UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA
Dipartimento di Scienze della Vita

Corso di Laurea Magistrale in Biotecnologie Mediche

Classe LM-9

Valutazione dell'associazione tra TSH, FT4 ed anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO) in una popolazione di laboratorio: il ruolo di AB-TPO come marcatore di disfunzione tiroidea in pazienti non selezionati.

Relatore:
Chiar.mo Prof. Enrico Tagliafico

Tesi di Laurea di:
Maria Chiara Conversano
(N.160562)

Co-relatrice:
Dott.ssa Stefania Bellanova

ANNO ACCADEMICO 2025/26

INDICE

ABSTRACT *3*

1. INTRODUZIONE *4*

1.1 LA TIROIDE **4**

1.1.1 *Asse ipotalamo-ipofisi della tiroide* 5

1.1.2 *Produzione ormoni tiroidei* 6

1.1.3 *La deiodinazione della tiroxina* 6

1.2 IPOTIROIDISMO E IPERTIROIDISMO: ALTERAZIONI TIROIDEE **7**

1.2.1 *Ipotiroidismo* 7

1.2.2 *Ipertiroidismo* 8

1.3 DIAGNOSI DELLE DISFUNZIONI TIROIDEE **8**

1.3.1 *La tireotropina (TSH)* 9

1.3.2 *La tiroxina libera (FT4)* 10

1.4 AUTOIMMUNITA' TIROIDEA (AITD) **10**

1.4.1 *Tiroidite di Hashimoto* 11

1.4.2 *AB-TPO come marcatore* 11

1.5 OBIETTIVI DELLO STUDIO **12**

2. MATERIALI E METODI *14*

2.1 *Disegno dello studio e natura dei dati* **14**

2.2 *Raccolta e preparazioni dei campioni* **14**

2.3 *Cobas® pure integrated solutions* **15**

2.4 *Cobas® e411* **16**

2.5 *Dosaggio dell'ormone tiroxina libera (T4)* **18**

2.6 *Dosaggio dell'ormone tireostimolante (TSH)* **18**

2.7 *Dosaggio degli anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO)* **19**

2.8 *Popolazione di studio e intervalli di riferimento* **19**

2.9 *Gestione dei dati censurati* **21**

2.10 *Analisi statistica* **21**

3. RISULTATI *23*

3.1 *Distribuzione del TSH nella popolazione generale* **23**

3.2 *Distribuzione degli AB-TPO e dello stato tiroideo per categoria* **24**

3.3 *Stato tiroideo per categoria di AB-TPO* **25**

3.4 *Correlazione tra AB-TPO e TSH* **27**

3.5 *Correlazione tra FT4 e TSH* **28**

3.6 *Effetto di età e sesso* **28**

4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI *29*

5. BIBLIOGRAFIA *31*

ABSTRACT

La tiroide regola processi metabolici importanti attraverso la secrezione di TSH ed ormoni tiroidei. Nella pratica diagnostica di laboratorio, la misurazione degli anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO) rappresenta il marcatore siero-immunologico principale dell'autoimmunità tiroidea. Tuttavia, il reale valore applicativo della quantificazione anticorpale rispetto al mero riscontro di positività/negatività necessita di essere approfondito nel contesto reale dei test di routine.

Il presente lavoro si configura come un'analisi osservazionale retrospettiva condotta mediante la revisione e la rielaborazione statistica di dati analitici di routine già esistenti. L'indagine non costituisce uno studio clinico sperimentale o d'intervento, ma un'analisi secondaria su dati aggregati e anonimizzati. I risultati raccolti sono stati concepiti per valutare esclusivamente l'associazione tra i valori di TSH, FT4 e AB-TPO in una popolazione reale di laboratorio, e fornire elementi utili ad una migliore gestione ed erogazione del test analitico. Assumendo come riferimento metodologico la suddivisione proposta da Ehlers et al. (2016), sono stati analizzati 661 referti raccolti in 14 mesi.

Nel sottogruppo di 138 pazienti con TSH ed AB-TPO entrambi disponibili, chi aveva un titolo di AB-TPO superiore a 100 UI/mL presentava valori di TSH più alti rispetto agli altri due gruppi (test di Kruskal-Wallis, $p = 0,027$), con una quota di ipotiroidismo del 32,7% contro il 23-27% degli altri gruppi. Il rischio relativo ($rr = 1,34$) si avvicina a quello riportato da Ehlers et al. pur trattando due popolazioni differenti. La correlazione tra AB-TPO e TSH è risultata debole, ma significativa ($r = 0,18$; $p = 0,035$); quella tra FT4 e TSH è fortemente inversa ($r = - 0,706$), a conferma della coerenza interna dei dati raccolti. Età e sesso non hanno mostrato relazioni significative con il titolo di AB-TPO, anche per la scarsa numerosità del sottogruppo con dati anagrafici completi.

Il segnale osservato in un gruppo selezionato si ritrova, quindi, anche in una popolazione di laboratorio non selezionata. Riportare nel referto il valore quantitativo di AB-TPO, e non solo la sua positività, rappresenta una strategia efficace per l'ottimizzazione della refertazione analitica e la profilazione epidemiologica delle popolazioni afferenti.

1. INTRODUZIONE

1.1 LA TIROIDE

La tiroide è una ghiandola endocrina a forma di farfalla, situata anteriormente alla trachea, al di sotto della laringe. Sebbene le sue dimensioni siano ridotte, essa è in grado di regolare processi biologici essenziali per la vita. Svolge un ruolo importante per il mantenimento dell'omeostasi metabolica, e l'alterazione della sua funzione rappresenta l'espressione clinica più frequente delle patologie autoimmuni che la interessano.

Anatomicamente, la ghiandola è costituita da due lobi laterali uniti centralmente da una sottile striscia di tessuto chiamata *istmo.* L'unità strutturale e funzionale della tiroide è il *follicolo tiroideo*: struttura sferica delimitata da un singolo strato di cellule epiteliali follicolari immersi in uno stroma connettivale riccamente vascolarizzato.

Ciascun follicolo è avvolto da una fitta rete capillare, fondamentale per il trasporto dei nutrienti e degli ormoni di regolazione alle cellule follicolari, nonché per la rimozione di prodotti di scarto e di secrezione.

Il lume follicolare contiene *la colloide*, una sostanza proteica gelatinosa racchiusa dai tireociti e composta prevalentemente da tireoglobulina, che rappresenta la forma di deposito dei precursori ormonali. A differenza delle cellule follicolari, le cellule parafollicolari si occupano di produrre calcitonina, ormone responsabile della regolazione della concentrazione di calcio nei fluidi extracellulari. (Martini et al., 2019)

Il ruolo principale della tiroide è la secrezione e sintesi degli ormoni tiroidei, i quali mostrano le seguenti caratteristiche:

- A livello cardiovascolare aumentano la frequenza cardiaca e contrattilità miocardica, riducendo la resistenza periferica;
- Incrementano il catabolismo proteico ed il metabolismo lipidico;
- Possiedono un effetto calorigeno, aumentando il consumo di ossigeno e la produzione di calore corporeo;
- Potenziano la motilità del sistema gastrointestinale e l'attività adrenergica del sistema nervoso centrale, modulandone la sensibilità;
- Stimolano la produzione di citochine e fattori di crescita coinvolti nello sviluppo e nella crescita ossea (Chiasera, 2013).

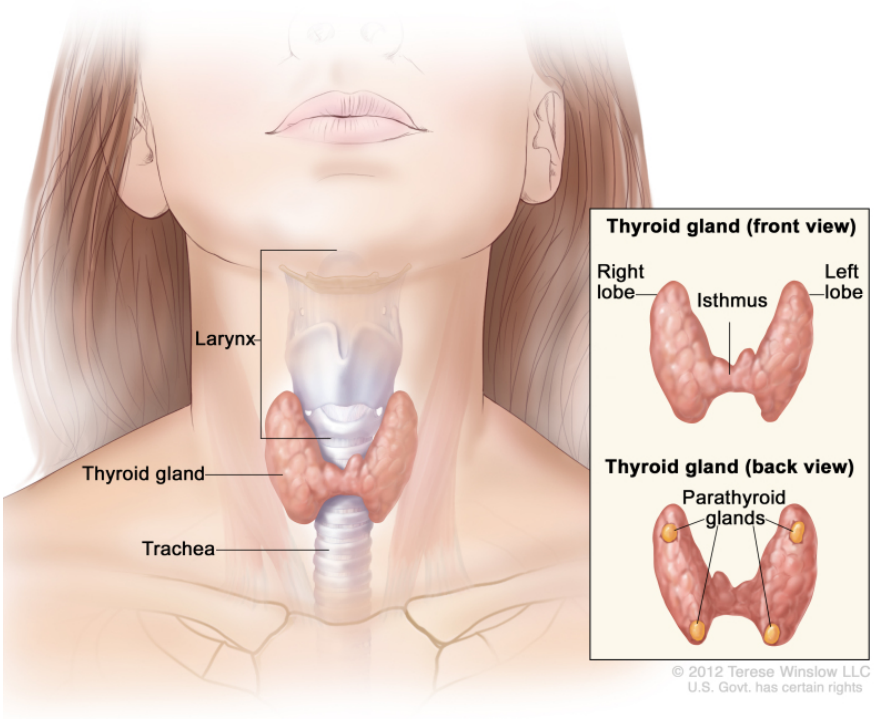


Figura 1.1- Anatomia della tiroide (Winslow,T. 2012)

1.1.1 *Asse ipotalamo-ipofisi della tiroide*

Il funzionamento della tiroide è regolato da un sistema di controllo a feedback negativo, noto come *asse ipotalamo-ipofisi-tiroide*. Questo sistema garantisce l'omeostasi corporea al variare delle condizioni ambientali, regolando finemente il processo di secrezione degli ormoni tiroidei.

