



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Meire Spressão

**Predição do Desenvolvimento Folicular:
Estudo da Reserva Ovariana
em Ciclos de Fertilização Assistida**

São José do Rio Preto
2016

Meire Spressão

Predição do Desenvolvimento Folicular:
Estudo da Reserva Ovariana
em Ciclos de Fertilização Assistida

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto para
obtenção do Título de Mestre no
Programa de Pós-graduação em Ciências
da Saúde, Eixo Temático: Medicina
Interna

Orientador: Prof. Dr. Antonio Hélio Oliani

São José do Rio Preto
2016

Spressão, Meire

Predição do Desenvolvimento Folicular: Estudo da Reserva Ovariana em Ciclos de Fertilização Assistida / Meire Spressão
São José do Rio Preto, 2016
81p.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP
Eixo Temático: Medicina Interna

Orientador: Prof. Dr. Antonio Hélio Oliani

1. reserva ovariana; 2. fertilização *in vitro*; 3. ultrassonografia; 4. testes da função ovariana.

Meire Spressão

Predição do Desenvolvimento Folicular: Estudo da Reserva
Ovariana em Ciclos de Fertilização Assistida

BANCA EXAMINADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Antonio Hélio Oliani

2º Examinador:

3º Examinador:

4º Examinador:

5º Examinador:

Suplentes:

São José do Rio Preto, ___/___/___.

SUMÁRIO

Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Epígrafe	iii
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	vii
Lista de Abreviaturas	viii
Resumo	x
Abstract	xii
I. Introdução	1
II. Casuística e Método	11
III. Resultados e Discussão	14
IV. Conclusões	36
V. Referências Bibliográficas	37
VI. Apêndices	53
VII. Anexo	80

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, que sonharam tanto com a minha formatura, e com certeza estão orgulhosos em hoje me ver dar um passo a mais em minha formação.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Doutor Antonio Hélio Oliani, pela receptividade ao convite para me orientar na realização deste projeto. Quero agradecer ainda pelo exemplo e prumo que representa para minha vida profissional e pelo apoio que recebi na realização deste trabalho. É uma honra tê-lo como orientador.

À Profa. Dra Denise Cristina Mós Vaz Oliani pelos ensinamentos diários e colaboração na construção desse trabalho, contribuindo com a escolha e processamento das imagens ecográficas.

Ao meu noivo, Raphaello, pelo entusiasmo e paciência que sempre me ouvia, me acalmava e incentivava. Pelo carinho e constante apoio demonstrados. Por estar ao meu lado neste e em todos momentos da minha vida.

Aos meus irmãos, Márcia e Nelson, pela amizade e parceria de sempre, pelas palavras de motivação e incentivo. À Márcia, minha sempre companheira de estudo, agradeço ainda pela ajuda na leitura do trabalho.

Aos meus afilhados, Marina, Mateus, Júlia, Giovanna e Enzo, que me motivam diariamente a ser uma pessoa melhor e um bom exemplo para eles.

À minha madrinha, meus compadres, comadres, amigos e familiares, pelo carinho e força dados nos momentos de muito estudo, pela torcida, pelo incentivo e pela paciência. Em especial ao Marcelo, pela ajuda com análise estatística.

À toda equipe do Instituto de Medicina Reprodutiva e Fetal pelo apoio e companheirismo.

As pacientes que são a motivação de todo nosso estudo, dedicação e trabalho.

EPIGRAFE

Sê humilde para evitar o orgulho, mas voa alto para alcançar a sabedoria

(Santo Agostinho)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Imagem ecográfica bidimensional por via endovaginal do ovário esquerdo evidenciando o corte do ovário em dois eixos com a realização do cálculo do volume ovariano pela medida dos seus três maiores diâmetros. 3
- Figura 2. Imagem ecográfica bidimensional por via endovaginal evidenciando os folículos antrais (setas brancas). A: ovário direito. B: ovário esquerdo. 5
- Figura 3. Imagem ecográfica bidimensional por via endovaginal do ovário direito evidenciando o desenvolvimento de múltiplos cistos foliculares. 13
- Figura 4. Distribuição dos fatores de infertilidade. 14
- Figura 5. Distribuição das frequências da amostra por idade. 15
- Figura 6. Distribuição das frequências da amostra por dosagem de FSH. 16
- Figura 7. Distribuição das frequências da amostra por dosagem de estradiol. 16
- Figura 8. Distribuição das frequências da amostra por dosagem de AMH. 17
- Figura 9. A: Correlação do volume do ovário direito com a idade. B: Correlação do volume do ovário esquerdo com a idade. 18
- Figura 10. A: Correlação do número de folículos antrais do ovário direito com a idade. B: Correlação do número de folículos antrais do ovário esquerdo com a idade. 19

- Figura 11. Correlação do número total de folículos recrutados com a idade. 19
- Figura 12. A: Correlação do número de folículos antrais do ovário direito com seu respectivo volume. B: Correlação do número de folículos antrais do ovário esquerdo com o seu respectivo volume. 21
- Figura 13. Correlação do número total de folículos antrais com o total de folículos recrutados. 22
- Figura 14. Curva ROC da correlação do de volume ovariano com folículos recrutados maiores do que 18 mm. 25
- Figura 15. Curva ROC da correlação do número de folículos antrais com o número de folículos recrutados maiores do que 18 mm. 26
- Figura 16. Curva ROC da correlação do número de folículos antrais com o número de folículos recrutados maiores do que 18 mm em pacientes que tiveram menos que três folículos recrutados (más respondedoras). A: ponto de corte 11 folículos antrais. B: ponto de corte cinco folículos antrais. 27
- Figura 17. Curva ROC da correlação do número de folículos antrais com o número de folículos recrutados maiores do que 18 mm em pacientes que tiveram mais que 15 folículos recrutados (pacientes com risco de síndrome do hiperestímulo ovariano). 28
- Figura 18. A: Relação da idade com volume do ovário direito. B: Relação da idade com volume do ovário esquerdo. Teste Kruskal-Wallis. 29

- Figura 19. A: Relação da dosagem de FSH com volume do ovário direito. B: Relação da dosagem de FSH com volume do ovário esquerdo. Teste Kruskal-Wallis. 29
- Figura 20. A: Relação do número de folículos antrais do ovário direito com o seu respectivo volume. B: Relação do número de folículos antrais do ovário esquerdo com o seu respectivo volume. Teste Kruskal-Wallis. 30
- Figura 21. A: Relação do número total de folículos recrutados com o volume do ovário direito. B: Relação do número total de folículos recrutados com o volume do ovário esquerdo. Teste Kruskal-Wallis. 30
- Figura 22. Relação da idade com o número de folículos antrais. Teste Kruskal-Wallis. 31
- Figura 23. Relação do número de folículos recrutados com o número de folículos antrais. Teste Kruskal-Wallis. 31
- Figura 24. Relação da dosagem de FSH com o número de folículos antrais. Teste Kruskal-Wallis. 32
- Figura 25. Imagem ecográfica de reconstrução tridimensional por via endovaginal do ovário direito evidenciando os folículos antrais através do SonoAVC. 80

LISTA DE TABELA

- Tabela 1. Distribuição das frequências da amostra por idade, dosagens de FSH, estradiol e AMH com sua média, mediana, percentis 25 e 75 e desvio-padrão. 15
- Tabela 2. Correlação de Spearman entre o volume do ovário com a CFA e com o número de folículos recrutados. 21

LISTA DE ABREVIATURAS

AMH - *Anti-Müllerian hormone*

ASRM - *American Society for Reproductive Medicine*

cc - Coeficiente de correlação

CFA - Contagem dos folículos antrais

cm - Centímetro

cm³ - Centímetros cúbicos

FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

FIV - Fertilização “*in vitro*”

FSH - *Follicle-stimulating hormone*

GnRH - *Gonadotropin-releasing hormone*

hCG - *Human chorionic gonadotropin*

IMR- Medicina Reprodutiva e Fetal SS

ISCA/ESCA - Infertilidade ou esterilidade sem causa aparente

L - Litro

LH - *Luteinizing hormone*

MHz - Megahertz

mL - Mililitro

mm - Milímetro

N - Número

ng - Nanograma

P - Percentil

pg - Picograma

POR - *Poor ovarian response*

RA - Reprodução Assistida

ROC - *Receiver operating characteristic*

SHO - Síndrome do hiperestímulo ovariano

SPSS - *Statistical Package for Social Sciences*

UI - Unidades internacionais

RESUMO

Introdução: A pesquisa na infertilidade tem evoluído com estudos constantes e avanço tecnológico. Os objetivos ao avaliar a reserva ovariana são prever as chances de resposta à indução e selecionar a dose “ótima” para a hiperestimulação ovariana. Dentre os aspectos da história clínica, a idade é considerada fator determinante de fertilidade. Trabalhos demonstram aparente correlação entre o volume ovariano, a contagem de folículos antrais e o estado funcional dos ovários. A dosagem sérica basal de hormônio folículo estimulante tem sido utilizada como um marcador de insuficiência ovariana. A dosagem do hormônio anti-Mulleriano tem sido usada como marcador precoce e sensível da reserva ovariana. Esse hormônio está fortemente associado à contagem de folículos antrais. Apesar da importância da medida da reserva ovariana, a melhor maneira de avaliar o *status* folicular corretamente permanece controversa.

