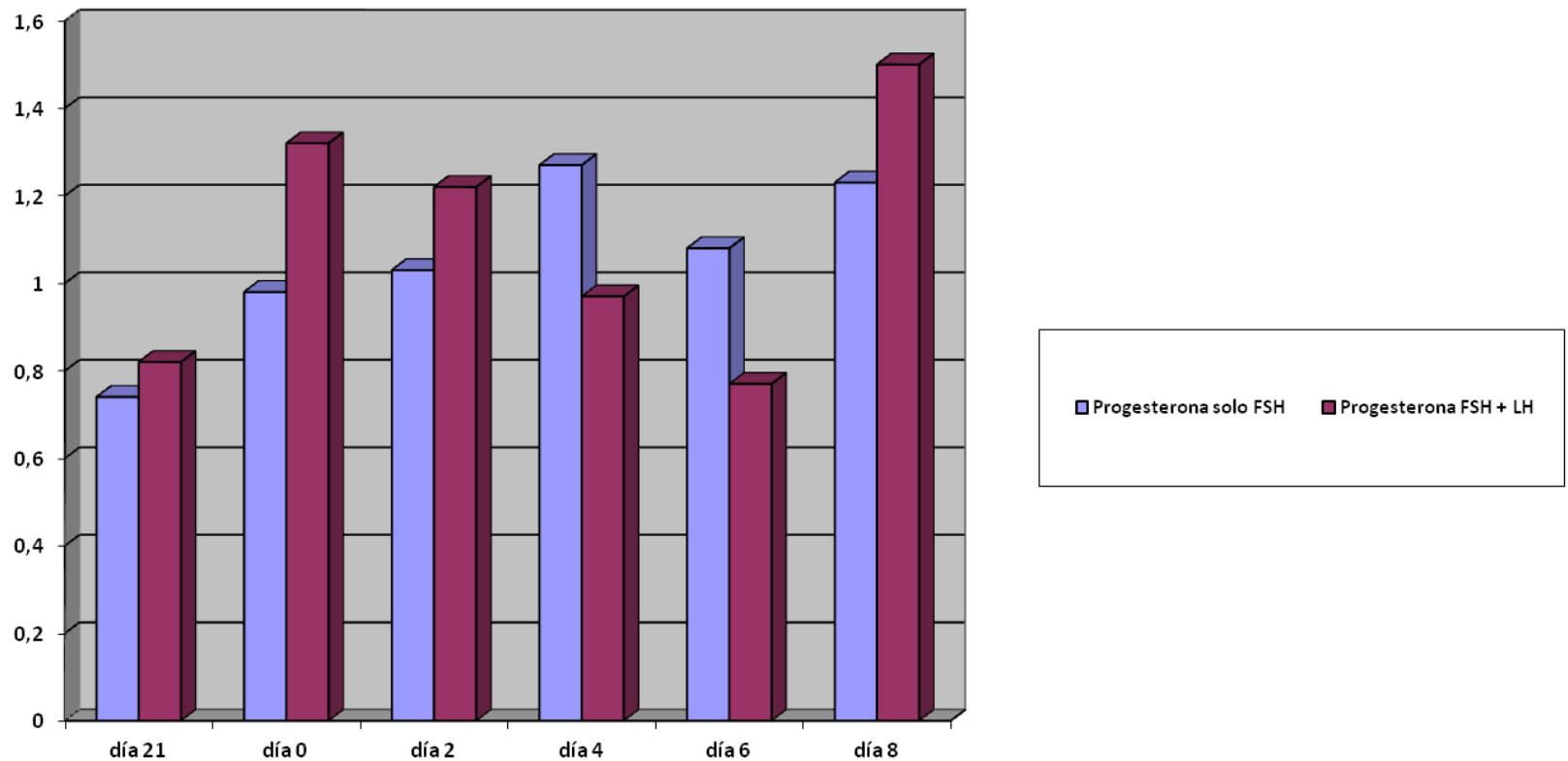
90 mg di PROGESTERONE intravaginale in gel (Crinone®)