L'ipotalamo secerne il fattore di rilascio della tireotropina (TRH), un tripeptide che stimola l'adenoipofisi a produrre e rilasciare l'ormone tireostimolante (TSH). Il TSH stimola la tiroide ed agisce sulla ghiandola promuovendo la sintesi e la messa in circolo gli ormoni triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), (presenti nel sangue per la maggior parte legati a proteine, ed in minima a quota libera e biologicamente attiva come FT4 ed FT3) (Ortiga-Carvalho 2016).

Nel momento in cui i livelli ematici di T3 e T4 aumentano, esercitano un'inibizione retrograda sull'ipotalamo e sull'adenoipofisi diminuendo la secrezione di TRH e TSH, garantendo il mantenimento di un perfetto equilibrio eutiroideo.

Attraverso la secrezione di T3 e T4 la tiroide orchestra il consumo energetico delle cellule, influenzando la frequenza cardiaca, regolando la temperatura corporea e contribuendo al

corretto sviluppo e funzionamento del sistema nervoso e dell'apparato scheletrico. Quando la funzione ghiandolare si riduce, il calo degli ormoni tiroidei determina un aumento compensatorio di TRH e TSH; al contrario l'eccesso ormonale sopprime l'attività dell'asse. (Jing 2026)

Per questo è importante la sua posizione centrale nell'omeostasi dell'organismo, e anche una minima ed impercettibile alterazione della sua struttura e del suo funzionamento si riflettono sullo stato di salute generale.

1.1.2 *Produzione ormoni tiroidei*

Nella tiroide le cellule follicolari si occupano di produrre gli ormoni tiroidei, attraverso un meccanismo articolato in più fasi. La prima fase riguarda l'ingresso dello ioduro nella cellula, la seconda la sua conseguente organificazione ed accoppiamento delle molecole iodate, con la secrezione finale (Chiasera, 2013).

Lo ioduro è presente al di fuori della cellula e viene fatto entrare nei tireociti grazie al simporto sodio-ioduro (NIS). Questo ingresso permette lo spostamento verso il lume del follicolo per mezzo della pendrina, che è una proteina di membrana appartenente alla famiglia dei trasportatori anionici SLC26A. Quando viene raggiunto il lume follicolare, lo ioduro subisce un'ossidazione e si lega ai residui tirosinici presenti sulla tireoglobulina.

La reazione avviene grazie alla presenza di due enzimi: la doppia ossidasi (DUOX), che produce il perossido di idrogeno indispensabile per l'attività enzimatica, e la perossidasi tiroidea (TPO) che incorpora lo iodio nei residui tirosinici della tireoglobulina. Qui vengono prodotti la monoiodotirosina (MIT) e la diiodotirosina (DIT), i due precursori da cui si formano gli ormoni tiroidei veri e propri.

1.1.3 *La deiodinazione della tiroxina*

Quando gli ormoni tiroidei vengono immessi nel torrente circolatorio, arrivano ai tessuti bersaglio, dove subiscono diverse trasformazioni metaboliche da parte di enzimi presenti nel citoplasma cellulare. La reazione più importante è la deiodinazione della tiroxina (T4), un processo svolto dalla iodotironina deiodinasi (DIO1, DIO2 e DIO3) che permette la formazione sia di metaboliti attivi che inattivi. Quando viene eliminato un atomo di iodio

dall'anello fenolico esterno della T4, si ottiene la triiodotironina inversa (rT3), un metabolita che è privo di attività biologica (Mondial et al., 2016).

Le deiodinasi si presentano in tre distinte isoforme, ognuna con una propria localizzazione tissutale ed un ruolo specifico nel mantenimento dell'equilibrio degli ormoni tiroidei:

- La deiodinasi di tipo 1 (DIO1): si trova a livello epatico, renale e tiroideo, e si occupa di trasformare gran parte della T4 circolante in T3, incidendo in maniera impattante sui livelli plasmatici di questa (T3).
- La deiodinasi di tipo 2 (DIO2): è concentrata nell'ipofisi, nel sistema nervoso centrale e nel grasso buono. Il compito della DIO2 è regolare la quantità di T3 nelle cellule, influenzando così la sensibilità dei tessuti agli ormoni tiroidei.
- La deiodinasi di tipo 3 (DIO3): è abbondante nella placenta, nella cute e nel cervello. Qui trasforma la T4 in rT3, diminuendo l'attività ormonale nel suo complesso.

Nel loro insieme questi sono i meccanismi di attivazione e disattivazione degli ormoni tiroidei permette all'organismo di mantenere stabile il proprio assetto endocrino e modulare la risposta metabolica alle diverse condizioni fisiologiche che si presentano di volta in volta (Mondial et al., 2016).

1.2 IPOTIROIDISMO E IPERTIROIDISMO: ALTERAZIONI TIROIDEE

Per alterazioni tiroidee si intende una condizione patologica in cui la secrezione degli ormoni tiroidei è alterata. Nel momento in cui questa produzione diventa eccessiva si parla di Ipertiroidismo, quando la produzione è insufficiente si sviluppa l'ipotiroidismo.

1.2.1 *Ipotiroidismo*

L'ipotiroidismo è classificato attraverso diversi criteri: il momento di comparsa (congenito o acquisito), l'origine del problema (primario o secondario) e la gravità biochimica e clinica (forma conclamata o subclinica).

La distinzione tra ipotiroidismo conclamato e ipotiroidismo subclinico è essenziale:

- Nell'ipotiroidismo conclamato i sintomi sono evidenti. Qui si riscontrano valori di TSH superiori alla norma, insieme ad una riduzione della tiroxina libera (FT4) al di sotto dei livelli standard.

- Nell'ipotiroidismo cronico i sintomi possono manifestarsi in maniera lieve o non presentarsi. (Kostoglou-Athanassiou et al., 2010)
- L'ipotiroidismo subclinico invece è considerato una fase iniziale della disfunzione tiroidea. Qui i valori di T3 e T4 restano nei limiti, mentre TSH tende a salire (Chaker et al., 2017)

L'ipotiroidismo secondario, al contrario, rappresenta una condizione meno frequente, che colpisce indistintamente uomini e donne, ed è legata al malfunzionamento dell'ipofisi o dell'ipotalamo. Sul piano biochimico questa forma si distingue per valori di TSH nella norma, o addirittura ridotti, accoppiati sempre a bassi livelli di tiroxina libera.

1.2.2 *Ipertiroidismo*

L'ipertiroidismo rappresenta, invece, la condizione opposta: uno stato di iperattività metabolica in cui i livelli di T3 e T4 risultano alti, ed i valori di TSH ridotti. Nella variante subclinica, T3 e T4 restano nei range normali, mentre TSH si abbassa. Le cause più frequenti dell'ipertiroidismo sono il morbo di Graves, malattia autoimmune nella quale specifici autoanticorpi agiscono sul recettore del TSH, stimolando la produzione ed il rilascio di ormoni tiroidei in eccesso (Lee e Pearce, 2023).

1.3 DIAGNOSI DELLE DISFUNZIONI TIROIDEE

Lo screening della tiroide nasce con un obiettivo preciso: individuare e curare tempestivamente i pazienti a rischio, prima che compaiano sintomi evidenti per limitare le conseguenze di un'eventuale disfunzione.

Ma per valutare con precisione la funzionalità della tiroide, non si può prescindere dalla storia clinica del paziente, dalle sue condizioni di salute generale, e dai risultati di laboratorio.

Tra gli esami più utilizzati in questo ambito teniamo in considerazione il dosaggio della tireotropina (TSH), della tiroxina libera (FT4) e la misurazione degli anticorpi anti-perossidasi tiroidea (Ab-TPO). Oggi i test di screening più diffusi sono quelli immunometrici di terza generazione, noti anche come test "sandwich" oppure "non competitivi".