Objetivos: O objetivo principal é identificar se os métodos usuais de avaliação da reserva ovariana como a idade, o hormônio folículo estimulante, o volume ovariano e a contagem de folículos antrais são suficientes para a identificação da melhor resposta ao desenvolvimento folicular. O objetivo secundário é verificar se a dosagem de hormônio anti-Mulleriano é auto-suficiente na avaliação da reserva ovariana.

Casística e Método: Estudo retrospectivo de coorte, que envolveu pacientes em tratamento de Reprodução Assistida no Instituto de Medicina Reprodutiva de abril de 2009 a julho de 2014. Foram avaliadas idade, exames bioquímicos e ecografia. Os dados foram analisados na predição do desenvolvimento folicular e suas relações entre si, utilizando para análise estatística o programa Statistical Package for Social Sciences.

Resultados: Dos 293 casais incluídos, 50,2% apresentavam infertilidade por fator ovariano. A média de idade foi de 34,7 anos. Considerando a idade como principal variável, foi observada uma correlação significativa e negativa com volume de ambos ovários (ovário direito $cc=-0,21$; esquerdo $cc=-0,22$; ambos $p<0,0001$), e com contagem de folículos antrais (ovário direito $cc=-0,38$; esquerdo $cc=-0,47$; ambos $p<0,0001$). Considerando contagem de folículos antrais como variável principal, foi observada uma correlação significativa e positiva com total de oócitos recrutados (ovário direito $cc=0,73$; esquerdo $cc=0,72$; total folículos antrais $cc=0,77$; todos $p<0,0001$). Quando correlacionamos contagem de folículos antrais com os folículos recrutados maiores do que 18 mm, observa-se que com um ponto de corte de 12 folículos antrais, tem-se um valor preditivo positivo de 99% e uma área da curva ROC de 0,76. Três grupos de acordo com o número de folículos antrais foram separados: menos que seis, de seis a 15 e mais que 15, observa-se que o primeiro subgrupo apresentou idade maior que os outros grupos ($p<0,0001$) e menor número de folículos recrutados que os outros grupos ($p<0,0001$).

Conclusões: Concluimos com nosso trabalho que a idade e contagem de folículos antrais são eficientes preditores da resposta ovariana em ciclos de Reprodução Assistida. A dosagem de hormônio folículo estimulante e o volume ovariano não são marcadores específicos para a resposta ovariana aos protocolos de indução da ovulação. A dosagem de hormônio anti-Mulleriano parece ser um excelente marcador da reserva ovariana e nos leva à necessidade de novos estudos complementares.

Palavras-chave: reserva ovariana; fertilização *in vitro*; ultrassonografia; testes de função ovariana.

ABSTRACT

Introduction: Research on infertility has evolved with continuing studies and technological advances. As assessing the ovarian reserve, the objectives are to predict the chances of response to the induction and select the “optimal” dose for the ovarian hyperstimulation. Among the aspects of clinical history, age is considered a determining factor of fertility. Studies have demonstrated an apparent correlation between the ovarian volume, the antral follicles count and the functional status of the ovaries. The basal serum follicle stimulating hormone concentration has been used as a marker for ovarian insufficiency. The dosage of anti-Müllerian hormone has been used as early and sensitive marker of ovarian reserve. This hormone is strongly associated with antral follicles count. Despite the importance of the ovarian reserve measurement, the best way to correctly evaluate the follicular status remains controversial.

Purpose: The main objective is to identify whether the usual methods for assessing ovarian reserve as age, follicle stimulating hormone, ovarian volume and antral follicle count are sufficient to identify the best response to follicle development. The secondary objective is to check that the anti-Müllerian hormone dosage is self-sufficient in the ovarian reserve assessment.

Casuietry and Methods: Retrospective cohort study, comprising patients in treatment on Assisted Reproduction at the Institute for Reproductive Medicine, from April 2009 to July 2014. Age, biochemical tests, and ultrasound were assessed. The data were analyzed to predict the follicular development and the relation between themselves using, for statistical analysis, the Statistical Package program for Social Sciences.

Results: Of the 293 couples included, 50.2% had infertility for ovarian factor. The average age was 34.7 years. Considering the age as the main variable, and a significant negative correlation with the volume of both ovaries was observed (right ovary $cc=-0.21$; equerdo $cc=-0.22$; both $p<0.0001$) with antral follicle count (right ovary $cc=-0.38$; left $cc=-0.47$; both $p<0.0001$). Considering antral follicle count as a main variable, a significant positive correlation was observed with total recruited oocytes (right ovary $cc = 0.73$; left $cc = 0.72$, total antral follicles $cc = 0.77$; all $p<0.0001$). When correlated with antral follicle count greater than 18 mm follicles recruited, it is observed that with a cutoff of 12 antral follicles has a positive predictive value of 99% and the area under the ROC curve of 0.76. According to the number of antral follicles, three groups were separated: fewer than six, six to 15 and more than 15, it is observed that the first subgroup showed older age than the other groups ($P<0.0001$), fewer follicles recruited to the other groups ($P<0.0001$).

Conclusions: We concluded in our study that age and antral follicle count are effective predictors of ovarian response in Assisted Reproduction cycles. The dosage of follicle stimulating hormone and the ovarian volume are not specific markers for ovarian response to ovulation induction protocols. The dosage of anti-Mullerian hormone appears to be an excellent marker of ovarian reserve and it stands out to the need for further complementary studies.

Keywords: ovarian reserve; *in vitro* fertilization; ultrasound; ovarian function tests.

I. INTRODUÇÃO

A pesquisa na infertilidade tem evoluído com estudos constantes e grande avanço tecnológico em decorrência do aumento de casais inférteis que procuram os serviços que ofereçam tratamento de Reprodução Assistida (RA) e por acreditarem nos profissionais capazes de auxiliá-los com um aumento das suas possibilidades de sucesso na obtenção de uma gestação.⁽¹⁻⁴⁾

O recrutamento e o desenvolvimento de múltiplos folículos ovarianos em resposta ao estímulo com gonadotrofinas são pontos fundamentais para o tratamento bem sucedido nas técnicas de RA.^(1,4-10) A estimulação ovariana, entre outras razões, aumenta os oócitos efetivos criando mais oportunidades para concepção e corrige pequenas disfunções ovarianas possíveis, mas não perceptíveis clinicamente ou hormonalmente.⁽¹¹⁾ O número de folículos em desenvolvimento durante a estimulação ovariana tem relação direta com a quantidade de oócitos recuperados e influencia o número de embriões disponíveis para seleção, transferência e congelamento.^(2,5,12,13) Assim, está diretamente relacionada com maior ou menor chance de sucesso de gestação.⁽¹⁴⁾

Esta resposta dos ovários é determinada em grande parte pela reserva ovariana que pode ser definida como uma estimativa de oócitos presentes no ovário disponíveis para recrutamento, representando o potencial funcional dos ovários, através do número e da qualidade oocitária.^(4,15-18)

A correta avaliação da reserva ovariana é uma questão central no manejo da paciente submetida à RA.^(2,17,19,20) Seus objetivos são, além de prever as chances de resposta à indução e selecionar a dose “ótima” para a hiperestimulação ovariana,

aconselhar os casais quanto às más respondedoras (*poor responder*) ou com baixa reserva ovariana.^(5,14,21-23)

Trabalhos nos quais se tentam identificar fatores preditivos da resposta à estimulação ovariana estudaram vários métodos, nenhum dos quais completos em si mesmos, quer na sua sensibilidade ou precisão.^(8,19,20,24,25) A história clínica, os parâmetros ultrassonográficos, os testes de estimulação ovariana, as diferentes dosagens hormonais e, inclusive, a biópsia ovariana já foram estudadas com essa finalidade.^(4,9,10,16,17,26,27)

Dentre os aspectos da história clínica, o avanço da idade é considerado fator determinante de fertilidade.^(17,18,28-30) Ocorre diminuição na reserva ovariana e prejuízo na qualidade oocitária que é acompanhada de alterações cromossômicas.⁽¹⁷⁾ Os ovários completam a sua formação na 8ª semana de gestação. Dos seis a sete milhões de oogônias iniciais, sabe-se que a menina nasce com cerca de um a dois milhões de oócitos e que se reduzirão a, aproximadamente, 400 mil até a menarca.⁽³¹⁾ Durante a vida reprodutiva da mulher, são recrutados, todos os meses, entre 700 e 1000 oócitos, independentemente do uso de anticoncepcionais ou de gestação. Portanto, a cada ano são perdidos cerca de 12 mil oócitos, o que leva a consequente diminuição da reserva ovariana.