# Livelli di Estradiolo sierico durante la stimolazione secondo protocollo

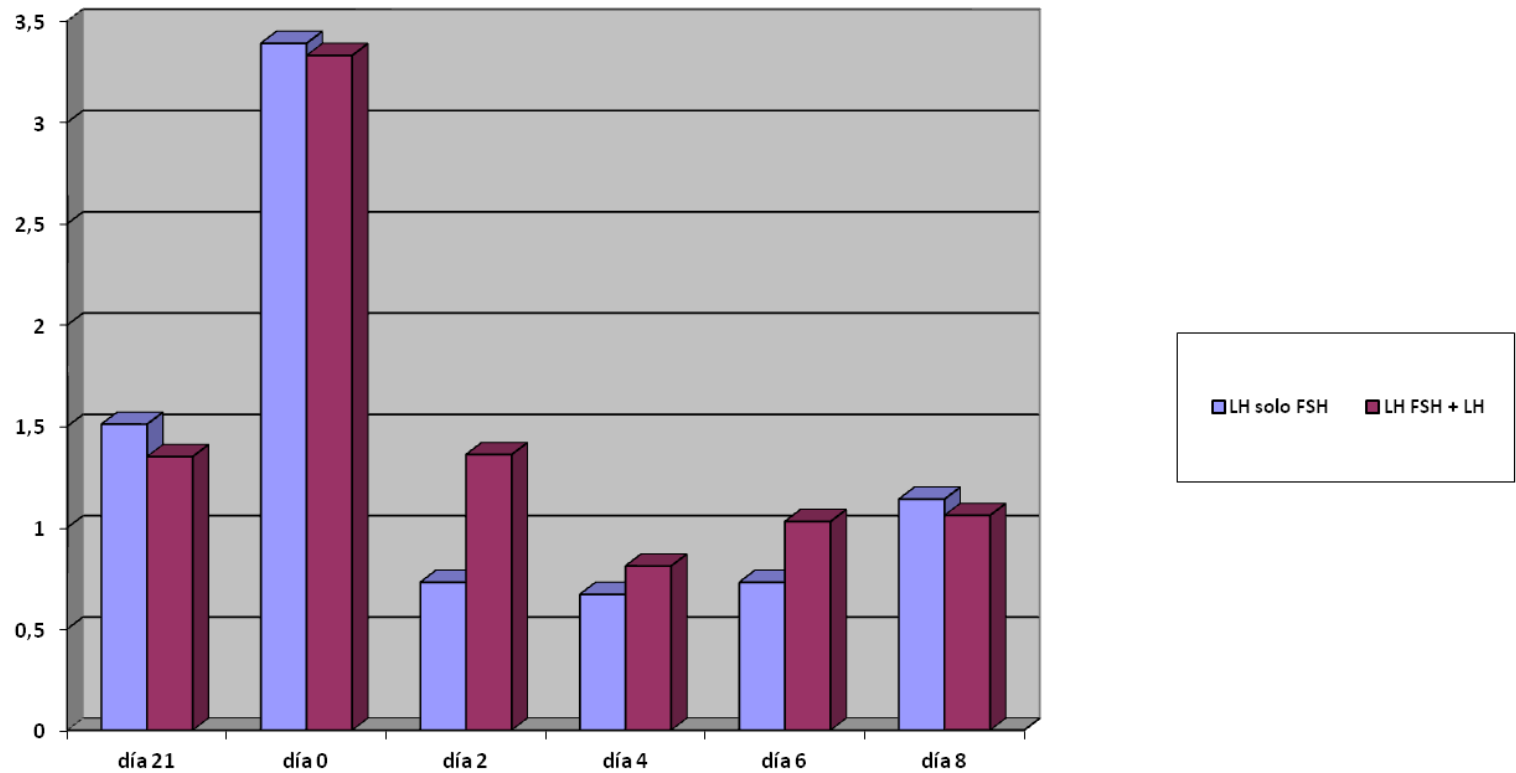


- Nessuna differenza significativa tra i livelli di E2, P4, testosterone e LH nella stimolazione con FSH e con FSH+LH nei dosaggi eseguiti ogni due giorni durante la stimolazione nè al 21<sup>o</sup> giorno del ciclo precedente.