1.3.1 *La tireotropina (TSH)*

Il TSH è una glicoproteina composta da due catene: catena alfa formata da 92 amminoacidi e condivisa con altri ormoni come la gonadotropina corionica umana, l'FSH e l'LH, ed una subunità beta (Soh &Aw TC, 2019).

Pur essendo il test di prima scelta per lo screening, il TSH da solo non basta per avere una diagnosi certa, soprattutto quando si sospetta un ipotiroidismo, o nelle prime fasi dell'ipertiroidismo. Il rischio in questi casi è che nella diagnosi dell'ipotiroidismo un ipotiroidismo di tipo subclinico venga scambiato per una forma conclamata di disfunzione tiroidea. Da non sottovalutare è anche l'effetto dell'età sui livelli di TSH, con l'avanzare dell'età, aumenta la probabilità di trovare isoforme di TSH biologicamente inattive, che renderebbero i risultati delle analisi di laboratorio poco "veritieri". Questo fenomeno è legato ai cambiamenti che intervengono nel metabolismo tiroideo con l'invecchiamento ed un progressivo riadattamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, aspetto che complica la diagnosi. Nel momento in cui il livello del TSH risulta essere lievemente elevato (cioè tra 4 e 10 mIU/L) e non si riscontra la presenza di anticorpi anti-tireoperossidasi (Ab-TPO), il paziente viene monitorato nel tempo, senza intervenire subito (Soh &Aw, 2019).

Il test del TSH è molto semplice ed utile, ma le indicazioni a riguardo cambiano a seconda dell'ente di riferimento. L'American Thyroid Association propone lo screening per tutti gli adulti dopo i 35 anni. L'American Association of Clinical Endocrinologists non fissa un'età precisa, ma raccomanda un controllo regolare dei livelli di TSH negli anziani (alle donne in particolare). L'American Academy of family Physicians suggerisce di effettuare lo screening nei pazienti asintomatici oltre i 60 anni. Se per uno screening generale il TSH può bastare, la situazione cambia quando si tratta di individuare forme più sfumate. Per diagnosticare disfunzione tiroidea subclinica, un ipotiroidismo centrale, è necessario associare al livello di TSH anche il dosaggio della T4 (Esfandiari. & PapaleonTiou, 2017). Oggi nello studio del caso clinico si prende in considerazione il T4 libera nel siero, che rende la diagnosi più precisa.

1.3.2 *La tiroxina libera (FT4)*

La tiroxina libera (FT4) è la frazione biologicamente attiva dell'ormone tiroideo T4. Il T4 rappresenta circa l'80% dell'ormone prodotto e rilasciato dalla tiroide, a differenza dell'ormone T3 (triiodotironina) che rappresenta solo il 20%. Questa percentuale che riguarda la produzione dell'ormone, che nulla ha a che vedere con l'affinità di legame degli ormoni tiroidei ai recettori nucleari, che pur potendo interagire sia con T3 che con T4, preferiscono legare T3 (Shahid et al., 2023).

La T4 è una sorta di "pro-ormone" che rappresenta una riserva dalla quale l'organismo può attingere per generare, grazie agli enzimi deiodinasi, la sua forma attiva. Quando la T4 viene secreta, circola nel sangue legata a specifiche proteine di trasporto che sono: la thyroxine-binding globulin (TBG), la transtiretina e l'albumina. Il legame che si stipula tra le due componenti è talmente forte che solo lo 0,2% resta effettivamente libera, e questa piccola percentuale costituisce la FT4, che entra nei tessuti bersaglio (Shahid et al., 2023).

Proprio per questa piccola quantità è chiaro il motivo per cui con il tempo si è abbandonata l'idea di misurare la T4 totale nella pratica clinica (Garber et al. 2013). In questo campo il dosaggio della FT4 abbinato a quello del TSH costituisce il primo livello di indagine quando si sospetta una disfunzione tiroidea.

1.4 AUTOIMMUNITA' TIROIDEA (AITD)

L'autoimmunità della tiroide (AITD) è una risposta immunitaria anomala contro antigeni della tiroide (Antonelli, 2013). Essa nasce quando il sistema immunitario perde la tolleranza verso gli antigeni tiroidei ed attiva una risposta sia cellulare che umorale contro la ghiandola, producendo autoanticorpi diretti soprattutto contro la tireoperossidasi (TPO), la tireoglobulina (Tg) ed il recettore del TSH (TSHR) (Vargas-Uricoechea, 2023).

Le due principali manifestazioni cliniche sono: la tiroidite di Hashimoto, con infiammazione, apoptosi dei tireociti e progressiva disfunzione follicolare con tendenza all'ipotiroidismo. E la malattia di Graves, dove gli autoanticorpi stimolanti contro il TSHR inducono ad un eccessivo funzionamento della tiroide o ipertiroidismo (Vargas-Uricoechea, 2023).

1.4.1 *Tiroidite di Hashimoto*

La tiroidite di Hashimoto è una malattia autoimmune organo-specifica della tiroide, anche detta tiroidite autoimmune cronica, dove il sistema immunitario perde la sua tolleranza verso gli antigeni della tiroide stessa, causando un danno mediato da autoanticorpi diretti contro la ghiandola. Gli autoanticorpi in questione sono anticorpi anti tireoperossidasi (AB-TPO) e gli anticorpi antitireoglobulina (AB-TG), che insieme ai linfociti causano distruzione dei follicoli, atrofia progressiva, fibrosi ed infiltrazione linfocitaria del parenchima (Ralli et al., 2020).

La genesi di questa patologia è il risultato di una serie di fattori come: la predisposizione genetica, fattori ambientali ed epigenetici, ma anche regolazione immunitaria. In particolar modo vengono riscontrate la presentazione di autoantigeni da parte delle cellule dendritiche e dei macrofagi promuove l'attivazione di linfociti T helper (come Th2 e Th17), che a loro volta stimolano i linfociti B autoreattivi. Questo scatena la produzione di autoanticorpi che non fanno altro che amplificare l'infiammazione locale (Parveen et al, 2026).

È possibile identificare la presenza di autoimmunità tiroidea osservando nel quadro clinico la positività di AB-TPO e AB-Tg, che potrebbero associarsi ad un maggiore rischio di progressione verso l'ipotiroidismo.

Difatti la presenza di anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO) costituisce un segno distintivo di tiroidite conclamata o latente, e risulta essere un fondamentale marcatore siero-immunologico. Nell'ambito della medicina di laboratorio, la misurazione coordinata di TSH, FT4 e AB-TPO rappresenta lo standard d'elezione per valutare la funzionalità tiroidea e identificare precocemente alterazioni autoimmuni anche in fasi subcliniche. Analizzare l'associazione tra questi tre parametri in una popolazione di laboratorio non selezionata permette di comprendere meglio la prevalenza della disfunzione tiroidea e il reale valore predittivo della positività agli AB-TPO nella pratica clinica quotidiana.

1.4.2 *AB-TPO come marcatore*

Gli AB-TPO sono autoanticorpi diretti contro la tireoperossidasi, enzima fondamentale dei tireociti che catalizza passaggi essenziali della sintesi degli ormoni tiroidei. I passaggi fondamentali sono: ossidazione dello iodio, iodinazione della tireoglobulina e formazione di T4 e T3 (Vargas-Uricoechea, 2023).

Questi autoanticorpi sono considerati marcatori perché la loro positività definisce la presenza di autoimmunità tiroidea, presente nella tiroidite di Hashimoto. Quindi è proprio la presenza di questi a definire l'eziologia autoimmune dell'alterazione tiroidea, soprattutto in quei casi dove i valori di TSH ed FT4 sono ancora normali. Questo permette di stimare il rischio di progressione verso l'ipotiroidismo, soprattutto per tutti quei casi di forme subcliniche e nei soggetti eutiroidei sieropositivi (Burman, 2026)

Gli autoanticorpi sono il marker laboratoristico più usato della tiroidite autoimmune, ma riflettono soprattutto la presenza di autoimmunità, e non necessariamente il grado di danno in quel momento. Per questo la sola positività anti-TPO non basta a prevedere il destino clinico individuale perché possono esserci soggetti eutiroidei positivi, pazienti ipotiroidei anti-TPO negativi, per questo è bene identificare questo parametro come altamente specifico ma modestamente sensibile per alcune condizioni subcliniche (Pokhrel et al., 2026).

1.5 OBIETTIVI DELLO STUDIO

L'obiettivo generale di questa tesi è quello di valutare l'associazione tra TSH, FT4 e AB-TPO in una popolazione di Laboratorio non selezionata, ponendo particolare attenzione a verificare se la positività o la presenza di anticorpi AB-TPO identifichi soggetti con maggiore probabilità di alterazione funzionale tiroidea, definita in particolar modo dal valore in aumento del TSH. L'indagine si configura come un'analisi osservazionale retrospettiva condotta su dati analitici secondari già esistenti e trattati in forma rigorosamente anonimizzata.