Levando-se em consideração a união tardia dos casais e a tendência mundial entre as mulheres de retardar a maternidade, a avaliação da sua capacidade de gestar torna-se um desafio frequente para o ginecologista.^(17,28,32) Somam-se a essas mulheres as pacientes com falência prematura dos ovários (ou com história familiar de tal anormalidade) e as submetidas à cirurgia ovariana e à quimioterapia, tratamento este

cada vez mais utilizado não somente nos casos de neoplasias malignas e que pode influenciar negativamente a reserva ovariana.⁽³³⁻⁴⁰⁾

O fator ovariano é responsável por aproximadamente 40% das causas de infertilidade feminina. Já que não é possível alterar a capacidade reprodutiva dos ovários a avaliação da sua reserva, no intuito de indicar o melhor tratamento para indução de ovulação, constitui uma abordagem acessível ao médico para tentar driblar a idade cronológica.^(16,28) Embora a idade tenha grande importância nos fatores preditivos, essa, isoladamente, não assegura um determinado padrão de resposta.^(28,41-45)

Na última década, houve evolução tecnológica dos aparelhos de ecografia, com marcante melhora na resolução de pequenas imagens.⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾ A avaliação ecográfica da morfologia ovariana trouxe importantes avanços na área da RA. Marcadores ultrassonográficos têm sido avaliados como preditores de resposta individualizada nos tratamentos de indução da ovulação.^(42,47-51) Assim, a observação do volume ovariano (figura 1), da contagem dos folículos antrais (CFA) e do fluxo sanguíneo do estroma ovariano têm sido, aparentemente, úteis neste sentido.^(47,52,53)

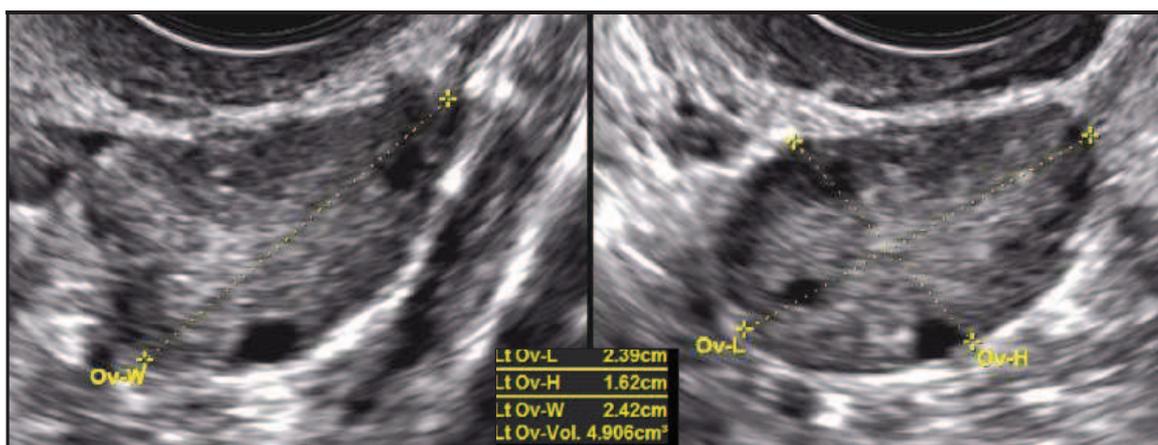


Figura 1. Imagem ecográfica bidimensional por via endovaginal do ovário esquerdo evidenciando o corte do ovário em dois eixos com a realização do cálculo do volume ovariano pela medida dos seus três maiores diâmetros.

O volume ovariano, graças à sua boa acurácia e bom custo-benefício, é uma ferramenta potencialmente útil no acompanhamento de pacientes submetidas à RA, ou que necessitem uso de quimioterápico. Sugere-se que o volume dos ovários em mulheres de 25 a 50 anos esteja diretamente relacionado à população folicular remanescente.⁽¹⁶⁾ Na maioria dos estudos, a medida do volume ovariano é considerada significativa para mau prognóstico reprodutivo quando for menor que 3 cm³.⁽²⁹⁾ Entretanto, o valor dessa medida não é expressivo quando analisado isoladamente, devendo estar associado a outros marcadores de reserva ovariana.⁽¹⁶⁾

Durante a avaliação do ovário na fase inicial do ciclo menstrual, deve ser realizada a exclusão de cisto funcional maior que 16 mm de diâmetro médio, pois a presença de um ou mais cistos que estejam fora de sincronia com o ciclo menstrual não recomenda o início da indução de ovulação, pela ocorrência de um menor índice de sucesso, tanto na estimulação quanto na fertilização, com conseqüente taxa de gestação diminuída.⁽¹¹⁾

A cavidade antral, com líquido folicular em seu interior, é representada à ultrassonografia como pequenas imagens anecóicas arredondadas, sendo o seu registro obtido medindo-se o maior diâmetro de cada folículo. A contagem do número de folículos com diâmetro entre dois e dez milímetros é realizada para definição do número de folículos antrais (figura 2).^(9,13,17,46,54) Considera-se que essa contagem depende do conteúdo (*pool*) folicular primordial no qual os folículos são recrutados. Quanto mais folículos primordiais estiverem presentes, mais folículos poderão crescer.^(16,18,29,51,56) Trabalhos demonstram, até o momento, aparente correlação entre este parâmetro ultrassonográfico e o estado funcional dos ovários.^(14,46,54,56-59)

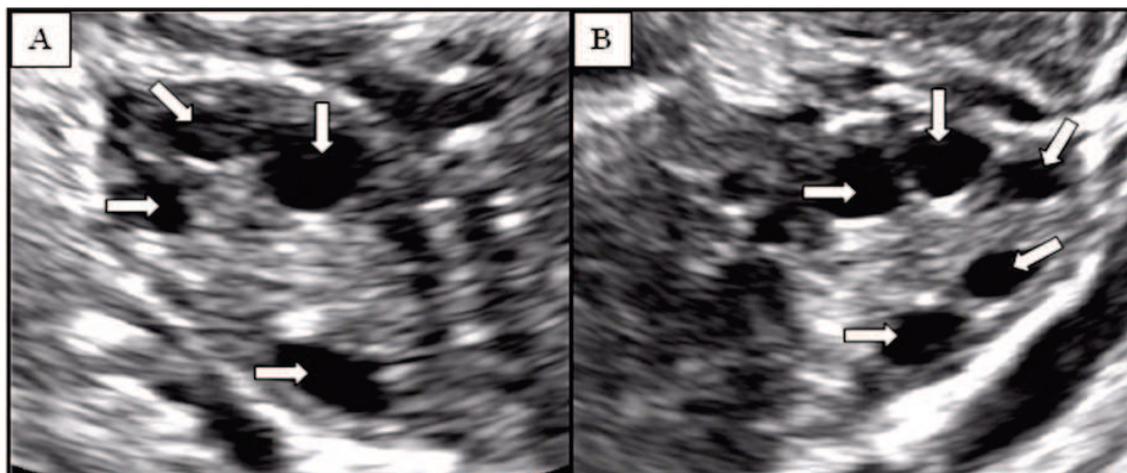


Figura 2. Imagem ecográfica bidimensional por via endovaginal evidenciando os folículos antrais (setas brancas). A: ovário direito. B: ovário esquerdo.