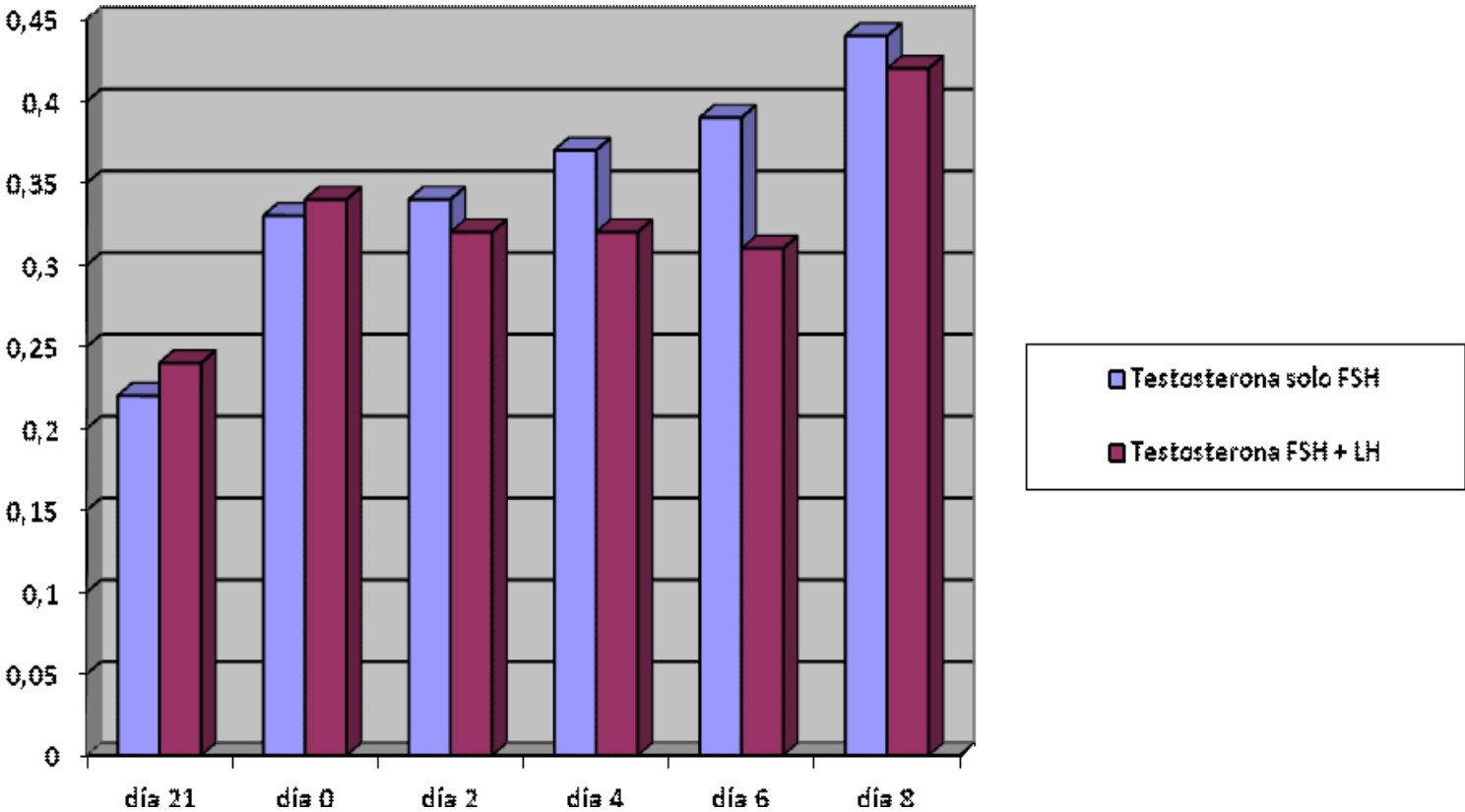
# Livelli di Progesterone sierico durante la stimolazione secondo protocollo



# Livelli di LH sierico durante la stimolazione secondo protocollo




# Livelli di Testosterone sierico durante la stimolazione secondo protocollo



# Datazione endometriale in donanti stimulate solo con FSH in giorni hCG + 2 e hCG + 7

	hCG + 2	hCG + 7
Paziente 1	18 – 19	19 – 20
Paziente 2	17 – 18	19 – 20
Paziente 3	18 – 19	20 – 21
Paziente 4	18 – 19	18 – 19
Paziente 5	18 – 19	19 – 20
Paziente 6	18 – 19	19 – 20