Gli obiettivi specifici sono:

- Valutare e misurare la relazione tra AB-TPO e TSH, per comprendere se all'aumentare degli autoanticorpi aumenti anche la probabilità di sviluppare ipotiroidismo. Si osserva dunque l'associazione in maniera dose-dipendente ai valori di TSH più elevati.
- Valutare l'esistenza di una soglia di AB-TPO associata ad un aumento del rischio di ipotiroidismo, e se esiste tale soglia, si valuta la possibilità di confrontarla in termini di effect-size.
- Valutare se le variabili demografiche influenzino il titolo di AB-TPO (ma anche TSH ed FT4) e lo stato tiroideo nella popolazione presa in esame.

Lo studio condotto su dati di real-world laboratory practice raccolti durante il periodo di tirocinio presso il Laboratorio Analisi Medica su una popolazione di laboratorio non selezionata. In questo ambito è importante prendere in considerazione la misurazione coordinata dei tre valori in questione, ovvero TSH, FT4 ed AB-TPO perché rappresentano lo standard d'elezione per valutare la funzionalità tiroidea, e identificare precocemente alterazioni autoimmuni.

2. MATERIALI E METODI

2.1 *Disegno dello studio e natura dei dati*

Il presente lavoro si configura come un'analisi osservazionale retrospettiva condotta mediante la revisione e la rielaborazione statistica di dati analitici di routine. I parametri presi in esame (valori sierici di TSH, FT4 e AB-TPO) derivano da accertamenti diagnostici richiesti nell'ambito della normale pratica clinico-assistenziale per motivazioni del tutto indipendenti dagli obiettivi della presente ricerca.

Trattandosi di un'analisi secondaria di dati aggregati già esistenti e non di uno studio clinico sperimentale o d'intervento, l'indagine non ha comportato l'esecuzione di prelievi aggiuntivi, modifiche ai percorsi diagnostico-terapeutici dei soggetti coinvolti, né la raccolta di dati ad hoc per i quali sarebbe stata necessaria l'approvazione preventiva di un Comitato Etico o la sottoscrizione di un consenso informato specifico.

I risultati ottenuti non sono stati concepiti né impiegati per la gestione o l'orientamento clinico individuale dei singoli pazienti, bensì esclusivamente per valutare, su scala di popolazione reale (real-world population), l'associazione tra i marcatori e fornire elementi utili a una migliore comprensione e gestione del test analitico nel contesto di laboratorio.

Tutti i referti analizzati (661 campioni raccolti in un arco temporale di 14 mesi) sono stati estratti e trattati in forma rigorosamente anonimizzata e aggregata, garantendo la totale riservatezza delle informazioni anagrafiche e la conformità alle normative vigenti in materia di protezione dei dati personali.

2.2 *Raccolta e preparazioni dei campioni*

Per permettere tale analisi, è stato effettuato un prelievo di sangue venoso dopo un periodo di digiuno di almeno otto ore, condizione necessaria per garantire l'accuratezza delle misurazioni. Il sangue prelevato è stato raccolto in apposite provette dotate di un codice a barre unico per ogni paziente, permettendo quindi l'associazione tra il tipo di esame richiesto ed il relativo campione. Tale codice a barre viene poi scansionato grazie ad un lettore ottico, azzerando la possibilità di commettere errori legati all'identificazione dei campioni.

In un secondo momento i singoli campioni sono stati sottoposti a centrifugazione a temperatura ambiente (25°C) per 15 minuti a 1500g. La centrifugazione ha permesso di separare il siero grazie ad un apposito gel separatore presente nelle provette, rendendolo disponibile per gli esami richiesti dal paziente.

Al termine della centrifugazione è stata verificata l'eventuale presenza di coaguli, che una volta trovati, sono stati prontamente rimossi con un'ansa sterile.

2.3 *Cobas® pure integrated solutions*

Per l'esecuzione di una parte dei dosaggi analitici è stato impiegato l'analizzatore automatizzato *Cobas® pure integrated solutions (Figura 2.1),* macchinario di ultima generazione progettato per l'esecuzione di svariati test qualitativi e quantitativi in analisi cliniche, immunochimica e determinazione di ioni selettivi.
Questo dispositivo permette di effettuare diagnostica in vitro, utilizzato per test di screening, monitoraggio, prognosi e diagnosi di determinate condizioni cliniche. Questo analizzatore permette di migliorare l'efficienza analitica e garantire tempi di risposta ottimali, riducendo al minimo le operazioni manuali.

In soli 18 minuti lo strumento è in grado di eseguire test immunologici, eseguendo in totale autonomia le operazioni di manutenzione e calibrazione, con conseguente caricamento dei reagenti senza necessità di trattamenti preventivi. Esso è compatibile con diverse tipologie di campioni biologici come: siero, saliva, plasma, feci trattate, liquido amniotico ed emolisato, liquido cerebrospinale, urina.

Il caricamento e lo scarico nel macchinario avvengono in maniera continua con un massimo di 50 campioni per volta, rendendo il processo analitico ancora più efficiente.

Lo strumento è composto da due unità analitiche (oltre alla componente di gestione/trasporto dei campioni): l'unità c303 e l'unità e402.

L'unità *cobas® c303* è l'unità di chimica clinica ed elettroliti ISE che gestisce analisi fotometriche ed il modulo ISE.

L'unità *cobas® e402* è l'unità di immunochimica che gestisce i dosaggi immunologici con tecnologia ECLIA. Proprio questa unità è quella utilizzata per il dosaggio degli ormoni tiroidei, essa si avvale della tecnologia ad elettrochemiluminescenza: processo dove vengono generate specie altamente reattive che reagendo tra loro, producono ed emettono un segnale luminoso. Più specificamente la metodica sfruttata si basa sulla reazione tra il complesso di rutenio e la tripropilammina (Roche Diagnostics, 2021).

L’analisi avviene grazie al prelievo della miscela di reazione, che consente di rimuovere i contenuti sierici non legati alle microparticelle. Subito dopo il miscelatore Vortex, anticipando la cattura magnetica nella cella di misurazione, porta le microparticelle in sospensione, dove viene rilevato il segnale.

Viene, così, emesso il segnale luminoso sotto l’effetto di un campo elettrico, questo segnale viene misurato da un fotomoltiplicatore permettendo la quantificazione degli analiti presi in considerazione.



Figura 2.1- Cobas pure integrated solutions

2.4 *Cobas® e411*

Per la determinazione quantitativa degli anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO) è stato impiegato l’analizzatore *Cobas® e411 (Figura 2.2).* Il macchinario include un sistema automatizzato da banco, controllato attraverso un software, progettato per misurazioni in vitro sia quantitative che qualitative. Esso opera attraverso un random access consentendo una elaborazione continua dei campioni, effettuando circa 85 test all’ora.

Lo strumento si compone di due unità interconnesse: unità di controllo e l’unità di analizzatore.

L’unità analizzatore gestisce tutte le funzioni meccaniche e fluidiche necessarie per l’elaborazione automatizzata dell’analisi, partendo dalla misurazione dei campioni fino al rilevamento del segnale. Essa è composta da un’area dove vengono caricati i campioni ed il

rotore reagenti, quest'ultimo refrigerato termostaticamente (20 ± 3°C) per garantire la stabilità a bordo delle confezioni (e-pack). Inoltre, è presente un ago campioni/reagenti S/R che si occupa del rilevamento del livello dei liquidi e dei coaguli, e l'agitatore per il mantenimento in sospensione delle microparticelle paramagnetiche. Il macchinario utilizza puntali monouso per il pipettaggio del campione, escludendo, così, il rischio di trascinamento.

Un'altra area include i vassoi per i puntali, le coppette di reazione monouso, il serbatoio dell'acqua e del sistema (sys wash) ed infine le taniche per lo scarico dei liquidi ed il contenitore per i rifiuti solidi.