A CFA deve ser realizada entre o primeiro e o terceiro dias do ciclo menstrual. Se visualizados menos de seis folículos antrais considera-se baixa reserva; quando são visualizados entre seis e 15 considera-se média reserva e mais de 30 folículos antrais considera-se alta reserva. Portanto, menos que seis folículos incluiriam as más respondedoras e mais que 30 folículos visibilizados as pacientes que provavelmente possuem os ovários policísticos e tem um risco aumentado de síndrome do hiperestímulo ovariano (SHO).^(9,11,60-63)

Segundo os critérios do Consenso de Bologna de 2010, a paciente pode ser classificada como pobre respondedora, ou *poor ovarian response* (POR) quando apresentar dois dos três critérios listados a seguir: idade materna avançada (≥ 40 anos) ou qualquer outro fator de risco para POR (ou seja, todas as condições genéticas ou adquiridas possivelmente associadas com uma diminuição da quantidade de folículos); má resposta em ciclo induzido anterior (\leq três oócitos após estimulação pelo protocolo convencional); teste anormal de reserva ovariana [CFA de cinco a sete folículos ou hormônio anti-Mulleriano (AMH, do inglês *anti-Mullerian hormone*) de 0,5-1,1

ng/mL]. Ou ainda quando apresenta como critério isolado dois episódios de má resposta em ciclo induzido anterior (\leq três oócitos após estimulação pelo protocolo convencional).^(17,29,39,64-66)

Uma má resposta ovariana pode estar associada com baixas taxas de gravidez e, muitas vezes, ciclos são cancelados sem se conseguir a recuperação de oócitos.^(29,67) A CFA inferior a seis folículos em ambos os ovários pode estar associada a um risco aumentado de cancelamento de ciclo e representa um importante parâmetro de avaliação preditiva de resposta ovariana.^(11,12,29,46,68) Quando comparados entre si, a CFA é superior à medida do volume dos ovários na avaliação de má resposta à fertilização *in vitro* (FIV).^(16,29) A CFA pode ter confiável grau de correlação não apenas com as más respondedoras e suas chances maiores de cancelamento de ciclo, como também com sua relação com o número de oócitos recuperados.^(9,14,29,34,42,47,51,69) Assim, ela poderia ser utilizada no prévio aconselhamento dos casais de forma isolada ou, para alguns autores, em conjunto com marcadores hormonais.^(13,14,42,58,70,71)

Por outro lado, esta capacidade da CFA em prever as chances de cancelamento de ciclo não está representada claramente na literatura. Para alguns autores, as pacientes com possíveis respostas insatisfatórias podem ser mais bem identificadas por exames bioquímicos, como o teste do citrato de clomifeno e o nível basal de hormônio folículo estimulante (FSH, do inglês *follicle-stimulating hormone*).^(12,14)

A concentração basal sérica de FSH e de estradiol no segundo ou terceiro dia do ciclo, antes do emprego das drogas indutoras da ovulação,^(2,5,48,72) têm sido usados, representando um valor preditivo de resposta ovariana.^(5,9,42,73-75)

Níveis elevados de FSH estão fortemente associados com má resposta ovariana, baixos níveis de estradiol, e baixa taxa de gestação em pacientes submetidas à RA,

independente da idade.^(39,76) Contudo, os níveis hormonais podem ter variação entre e durante os ciclos menstruais e, por este motivo, não são aceitos de forma definitiva na literatura.^(5,18,47,77)

A despeito de ser usado em muitos serviços de RA, parece que a dosagem sérica basal de FSH se aplica apenas a uma minoria de pacientes com níveis já elevados deste hormônio,^(52,78) (os valores considerados normais variam entre 3,0 e 15,0 UI/mL), portanto tem sido utilizado como um marcador de insuficiência ovariana.^(40,54,55) Assim, um FSH alto é associado a baixas taxas de sucesso em técnicas de RA.^(16,54)

A relação íntima entre FSH e hormônio luteinizante (LH, do inglês *luteinizing hormone*) na fase folicular do ciclo menstrual sugere que a dosagem de LH basal, que deve variar entre 0,5 e 5,0 UI/L, também possa contribuir na investigação da reserva ovariana.^(1,26) A dosagem desse hormônio pode acrescentar dados relevantes à estimativa da reserva ovariana, principalmente na vigência de valores de FSH anormalmente elevados.⁽¹⁶⁾

Sugere-se que o estradiol basal, que deve ser menor que 60,0 ou 80,0 pg/mL, possa prever má-resposta ovariana quando elevado, mesmo frente a valores normais de FSH.⁽¹⁶⁾

Tem sido estudada a aplicabilidade de outros parâmetros de avaliação da reserva folicular ovariana, como os níveis de inibina B e de AMH.^(5,47,75,79-84) Atualmente, a dosagem do AMH tem sido usada como marcador precoce e sensível da reserva ovariana.^(8,19,20,29,30,75,84-88)

O AMH é produzido pelas células de Sertoli. Essa substância foi inicialmente estudada por seu papel regulador na diferenciação sexual masculina. Recentemente, entretanto, descobriu-se que o AMH começa a ser expresso no ovário fetal após a 36ª

semana de gestação. É secretado apenas pelas células da granulosa dos folículos ovarianos em crescimento: primários, secundários, pré-antrais e antrais precoces.^(43,54,63,88-93) Tem dois principais mecanismos de ação no ovário: inibe o recrutamento inicial dos folículos primários a partir dos folículos primordiais e, secundariamente, inibe a sensibilidade dos folículos antrais ao FSH durante o recrutamento cíclico. O AMH previne a depleção prematura dos folículos.^(10,20,94,95)

Como somente os folículos em crescimento produzem AMH, pode-se dosá-lo, de forma confiável, apenas quando o potencial reprodutivo é atingido.^(16,20) Seus níveis plasmáticos refletem a quantidade de folículos primordiais remanescente, assim esse hormônio está fortemente associado à CFA.^(2,13,30,46,55,93) Em pacientes com síndrome dos ovários policísticos o AMH comumente está elevado.^(10,46,72,96)

Recentemente, houve uma modificação no protocolo de avaliação do AMH para uma padronização mundial nos resultados. Novos valores de referência foram adequados para esse novo protocolo: menor ou igual a 1,0 ng/mL reserva ovariana diminuída; entre 1,1 e 2,0 ng/mL reserva ovariana limítrofe; entre 2,1 e 5,0 ng/mL reserva ovariana normal e maior que 5 ng/mL reserva ovariana aumentada.^(97,98)

É um indicador muito conveniente e sensível do esgotamento e recuperação folicular em mulheres jovens durante e após a quimioterapia, dessa forma, sugere-se que o AMH também possa representar um marcador de lesão ovariana.^(33,55,85,99) Pode indicar o grau de toxicidade causado por tais drogas e ser útil para a elaboração de estratégias para a preservação da fertilidade e aconselhamento sobre fertilidade.^(55,77,99)

Sugere-se que esse hormônio constitua um bom indicador do provável número de oócitos a serem obtidos após estimulação ovariana em técnicas de RA. A partir desse raciocínio, o AMH tem sido mencionado como o melhor marcador para a pesquisa da

reserva ovariana.^(46,93) Sabe-se que mulheres normo-ovulatórias demonstram concentrações decrescentes de AMH com o passar da idade,^(46,85,100) sendo essas mudanças detectadas mais precocemente que outras alterações hormonais, como o aumento do FSH e a baixa da inibina-B, assim como a diminuição folicular demonstrável pela CFA.^(2,92,101) Acredita-se que as alterações dos marcadores da função ovariana na mulher se iniciam com um declínio sérico do AMH, seguido pela diminuição de inibina-B e, por último, o aumento de FSH.^(2,101)

Contraopondo-se ainda ao FSH, a inibina B e ao estradiol, o AMH também apresenta a vantagem da pequena variabilidade em suas concentrações ao longo do ciclo menstrual e sem impacto clínico, o que lhe confere confiabilidade de resultados e facilidade de coleta pelo fato de poder ser testado em qualquer dia do ciclo menstrual.^(19,38,46,55,102) Uma única medição aleatória de AMH tem sensibilidade de 80% e especificidade de 93% para prever má resposta ou baixa reserva.⁽¹⁶⁾

Ao contrário das conclusões iniciais, hoje, com estudos longitudinais prospectivos, é claro que o estado hormonal influencia a ativação e desenvolvimento folicular, tendo impacto também nas concentrações de AMH.^(46,85) Gestação, uso de análogo de hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH, do inglês *Gonadotropin-releasing hormone*) e contraceptivos hormonais reduzem as concentrações de AMH.⁽⁴⁶⁾

Apesar da importância da medida da reserva ovariana, a melhor maneira de avaliar o *status* folicular corretamente permanece controversa.⁽²⁾ Um bom teste de reserva ovariana deve ser preditivo de concepção (com ou sem tratamento) e deve indicar a duração provável da atividade dos ovários. Além disso, deve apontar a dose ideal de estimulação ovariana e a chance de se conseguir sucesso gestacional.^(103,104)

OBJETIVOS

O objetivo principal é identificar se os métodos usuais de avaliação da reserva ovariana como a idade, o hormônio folículo estimulante, o volume ovariano e a contagem de folículos antrais são suficientes para a identificação da melhor resposta ao desenvolvimento folicular.