  
**4.3 giorni**

  
**0.5 giorni**

# Datazione endometriale in donanti stimolate solo con FSH + LH in giorni hCG + 2 e hCG + 7

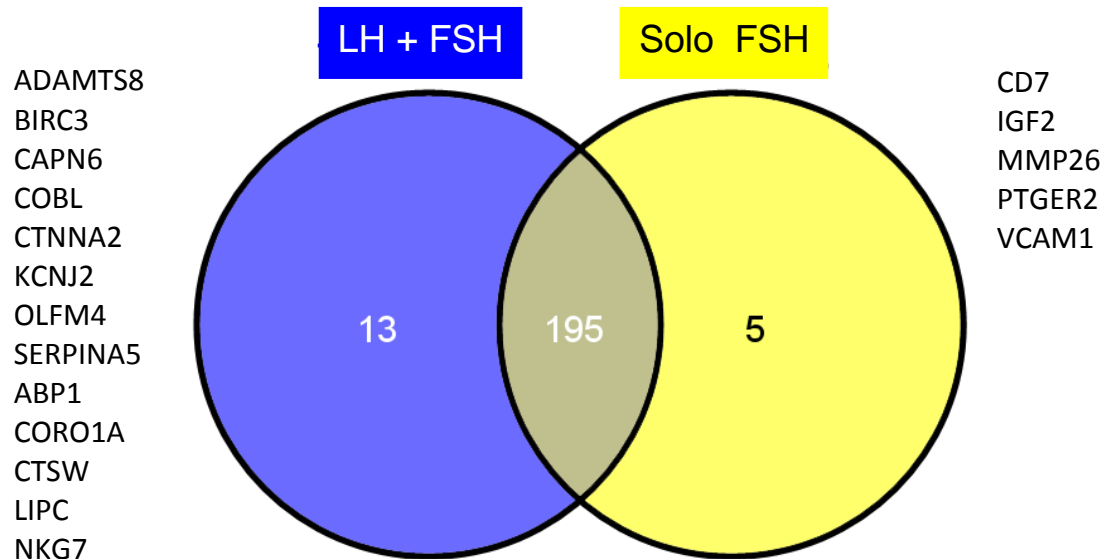
	hCG + 2	hCG + 7
Paziente 1	16 – 17	19 – 20
Paziente 2	18 – 19	18 – 19
Paziente 3	18 – 19	25 – 26
Paziente 4	18 – 19	20 – 21
Paziente 5	16 – 17	18 – 19
Paziente 6	18 – 19	20 – 21