L'ultima area di questa unità è quella che include l'incubatore mantenuto a temperatura di 37,0 ± 0,3°C dove avvengono le reazioni immunologiche, e attraverso l'ago sipper si provvede all'aspirazione della miscela di reazione finale e dei reagenti di sistema nell'unità di rilevamento. Abbiamo infine l'unità di controllo che è composta dal pc integrato con interfaccia su monitor, dove si ha l'accesso al software di gestione che permette il controllo operativo dell'analizzatore ma anche acquisizione e validazione dei dati dei singoli campioni e reagenti, e gestione dei controlli di qualità (Cobas, 2006)

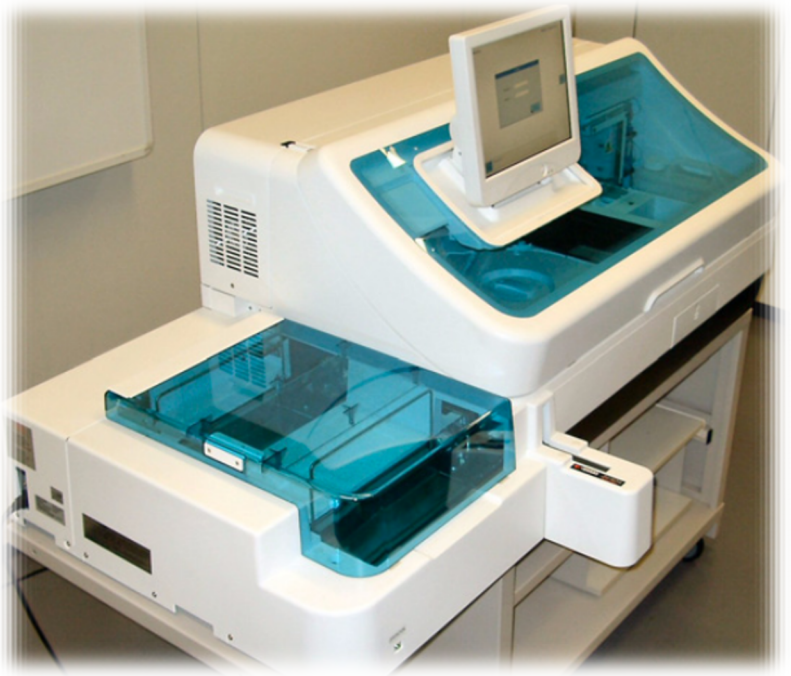


Figura 2.2 – Cobas® e411

2.5 *Dosaggio dell'ormone tiroxina libera (T4)*

Il dosaggio dell'ormone T4 avviene attraverso l'utilizzo del *principio di competizione*, che consiste nel susseguirsi di una serie di fasi che portano alla formazione di un prodotto chemiluminescente. L'ormone T4 e l'ormone TSH vengono analizzati con lo strumento *Cobas pure integrate solutions.*

Nelle prime fasi di reazione, vengono posti 9µl di campione con un anticorpo specifico per l'ormone T4, coniugato con un complesso di rutenio. Segue un periodo di incubazione, il quale prevede l'aggiunta di T4 biotinilato e microparticelle paramagnetiche rivestite di streptavidina. Questo passaggio permette di occupare tutti i siti di legame liberi dall'anticorpo marcato, formando complessi antigene-anticorpo. La fase solida, composta da biotina e streptavidina, lega l'immunocomplesso che si è creato, e questa miscela viene aspirata nella cella di misurazione. Nella cella di misurazione le microparticelle vengono attratte magneticamente sulla superficie dell'elettrodo, e con l'applicazione di una certa tensione all'elettrodo si genera un'emissione chemiluminescente, riconosciuta e misurata attraverso l'utilizzo di un fotomoltiplicatore. In base all'intensità di segnale luminescente emesso durante la reazione, viene determinata la concentrazione dell'ormone tiroideo T4.

2.6 *Dosaggio dell'ormone tireostimolante (TSH)*

Il dosaggio dell'ormone TSH avviene attraverso l'utilizzo del principio sandwich. Nel periodo di incubazione, che dura 9 minuti, vengono aggiunti 30µl di campione insieme ad un anticorpo biotinilato specifico per anti-TSH ed un anticorpo monoclonale specifico anti-TSH coniugato con rutenio, che reagendo formano il complesso sandwich.

Subito dopo, vengono aggiunte delle microparticelle paramagnetiche che sono rivestite di streptavidina, queste permettono la formazione del legame del complesso alla fase solida, attraverso l'interazione biotina-streptavidina.

Nella cella di misurazione arriva la miscela di reazione, qui le microparticelle sono attratte magneticamente dall'elettrodo, ed attraverso l'applicazione di tensione all'elettrodo, si produce un'emissione chemiluminescente. Il processo è simile a quello descritto per l'ormone T4, ma in questo caso la quantità di luce generata è inversamente proporzionale alla quantità di antigene (TSH) presente nel campione, garantendo così la sua quantificazione.

2.7 *Dosaggio degli anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO)*

Per determinare quantitativamente gli anticorpi anti-tireoperossidasi (AB-TPO) sul cobas e411, si sfrutta la tecnologia della elettrochemiluminescenza (ECL). Questa tecnologia impiega un complesso del rutenio come marcatore chemiluminescente e la tripropilammina (TPA contenuta nel ProCell) come sostanza reattiva, applicati ad un saggio immunometrico in fase solida con microparticelle paramagnetiche. Il principio della tecnologia ECL prevede una reazione immunologica che permette la formazione di immunocomplessi sandwich sulla superficie delle microparticelle. Il TPO purificato è marcato con biotina e con il complesso del rutenio. Gli AB-TPO presenti nel campione del paziente legano gli antigeni marcati e formano dei complessi: TPO-biotina, AB-TPO paziente, TPO rutenio.

Nella fase di incubazione, il campione viene incubato con reagenti specifici contenente l'antigene TPO biotinilato, l'antigene TPO marcato con rutenio e le microparticelle paramagnetiche rivestite in streptavidina. Gli AB-TPO formano degli immunocomplessi che si legano alle microparticelle grazie all'altissima affinità tra biotina e streptavidina.

L'ago sipper si occupa di aspirare la miscela di reazione ed introdurla nella cella di misura. Qui un magnete cattura ed immobilizza le microparticelle con l'immunocomplesso sulla superficie dell'elettrodo stesso.

Attraverso il reagente ProCell che viene fatto scorrere nella cella di misura viene eliminato tutto il materiale non legato e l'eccesso dei reagenti, permettendo di tenere solo gli immunocomplessi specifici.

Alla fine della fase di lavaggio il magnete viene rimosso, e viene applicata una tensione elettrica all'elettrodo di lavoro che innesca una reazione redox ciclica tra il marcatore rutenio e la TPA, permettendo l'emissione di luce e conseguente misurazione da parte dell'unità di rilevamento. L'intensità del segnale emesso è direttamente proporzionale alla concentrazione di AB-TPO presenti nel campione originario.

2.8 *Popolazione di studio e intervalli di riferimento*

L'analisi è stata condotta in collaborazione con il Laboratorio di Analisi Cliniche Medica S.R.L. in Mesagne. L'indagine ha coinvolto un totale di 661 pazienti che, nel periodo compreso tra gennaio 2025 e febbraio 2026, sono stati sottoposti ad analisi di routine per la

valutazione del loro stato di salute generale. Per ciascun paziente, includendo i dati anagrafici di età e sesso, è stato analizzato il profilo tiroideo che comprende i valori di: TSH, FT4 e AB-TPO.

La popolazione analizzata include tutti i pazienti afferenti al laboratorio per un dosaggio tiroideo, indipendentemente dall'indicazione clinica e dall'esito del test: si parla quindi di una popolazione di laboratorio non selezionata.

È importante segnalare che non tutti i pazienti sono stati sottoposti allo stesso pannello di esami: il TSH era disponibile per 632/661 (95,6%), l'FT4 per 209/661 (31,6%) e gli Ab-TPO per 167/661 (25,3%). I dati anagrafici erano disponibili per un sottoinsieme di 134-135 pazienti: età media 47 anni, range 4 – 89 anni; 93 femmine e 41 maschi, coerentemente con la nota prevalenza femminile delle patologie tiroidee autoimmuni.

Questo pattern è coerente con la logica di laboratorio secondo cui il dosaggio di FT4 e AB-TPO viene richiesto dal clinico, solitamente in presenza di dosaggio di un TSH alterato o di un sospetto clinico specifico di patologia tiroidea autoimmune.

Sono state considerate le seguenti variabili di laboratorio con gli intervalli di riferimento adottati dal laboratorio analisi (*Tabella 1*):

Analita	Intervallo di riferimento	Unità di misura
TSH	0,35 - 4,94	mIU/L
FT4	11,9 - 21,6	pg/ml
AB-TPO	0 - 12	UI/mL

Tabella 1. Intervalli di riferimento degli analiti utilizzati nello studio

Prendendo in considerazione questi intervalli sono stati definiti tre stati tiroidei (in analogia con la classificazione impiegata da Ehlers et al (Ehlers et al., 2016).

Per il valore del TSH:

- Eutiroidismo con TSH 0,35 – 4,94 mIU/L;
- Ipotiroidismo biochimico con TSH > 4,94 mIU/L;
- Ipertiroidismo biochimico con TSH < 0,35 mIU/L.

I dati raccolti sugli AB-TPO sono sintetizzati nella *Tabella 2* che riporta il valore degli AB-TPO, e sono state definite tre categorie basate sul limite superiore di normalità locale (Upper Limit of Normal, ULN) (*Tabella 2*).