O objetivo secundário é verificar se a dosagem de hormônio anti-Mulleriano é auto-suficiente na avaliação da reserva ovariana.

II. CASUÍSTICA E MÉTODO

Após aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP (parecer número 18617), este estudo foi desenvolvido no Instituto de Medicina Reprodutiva e Fetal SS - IMR - de São José do Rio Preto, São Paulo, entidade conveniada com a FAMERP, através do processo F-001-005391/2005. Trata-se de estudo tipo retrospectivo de Coorte, que envolveu pacientes de Infertilidade Conjugal.

No período de abril de 2009 a julho de 2014, 379 pacientes foram submetidas à indução de ovulação para Reprodução Assistida (RA) de alta complexidade no IMR e selecionadas para este trabalho. Foram incluídas 293 pacientes, após assinatura de consentimento informado e sem prejuízo ao tratamento proposto.

As pacientes incluídas neste trabalho foram avaliadas, além da sua idade cronológica, através de exames bioquímicos (hormônio folículo estimulante e estradiol e/ou hormônio anti-Mulleriano) e da ecografia para análise da reserva ovariana.

Foram excluídas as pacientes com suspeita de gravidez; as pacientes que fariam procedimento com ovorecepção; as submetidas à ooforectomia e/ou ooforoplastia uni ou bilateral; as que realizaram a ecografia em outros serviços; as pacientes em que um ovário não foi visualizado no ultrassom basal; as com cisto ovariano residual (maior do que 16 mm de diâmetro médio) no momento do primeiro ultrassom; as que apresentaram dosagens de FSH maior que 15 UI/mL.

Os dados clínicos foram colhidos através da anamnese realizada pela autora do trabalho ou membros da sua equipe e de coleta de dados de prontuário médico.

Foram colhidas amostras de sangue para dosagem de FSH e estradiol no mesmo dia da primeira ecografia, sempre antes do início do estímulo. Dosagens de AMH foram

realizadas antes do início do tratamento. Os ecografistas tiveram acesso aos resultados dos exames laboratoriais.

O exame ecográfico foi realizado utilizando aparelhos de ultrassonografia da marca Medison, modelo ACCUVIX XP e da GE, modelo Voluson E8, com transdutor endocavitário de 5-12 MHz adequadamente preparado para a realização do exame endovaginal, realizado sempre pelos mesmos operadores (a autora do trabalho e outras três médicas do corpo clínico do IMR), com duração de 10 a 20 minutos. A ecografia foi realizada entre o primeiro e terceiro dia do ciclo menstrual.

Durante o exame a paciente foi orientada a esvaziar a bexiga e colocada em posição de semi-litotomia para introdução do aparelho até se obter uma imagem ultrassonográfica adequada dos ovários. Seu volume foi calculado pela medida dos seus três maiores diâmetros. Foi realizada também a contagem de folículos antrais. Os folículos antrais são representados à ultrassonografia como pequenas imagens anecóicas arredondadas, com diâmetro entre dois e dez milímetros, sendo o seu registro obtido medindo-se o maior diâmetro de cada folículo. A contagem do número de folículos é realizada através da varredura dos ovários pela via endovaginal.

Uma nova ecografia seriada foi realizada entre seis e oito dias após o início da estimulação ovariana para avaliar o desenvolvimento dos folículos ovarianos (figura 3). A partir daí, o controle ultrassonográfico foi realizado com frequência individualizada para cada caso. Realizaram-se controles a cada dois dias até se atingir folículos com 16 mm de diâmetro médio e após diário até se obter folículos com 18 mm ou mais para a maturação final com gonadotrofina coriônica humana (hCG, do inglês *human chorionic gonadotropin*).⁽¹¹⁾ O acompanhamento ecográfico possibilitou o ajuste de dose se necessário ou cancelamento do ciclo na ausência de resposta adequada.

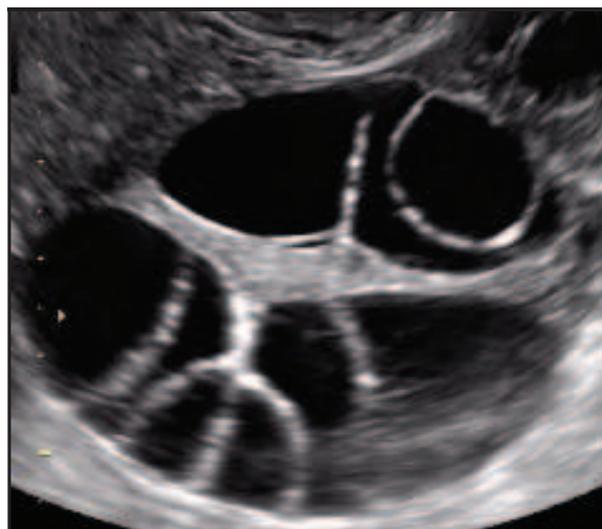


Figura 3. Imagem ecográfica bidimensional por via endovaginal do ovário direito evidenciando o desenvolvimento de múltiplos cistos foliculares.

Neste estudo foram analisados os parâmetros ultrassonográficos (volume ovariano, CFA, dados do desenvolvimento folicular), as idades das pacientes e os resultados laboratoriais (dosagens séricas de FSH, estradiol e AMH) utilizados na predição do desenvolvimento folicular, além das suas relações entre si.

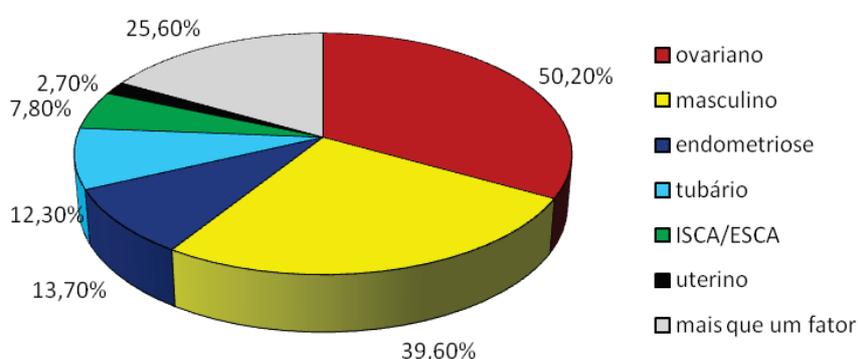
Os dados colhidos foram tabulados e submetidos à análise estatística usando o programa *Statistical Package for Social Sciences for Windows package* (SPSS, version 20, Chicago, USA).

A associação entre as variáveis foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. Utilizamos a curva ROC (*receiver operating characteristic*) para determinarmos o ponto de corte, as sensibilidades, as especificidades e os valores preditivos dos testes. A comparação entre os subgrupos de número de folículos antrais e volume ovariano foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis. Um valor $P < 0,005$ foi considerado estatisticamente significativo.

Esse projeto não requereu apoio financeiro para ser desenvolvido.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 293 casais incluídos neste trabalho, 50,2% apresentavam infertilidade por fator ovariano; 39,6% por fator masculino; 13,7% por endometriose; 12,3% por fator tubário; 7,8% sem fator definido e classificadas como infertilidade ou esterilidade sem causa aparente (ISCA/ESCA); 2,7% por fator uterino; e 25,6% possuíam mais de um fator de infertilidade, conforme demonstrado na figura 4.



ISCA/ESCA: infertilidade ou esterilidade sem causa aparente.

Figura 4. Distribuição dos fatores de infertilidade.