  
**3.8 giorni**

  
**1.5 giorni**

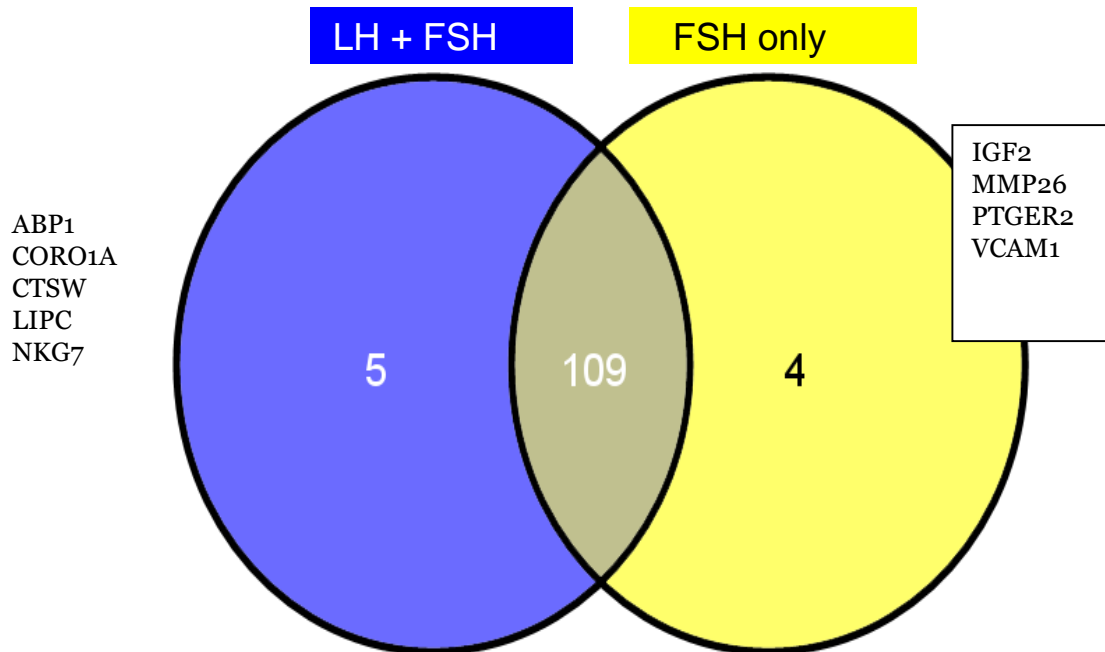


# Totale dei geni espressi nell' endometrio secondo protocollo con e senza LH

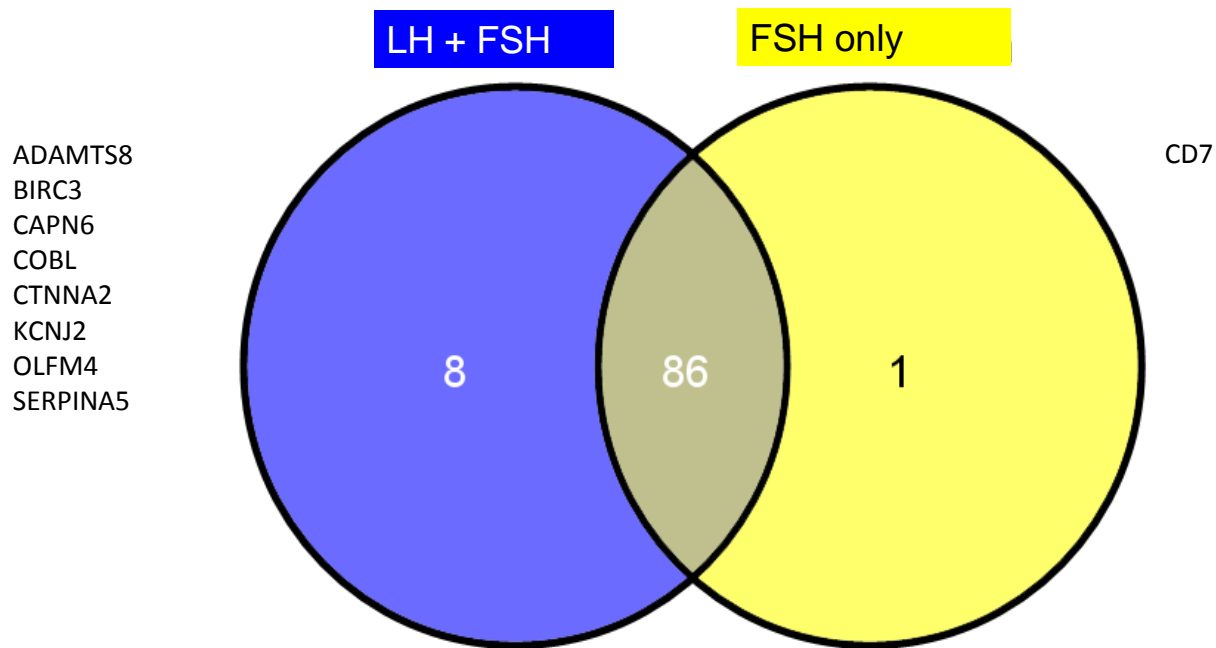


**TOTALI DEI GENI STUDIATI: 238**

# Geni endometriali sovraregolati secondo protocollo con o senza LH



# Geni endometriali sottoregolati secondo protocollo con o senza LH




- L'endometrio presenta un avanzamento della sua maturazione in tutti i cicli di stimolazione ovarica nel secondo giorno dopo la somministrazione dell'hCG e ciò non dipende dall'aggiunta di LH alla stimolazione
- La MEP sembra rappresentare una situazione transitoria nel giorno hCG +2 che tende a scomparire al giorno hCG+7 e quindi ad auto-correggersi
- L'espressione genica dell'endometrio non mostra differenze nei due protocolli di stimolazione.

# Conclusioni:



- I. Lo sviluppo endometriale è stato praticamente lo stesso in entrambe le stimolazioni.
  
- II. Non si evidenzia una differenza significativa, né istologica né genica, a livello endometriale con l'aggiunta di LH durante la stimolazione ovarica.



**“I geni non fanno previsioni né preparano progetti in anticipo: semplicemente esistono, *alcuni più di altri*, ma è tutto qui.”**

**Richard Dawkins**