Categoria	Intervallo AB-TPO (UI/mL)	Razionale
Negativo	≤ 12 (≤ 1x ULN)	Entro il range di riferimento del laboratorio
Positivo basso	12 – 100	Positività lieve / moderata
Positivo alto	>100	Positività marcata

Tabella 2. Categorizzazione degli AB-TPO

2.9 *Gestione dei dati censurati*

Alcuni dei referti riportavano dei valori che sono stati esclusi (inferiori al limite di rilevabilità) rispetto ai limiti analitici del metodo. In questo studio i valori censurati sono stati sostituiti con il valore limite riportato (ad es. AB-TPO < 5,00 → 5,00;). Effettuando questa scelta rileviamo una sottostima della variabilità reale ai valori estremi della distribuzione.

2.10 *Analisi statistica*

Le variabili continue sono state descritte mediante media, deviazione standard per le distribuzioni parametriche, e mediana con range interquartile in presenza di distribuzioni non parametriche. Il confronto tra TSH e le tre categorie di AB-TPO è stato effettuato con il test non parametrico di Kruskal-Wallis, successivamente sono stati fatti confronti a coppie con test di Mann-Whitney e correzione di Bonferroni per i confronti multipli.

Attraverso il calcolo del coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman sono state valutate le correlazioni tra variabili continue come: AB-TPO vs TSH, FT4 vs TSH ed età vs AB-TPO.

Le proporzioni di pazienti ipotiroidei nelle diverse categorie di AB-TPO sono state poi confrontate con il test di Fisher, calcolando il Rischio Relativo (RR) con intervallo di confidenza al 95% (metodo logaritmico normale). Il valore di $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. Le analisi sono state condotte in ambiente Python 3: con librerie pandas (per la gestione dei dati), numpy (per i calcoli numerici), scipy.stats (test statistici) (Ehlers et al. 2016).

Si segnala che il sottogruppo di soggetti con disponibilità contestuale dei dosaggi di TSH E AB-TPO è pari a $n = 138$; la ridotta dimensione campionaria di questo set limita la potenza statistica nella rilevazione di differenze di piccola – moderata entità, fattore tenuto in opportuna considerazione nell'interpretazione dei risultati.

3. RISULTATI

3.1 *Distribuzione del TSH nella popolazione generale*

Nella popolazione con TSH disponibile (n = 632), il 33,7% dei pazienti (n = 231) presentava un range di normalità (eutiroidismo), il 46,4% (n = 293) presentava TSH elevato con valore > 4,94 mIU/L (ipotiroidismo) ed il 19,9% (n = 126) presentava TSH soppresso con valore < 0,35 mIU/L (ipertiroidismo). La distribuzione di questi dati riflette la natura della popolazione di laboratorio arricchita per sospetto di patologia tiroidea, per un modello guidato dal sospetto clinico.

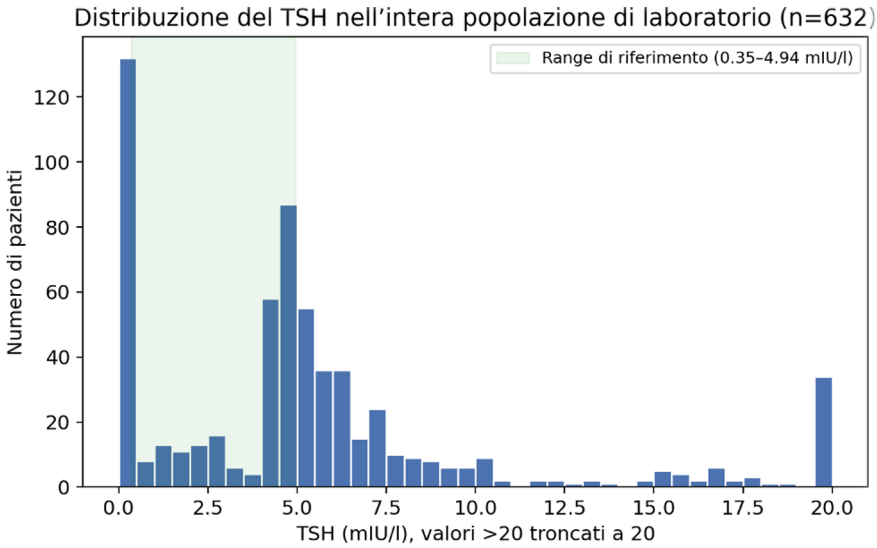


Figura 3.1. Distribuzione dei valori di TSH.

La *Figura 3.1* descrive la distribuzione del TSH nella popolazione generale con dosaggio disponibile n = 632. L'area verde indica il range di riferimento: 0,35 – 4,94 mIU/L. I valori superiori a 20 mIU/L sono stati troncati a 20 per rendere più omogenea la visualizzazione della distribuzione.

3.2 *Distribuzione degli AB-TPO e dello stato tiroideo per categoria*

Tra i 167 pazienti con AB-TPO disponibile 28/167 (16,8%) risultavano negativi (≤ 12 UI/mL) 70/167 (41,9%) positivi bassi (12 – 100 UI/mL), e 69/167 (41,3%) positivi alti (> 100 UI/mL) con valori fino al limite superiore di quantificazione del metodo (600 UI/ml, raggiunto in 8 pazienti). Il sottoinsieme di pazienti con AB-TPO e TSH disponibili comprendeva 138 pazienti (di cui 26 negativi, 60 positivi bassi e 52 positivi alti).

Categoria AB – TPO	**n**	**TSH media ± DS (mlU/l)**	**TSH mediana (mlU/l)**
Negativo (≤12)	26	2,86 ± 2,49	1,59
Positivo basso (12 – 100)	60	3,42 ± 4,16	2,36
Positivo alto (>100)	52	7,57 ± 12,15	3,39

Tabella 2.2. Valori TSH nelle tre categorie di AB-TPO (n=138)

Le tre categorie sono state messe a confronto grazie al test di Kruskal-Wallis che ha mostrato una differenza statisticamente significativa ($H = 7,215$; $p = 0,027$). I confronti a coppie hanno evidenziato una differenza significativa tra il gruppo negativo e quello Positivo alto ($p = 0,021$), ma anche tra il gruppo Positivo basso e quello Positivo alto ($p = 0,023$).
Ma dopo correzione di Bonferroni per confronti multipli, nessuno dei due confronti riusciva ad essere statisticamente significativo. Invece tra il gruppo Negativo e il gruppo Positivo basso non è stata evidenziata alcuna differenza ($p = 0,880$).

Nella *Figura 3.2* la linea tratteggiata rossa indica il limite superiore di normalità del TSH fissato a 4,94 mIU/L). I valori superiori a 25 mIU/L sono stati troncati a 25 ai soli fini di visualizzazione.

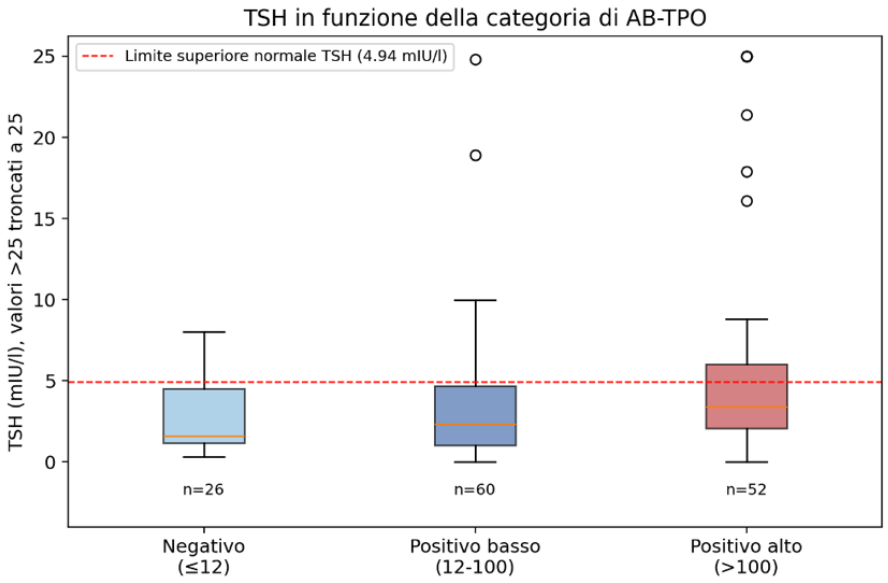


Figura 3.2. Distribuzione del TSH nelle tre categorie di AB-TPO (box plot)

3.3 *Stato tiroideo per categoria di AB-TPO*

Categoria AB-TPO	n	Ipertiroidismo	Eutiroidismo	Ipotiroidismo
Negativo	26	7,7%	65,4%	26,9%
Positivo basso	60	11,7%	65%	23,3%
Positivo alto	52	9,6%	57,7%	32,7%

Tabella 2.3. Distribuzione percentuale dello stato tiroideo nelle tre categorie di AB-TPO (n = 138)