Mutlu *et al.* incluíram no seu estudo 192 pacientes do programa de fertilização *in vitro* (FIV), com diferentes etiologias: masculina 36,5%, tubária 14,5%, anovulação 3,5%, inexplicadas 45,5%.⁽⁴²⁾ Das 156 pacientes incluídas no estudo de Reijnders *et al.* 31,2% apresentavam infertilidade por endometriose; 26,2% por fator masculino; 25% por fator tubário; 17,4 % por desordem do ciclo menstrual e 13,5 % por ISCA/ESCA.⁽⁸⁷⁾

A média de idade foi de 34,7 anos, variando entre 23 e 47 anos; o hormônio folículo estimulante basal teve uma média de 4,3 UI/mL, variando entre 0,2 e 14,6 UI/mL, o estradiol 18,4 pg/mL e o hormônio anti-Mulleriano 1,4 ng/mL variando entre 0,3 e 3,6 ng/mL. A tabela 1 apresenta média, desvio padrão, mediana, percentis 25 e 75 dessas variáveis. As figuras de 5 a 8 mostram, em porcentagens, a distribuição dessas variáveis na amostra.

Tabela 1. Distribuição das frequências da amostra por idade, dosagens de FSH, estradiol e AMH com sua média, mediana, percentis 25 e 75 e desvio-padrão.

variável	N	P25	Média	P75	Mediana	Desvio- padrão
Idade	293	31,0	34,7	38,0	35,0	4,5
FSH	233	2,0	4,3	5,6	3,2	3,4
Estradiol	203	5,6	18,4	23,7	11,2	17,7
AMH	15	0,5	1,4	1,9	0,8	1,2

N: número de mulheres na amostra; P: percentil; FSH: *follicle-stimulating hormone*; AMH: *anti-Müllerian hormone*.

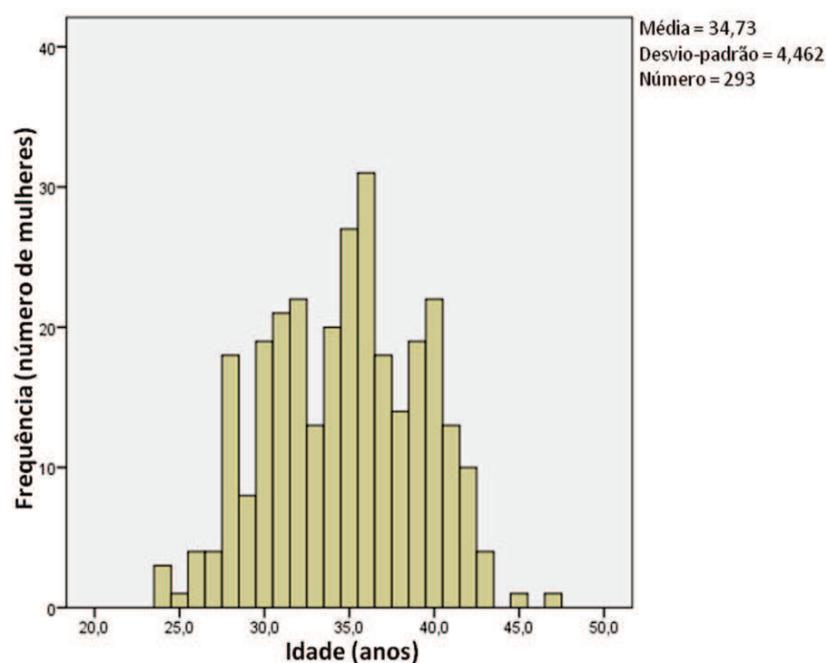
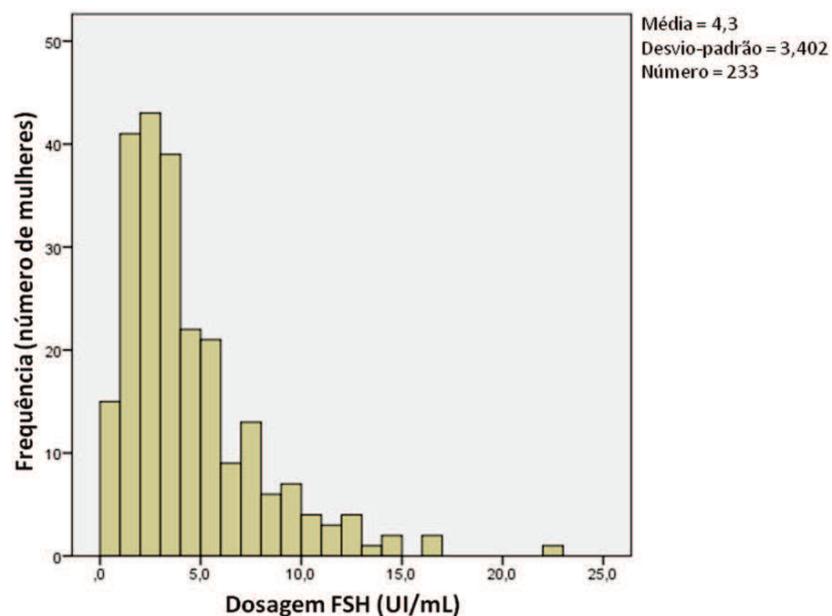


Figura 5. Distribuição das frequências da amostra por idade.



FSH: *follicle-stimulating hormone*.

Figura 6. Distribuição das frequências da amostra por dosagem de FSH.

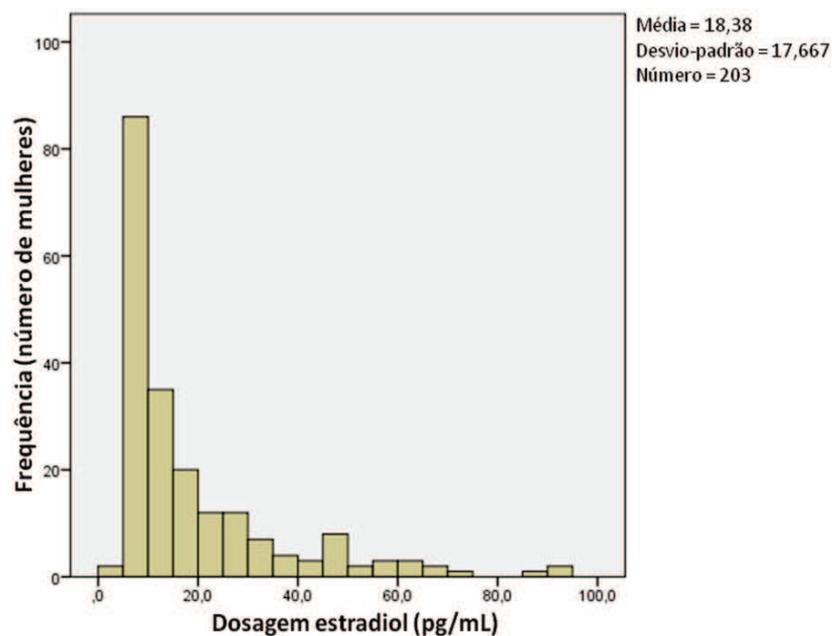
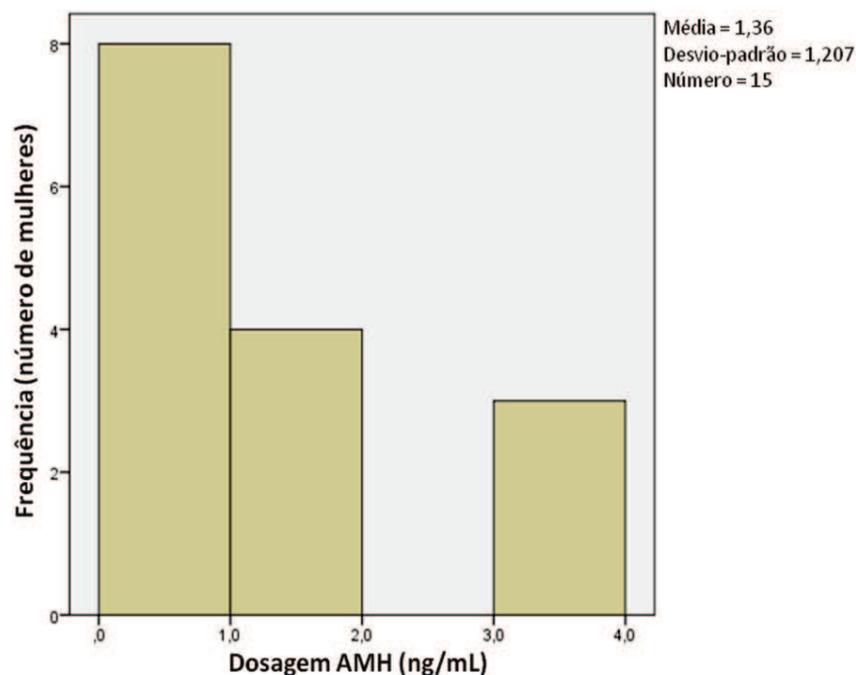


Figura 7. Distribuição das frequências da amostra por dosagem de estradiol.



AMH: anti-Müllerian hormone.

Figura 8. Distribuição das frequências da amostra por dosagem de AMH.

Nelson *et al.* obtiveram média de idade de 30,5 anos e de FSH basal uma média de 4,0 UI/mL.⁽¹³⁾ Broer *et al.* encontraram uma média de idade de 34,3 anos; de FSH basal uma média de 7,8 UI/L, e o AMH de 2,1 ng/mL.⁽¹⁴⁾ Aboulghar *et al.* encontraram uma média de idade de 34 anos,⁽³⁰⁾ enquanto Cakmak *et al.* estudaram as pobres respondedoras e tiveram média de idade de 41,5 anos.⁽⁶⁷⁾

A medida do volume ovariano e da contagem de folículos antrais (CFA) foram calculadas nas 293 pacientes, obtendo-se a média de 4,5 cm³ no volume e 7,7 no número médio de folículos antrais para o ovário direito e média, respectivamente, de 4,3 cm³ e 7,3 para o esquerdo.

Cakmak *et al.* no mesmo estudo com pobres respondedoras, tiveram média de CFA de seis,⁽⁶⁷⁾ Broer *et al.* encontraram uma média na CFA de 11,6⁽¹⁴⁾ e Souza *et al.* de 7,1.⁽⁴⁷⁾

Considerando a idade como a principal variável, foi observada uma correlação significativa e negativa com o volume de ambos ovários (ovário direito $cc= -0,21$; esquerdo $cc= -0,22$; ambos $P<0,0001$), com CFA (ovário direito $cc= -0,38$; esquerdo $cc= -0,47$; ambos $P<0,0001$) e com total de folículos recrutados ($cc= -0,47$; $P<0,0001$), conforme figuras de 9 a 11. Isto significa uma forte correlação de que quanto maior a idade, menor o volume dos ovários, o número de folículos antrais e o número de folículos recrutados. A associação inversa da idade da mulher com a CFA já se encontra demonstrada por alguns autores em outros trabalhos publicados.^(16,17,47,58,62,69) Barbakadze *et al.* apresentam dados semelhantes aos nossos, descrevendo que a idade mostrou correlação negativa com a CFA.⁽⁹⁹⁾ Oehninger *et al.* como no nosso trabalho, relatam que o avançar da idade aumenta o risco de baixa resposta à indução de ovulação.⁽²³⁾

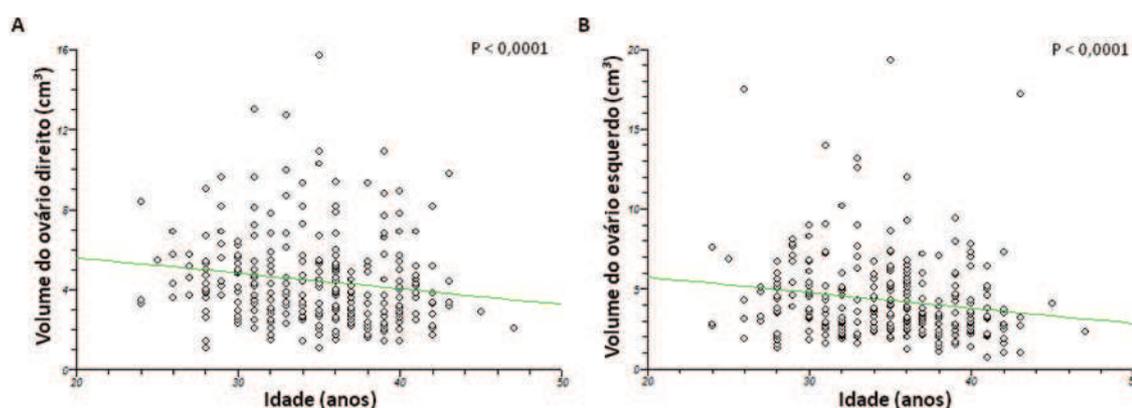


Figura 9. A: Correlação do volume do ovário direito com a idade. B: Correlação do volume do ovário esquerdo com a idade.

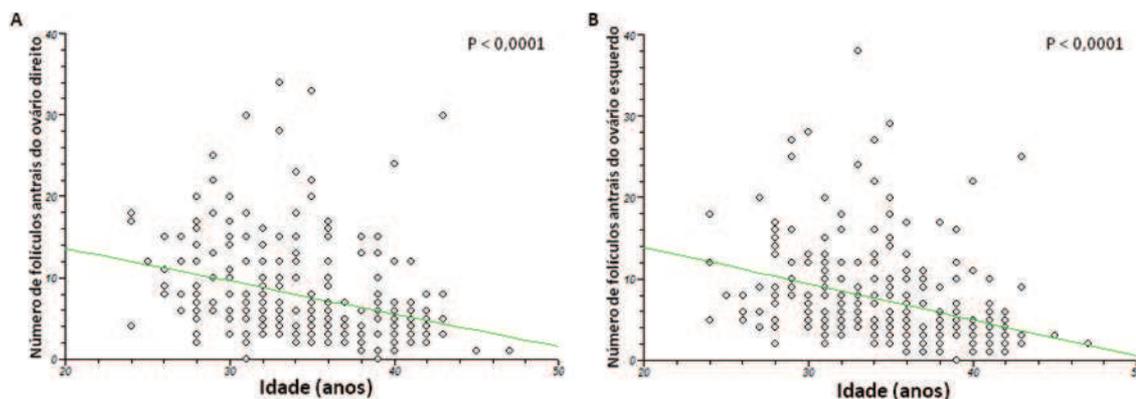


Figura 10. A: Correlação do número de folículos antrais do ovário direito com a idade. B: Correlação do número de folículos antrais do ovário esquerdo com a idade.

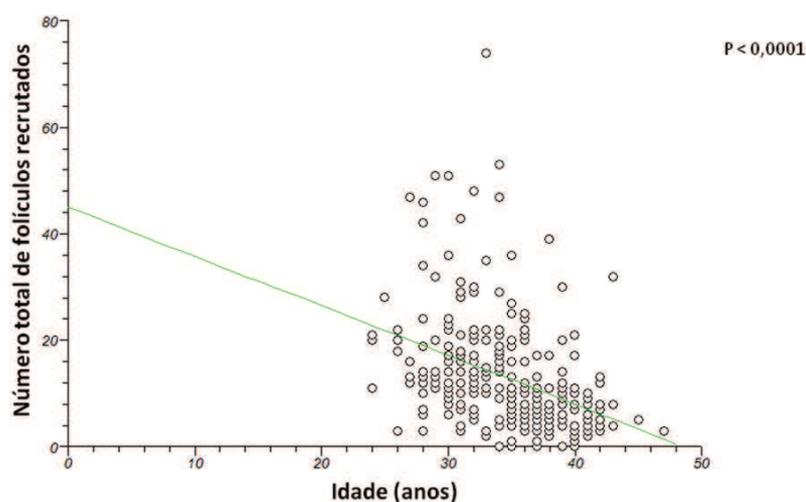


Figura 11. Correlação do número total de folículos recrutados com a idade.

Famoso estudo de Menken *et al.* publicado em 1986, apresenta que mulheres de países diferentes e em diferentes décadas (antes de 1600 a 1930), apresentaram redução da fertilidade com o passar da idade.⁽¹⁰⁵⁾

Choi *et al.* relatam que antes da primeira fertilização *in vitro* de uma paciente, 60% de seu prognóstico é previsto por sua idade e 40% por outros fatores clínicos.⁽¹⁰⁶⁾

Jehan *et al.* observaram que a idade materna avançada (maior que 35 anos) está

associada à redução da fertilidade e eventos gestacionais adversos, devido a queda na qualidade oocitária.^(17,31,39)

Como exposto pelo Comitê da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva [*American Society for Reproductive Medicine (ASRM)*] a fecundidade feminina diminui mais rapidamente após os 37 anos. Além disso, com o avançar da idade aumenta a chance de outras desordens que podem ter efeito adverso na fertilidade, como: leiomiomas, disfunção tubária e endometriose; aumento da taxa de aneuploidias e de abortamento espontâneo.⁽³¹⁾ Recomenda atenção aumentada ao efeito da idade ao orientar mulheres que desejam engravidar, e nas acima de 35 oferecer tratamento depois de seis meses de falha na tentativa de engravidar, ou antes, se houver indicação clínica.⁽³¹⁾

Aboulghar *et al.* descrevem que a idade permanece como o determinante primário do sucesso em ciclos de RA, porém, em qualquer idade, mulheres com níveis elevados de AMH tem maior taxa de sucesso do que as com níveis mais baixos de AMH e na mesma faixa etária.⁽³⁰⁾

Considerando o volume de ambos os ovários como variável principal, foi observada uma correlação significativa e positiva com a CFA do respectivo ovário e com total de folículos recrutados, conforme tabela 2 e figura 12. Isto significa que quanto maior o volume do ovário, maior o número de folículos antrais do respectivo ovário e maior o numero de folículos recrutados.