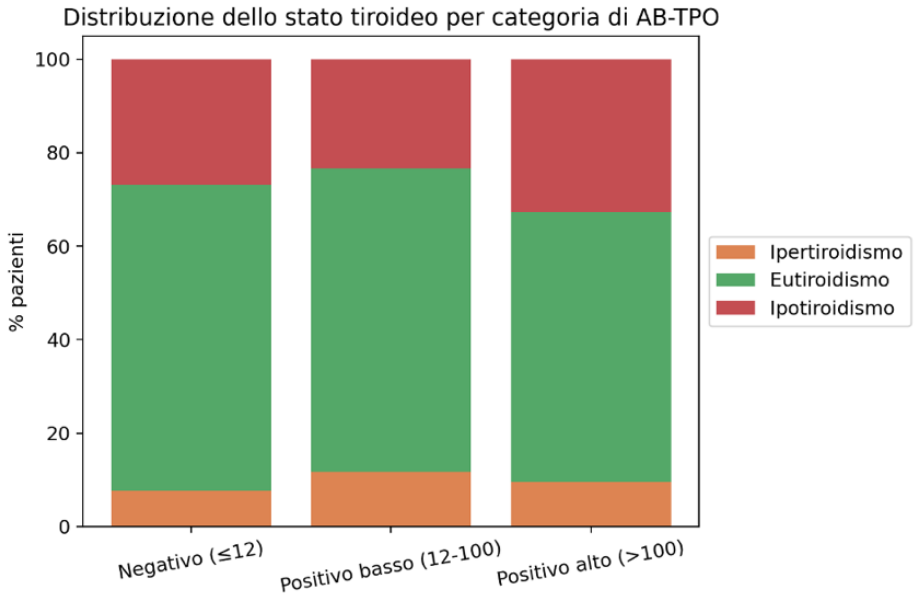


Figura 3.3. Distribuzione dello stato tiroideo per categoria di AB-TPO

Il gruppo AB – TPO > 100 UI/mL presentava la proporzione più alta di pazienti ipotiroidei (32,7%) sia rispetto al gruppo Negativo (26,9 %) che al gruppo Positivo basso (23,3 %). Il confronto tra i pazienti con AB-TPO > 100 UI/mL e pazienti con AB-TPO ≤ 100 UI/mL (n = 86, 24,4% ipotiroidei) ha mostrato un Rischio Relativo di ipotiroidismo pari a 1,339 (IC 95% 0,781 – 2,295; test esatto di Fisher p = 0,328).

3.4 *Correlazione tra AB-TPO e TSH*

La correlazione tra AB-TPO e TSH, calcolata tenendo in considerazione il sottinsieme di pazienti con entrambi i valori (n = 138) è risultata debole e statisticamente significativa (Spearman r = 0,180; p = 0,035). Analizzando separatamente i sottogruppi AB-TPO > 100 UI/mL (52 pazienti) e quello con AB-TPO ≤ 100 UI/mL (86 pazienti), la correlazione non raggiungeva la significatività statistica in nessuno dei due sottogruppi rispettivamente r = 0,079 e p = 0,578, r = 0,065 e p = 0,553.

Il confronto avviene, quindi, tra le categorie estreme cioè negativi vs positivi alti. L'area segnata in verde indica il range di normalità del TSH.

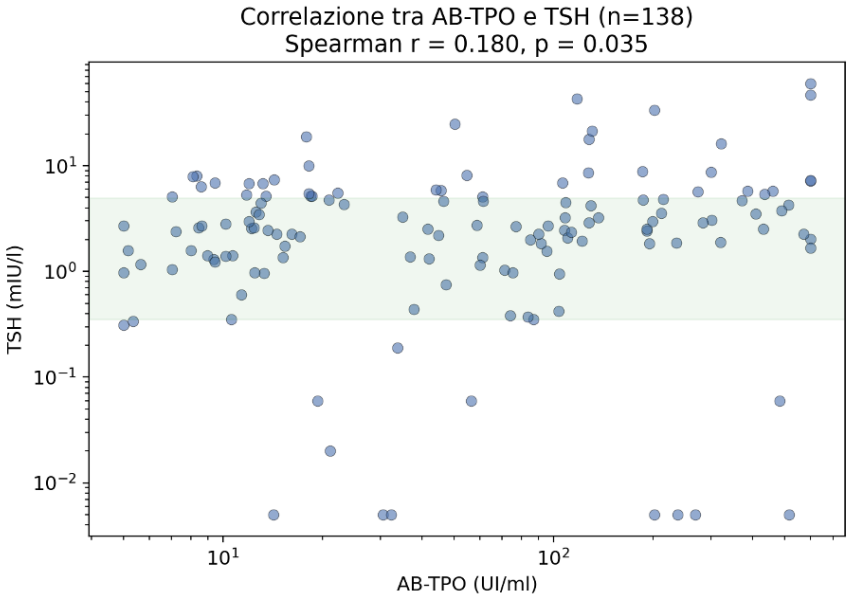


Figura 3.4. Correlazione tra AB-TPO e TSH

3.5 *Correlazione tra FT4 e TSH*

Come descritto nel capitolo precedente, FT4 e TSH mostrano una forte correlazione inversa (Spearman r = - 0,706; p < 0,0001; n = 208).

L'FT4 medio era pari a 15,1 ± 2,7 pg/ml nei pazienti eutiroidei, 11,4 ± 3,9 pg/ml nei pazienti ipotiroidei e 30,0 ± 20,8 pg/ml nei pazienti con TSH soppresso. Nell'ultimo gruppo è stato evidenziato un ampio range riconducibile alla presenza di casi di tossicosi conclamata o di terapia sostitutiva/soppressiva (non distinguibili con i soli dati disponibili).

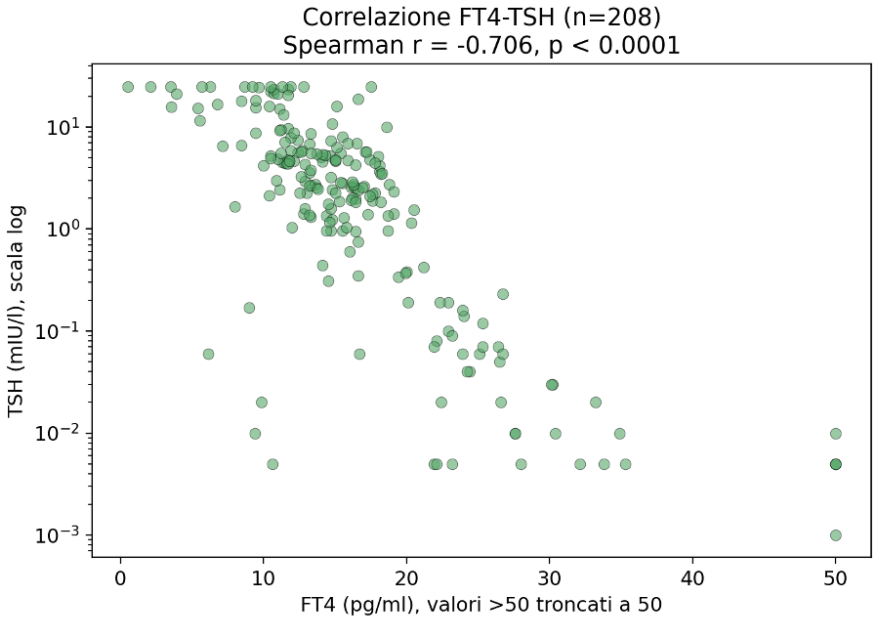


Figura 2.6. Correlazione tra FT4 e TSH in scala logaritmica

3.6 *Effetto di età e sesso*

Nel sottinsieme di pazienti con età, sesso e AB-TPO disponibili (134 pazienti) non è emersa alcuna correlazione tra età e titolo di AB- TPO (Spearman r = -0,002 e p = 0,980). Non è emersa nessuna differenza significativa del titolo di AB-TPO tra maschi e femmine, né differenza nella proporzione di positività per AB–TPO tra i due sessi (82,8% nelle femmine e 78,0 % nei maschi; test esatto di Fisher p= 0,631). Questo è dovuto alla ridotta numerosità campionaria ed alla possibile eterogeneità delle indicazioni cliniche al test nella popolazione di laboratorio.

4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha analizzato l'associazione tra TSH, FT4 e AB-TPO in una popolazione di laboratorio non selezionata di (contesto eterogeneo rispetto alle condizioni controllate di uno studio clinico), prendendo come riferimento metodologico lo studio di Ehlers et al. (2016), condotto su una coorte selezionata di pazienti con tiroidite autoimmune. L'obiettivo primario è stato quello di verificare se il segnale biologico di associazione tra elevati titoli di AB-TPO e aumentato rischio di ipotiroidismo sia identificabile anche attraverso la revisione statistica di dati analitici estratti dalla routine di laboratorio. Dal punto di vista metodologico e concettuale, è fondamentale ribadire che la presente indagine non costituisce uno studio clinico sperimentale o d'intervento, ma un'analisi osservazionale retrospettiva condotta su dati analitici secondari aggregati ed estratti in forma anonimizzata dal sistema informativo del Laboratorio Medica S.R.L di Mesagne. I risultati ottenuti da questo lavoro non sono stati concepiti né impiegati per orientare le decisioni clinico-terapeutiche sui singoli pazienti, ma esclusivamente per valutare le dinamiche dei biomarcatori su scala di popolazione e ricavare elementi utili alla migliore gestione ed erogazione del test analitico in contesto di laboratorio. Il risultato più significativo di questo lavoro riguarda proprio il confronto tra le categorie di AB-TPO dove nel sottogruppo di 138 pazienti per cui si aveva a disposizione sia l'AB-TPO che il TSH, i pazienti con titolo anticorpale più alto (> 100 UI/mL) presentano valori di TSH più elevati rispetto agli altri due gruppi (differenza confermata dal test di Kruskal-Walllis, $p = 0,027$) ed una proporzione di ipotiroidismo quasi del 33% contro il 23-27% degli altri due gruppi. Anche il rischio relativo, pari al 1,34, è risultato avvicinarsi molto allo studio riportato da Ehlers et al. Difatti l'elemento più interessante è proprio questo, perché anche partendo da una popolazione completamente diversa, non selezionata e con metodi di dosaggio differenti, il trend biologico si mantiene coerente e rilevabile.

Un secondo risultato importante è quello che riguarda la coerenza interna dei dati raccolti nel laboratorio: la forte correlazione inversa trovata tra FT4 e TSH (con $r = - 0,706$) conferma che, nonostante l'eterogeneità delle richieste raccolte in laboratorio, i valori analizzati riflettono in modo affidabile la fisiologia reale dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, e questo dà fiducia sulla qualità del dataset costruito. La correlazione tra AB-TPO e TSH è risultata debole ($r = 0,18$) e significativa solo considerando l'intero campione, non i singoli sottogruppi separatamente.

L’associazione in questo caso sembra dipendere soprattutto dal confronto tra pazienti negativi e pazienti con titoli molto alti, più che da un aumento progressivo e continuo del TSH al crescere degli anticorpi.
Non è stato possibile, invece, confermare alcune associazioni descritte nello studio di Ehlers et al. come l’aumento del titolo di AB-TPO con l’età o la maggiore prevalenza di positività nelle donne: un risultato che sembra essere una conseguenza della ridotta numerosità del sottogruppo con dati anagrafici completi (134 pazienti su 661), più che testimoniare una reale assenza di relazioni.
Il presente studio retrospettivo permette di avere un primo “indizio” su quella che potrebbero essere prospettive di studi più ampi, in grado di includere valori di AB-TPO indipendentemente da quelli del TSH e prevedere un follow-up nel tempo, per osservare l’evoluzione del TSH negli anni.

In conclusione, possiamo dire, dunque, che questo lavoro dimostra quanto sia importante riportare nel referto il valore quantitativo di AB- TPO e non solo la sua positività o negatività di questi. Questo renderebbe il referto clinicamente più preciso, offrendo al medico curante un quadro biochimico più preciso per identificare le popolazioni a maggior rischio di sviluppo di disfunzione tiroidea che necessitano di un monitoraggio analitico più ravvicinato nel tempo.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Bhagavan, N., & Ha, C. (2022). Metabolismo endocrino IV: Ghiandola tiroidea. 425-434.

2. Sanggaya, DK (2021). La tiroide e la sua importanza FIRST.

3. Winslow, T. (2012). Anatomy of the Thyroid and Parathyroid Glands [Illustrazione medica]. National Cancer Institute. Terese Winslow LLC.

4. Burman, KD, Schmeltz, L., Momoyama, Y., Erenler, F., Nakhle, S., Mendoza-Ballesteros, FA, Krishna, A., Amar, M., Robertson, DG, Anastasopoulou, C., Lupo, MA, Shanik, M., Jun, JY, Cubb, TD, Senashova, O., Behnke, AJ, Brodbeck, D., Yasavul, S., Dilba, P., . . . Findeisen, P. (2026). Prestazioni analitiche e cliniche del test Elecsys Anti-TPO II aggiornato per la rilevazione di anticorpi contro la perossidasi tiroidea per aiutare nella diagnosi di malattie autoimmuni della tiroide. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 0*.

5. Ortiga-Carvalho, TM, Chiamolera, M., Pazos-Moura, CC, & Wondisford, F. (2016). Asse ipotalamo-ipofisi-tiroide. *Comprehensive Physiology, 6*.

6. Jing, L., Moyd, SA, & Zhang, Q. (2026). Amplificazione del segnale nell'asse HPT: prove della sua esistenza, localizzazione, significato e meccanismi molecolari. *Acta Physiologica (Oxford, Inghilterra),* 242.

7. Vargas-Uricoechea, H. (2023). Meccanismi molecolari nelle malattie autoimmuni della tiroide. *Cells,* 12.

8. Antonelli, A., Ferrari, S., Corrado, A., Di Domenicantonio, A., & Fallahi, P. (2015). Disturbi autoimmuni della tiroide. *Revisioni sull'autoimmunità, 14 2*, 174-80.

9. Burman, K. D., Schmeltz, L., Momoyama, Y., Erenler, F., Nakhle, S., Mendoza-Ballesteros, F. A., Krishna, A., Amar, M., Robertson, D. G., Anastasopoulou, C., Lupo, M. A., Shanik, M., Jun, J. Y., Cubb, T. D., Senashova, O., Behnke, A. J., Brodbeck, D., Yasavul, S., Dilba, P., . . . Findeisen, P. (2026). Analytical and clinical performance of the updated Elecsys Anti-TPO II assay for the detection of antibodies against thyroid peroxidase to aid in the diagnosis of autoimmune thyroid diseases. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 0*.

10. Pokhrel, B., Sharma, BK, Chettri, AT, Chaudhary, K., Shrestha, J., Tamang, B., Gautam, N., & Budhathoki, A. (2026). Anticorpi anti-tiroide perossidasi in pazienti con ipotiroidismo primario: uno studio trasversale. *Annals of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*.

11. Martini FH, Tallitsch RB, Nath JL. Anatomia Umana, Edises 2019.

12. Chiasera JM. Back to the basics: thyroid gland structure, function and pathology. Clin Lab Sci. 2013 Spring;26(2):112-117.

13. Mondal S, Raja K, Schweizer U, Mugesh G. Chemistry and Biology in the Biosynthesis and Action of Thyroid Hormones. Angew Chem Int Ed Engl. 2016;55(27):7606-7630.

14. Kostoglou-Athanassiou I, Ntalles K. Hypothyroidism - new aspects of an old disease. Hippokratia. 2010;14(2):82-87.

15. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. Lancet. 2017;390(10101):1550-1562

16. Lee SY, Pearce EN. Hyperthyroidism: A Review. JAMA. 2023;330(15):1472-1483.

17. Soh SB, Aw TC. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. Ann Lab Med. 2019;39(1):3-14.

18. Esfandiari NH, Papaleontiou M. Biochemical Testing in Thyroid Disorders. Endocrinol Metab Clin North Am. 2017;46(3):631-648

19. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JI, Pessah-Pollack R, Singer PA, Woeber KA; American Association Of Clinical Endocrinologists And American Thyroid Association Taskforce On Hypothyroidism In Adults. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. Thyroid.2012;22(12):1200-1235.

20. Roche Diagnostics (2006) Analizzatore cobas e 411: Manuale Operatore. Versione software 01-01, manuale ver. 1.0. Mannheim: Roche Diagnostics GmbH.

21. Roche Diagnostics. (2021). Cobas pure integrated solutions: Guida per l'utente (Versione software 01-01, Versione pubblicazione 1.0)(Manuale dell'operatore. Roche Diagnostics GmbH.

22. Shahid MA, Ashraf MA, Sharma S. Physiology, Thyroid Hormone [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jun 5

23. Parveen, N., Chittawar, S., Khandelwal, D., & Aggarwal, S. (2026). Pragmatic Use of Thyroid Autoantibodies in Clinical Practice: An Update. *touchREVIEWS in Endocrinology, 22*, 37 - 44.

24. Ralli, M., Angeletti, D., Fiore, M., D'Aguanno, V., Lambiase, A., Artico, M., De Vincentiis, M., & Greco, A. (2020). Hashimoto's thyroiditis: An update on pathogenic mechanisms, diagnostic protocols, therapeutic strategies, and potential malignant transformation.. *Autoimmunity reviews*, 102649.

25. Ehlers, M., Jordan, A. L., Feldkamp, J., Fritzen, R., Quadbeck, B., Haase, M., Allelein, S., Schmid, C., & Schott, M. (2016). Anti-Thyroperoxidase Antibody Levels >500 IU/ml Indicate a Moderately Increased Risk for Developing Hypothyroidism in Autoimmune Thyroiditis. Hormone and Metabolic Research, 48(10), 623–629.