Tabela 2. Correlação de Spearman entre o volume do ovário com a CFA e com o número de folículos recrutados.

Variável	P	CFA D	CFA E	Folículos recrutados
volume ovário direito	<0,0001	0,593		0,489
volume ovário esquerdo	<0,0001		0,560	0,438

P: percentil; CFA D: contagem folículos antrais do ovário direito; CFA E: contagem folículos antrais do ovário esquerdo

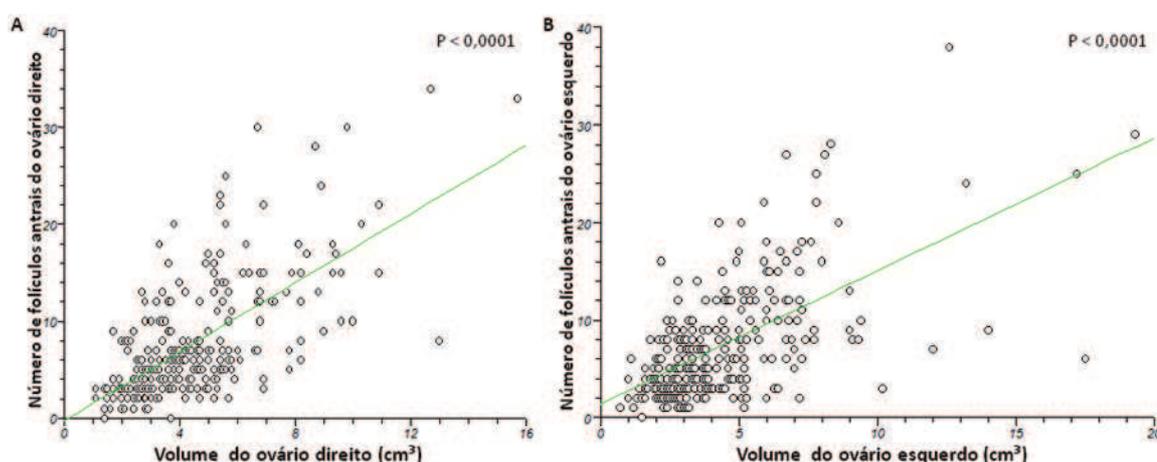


Figura 12. A: Correlação do número de folículos antrais do ovário direito com seu respectivo volume. B: Correlação do número de folículos antrais do ovário esquerdo com o seu respectivo volume.

Em relação ao volume ovariano, encontramos associação desta variável com a resposta ovariana. Alguns estudos já demonstraram que a sua redução está relacionada à má resposta a estimulação ovariana,⁽¹⁷⁾ porém a sensibilidade e especificidade são menores se comparadas à CFA.^(16,29,107)

Considerando a CFA como variável principal, foi observada uma correlação significativa e positiva com total de folículos recrutados (ovário direito $cc=0,73$;

esquerdo $cc=0,72$; total folículos antrais $cc=0,77$; todos $P<0,0001$) conforme figura 13.

Isto significa que quanto maior a CFA maior o número de folículos recrutados.

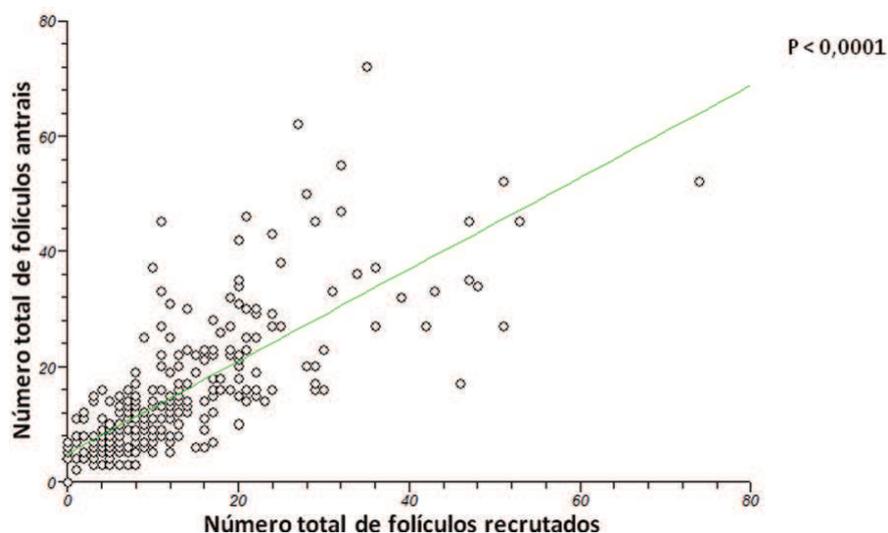


Figura 13. Correlação do número total de folículos antrais com o total de folículos recrutados.

Também houve correlação positiva significativa entre a CFA e o número de folículos recrutados no estudo de Souza *et al.*⁽⁴⁷⁾ Observaram ainda que a CFA teve o melhor valor preditivo, quando comparado com o FSH basal, índice de massa corpórea e idade.⁽⁴⁷⁾ Magalhães *et al.* descreveram que o poder preditivo da CFA é significativamente semelhante à concentração sérica de AMH,^(73,108) e são os mais sensíveis.⁽⁷³⁾

Contraopondo, Nelson *et al.* relatam que CFA é pior preditor da resposta ovariana comparado ao AMH, e não adiciona nenhum valor além do qual o AMH adiciona.⁽¹³⁾

Considerando a dosagem de FSH como variável principal, foi observada uma correlação significativa e positiva com a dosagem do estradiol ($cc=0,20$; $P=0,004$). Isto significa que quanto maior a dosagem do FSH, maior a dosagem do estradiol. Correlacionando FSH com idade ($cc=0,49$; $P=0,45$) e CFA (ambos os ovários $cc=0,07$; $P=0,24$) obtivemos correlação positiva, porém não estatisticamente significativa. E com folículos recrutados ($cc= -0,27$; $P=0,68$) obtivemos correlação negativa, e também não estatisticamente significativa.

Oehninger *et al.* e Surekha *et al.* confirmam os dados do nosso estudo quando comparamos a falta de associação significativa de FSH com a reserva ovariana ao contrário dos outros marcadores específicos como o AMH e a CFA.^(23,24) Surekha *et al.* concluíram ainda que a dosagem de FSH juntamente com a de estradiol é melhor marcador da reserva ovariana do que a dosagem de FSH isolada.⁽²⁴⁾

Em outro estudo retrospectivo, Chuang *et al.* concluíram que o FSH basal é um bom marcador do *pool* folicular remanescente.^(17,109) Magalhães *et al.* descreve que é difícil encontrar associações entre o nível basal de FSH e a contagem folicular quando pacientes com valores de FSH superior a 15 IU/mL forem excluídas do estudo,⁽¹⁰⁸⁾ como foi feito no nosso trabalho. Por outro lado, Abdalla *et al.* sugerem que uma taxa elevada de FSH (>10 UI/mL) não deve ser um critério de exclusão de pacientes para tratamento por FIV, já que o teste representa o aspecto quantitativo e não qualitativo da reserva ovariana, ou seja, apesar de possuir um baixo *pool* folicular, uma paciente não necessariamente apresentará uma má qualidade oocitária, especialmente se for jovem (idade até 38 anos).^(16,110) Huang *et al.* concordam que pacientes com níveis elevados de FSH não devem ser desencorajadas a fazer tratamento de FIV, uma vez que este aumenta a chance de gestação dessas mulheres.⁽³⁹⁾

O AMH versus a idade mostrou correlação negativa ($cc = -0,33$; $P = 0,21$); correlacionando o AMH com o volume dos ovários obtivemos valores positivos (direito $cc = 0,49$; $P = 0,06$ e esquerdo $cc = 0,28$; $P = 0,30$); e correlacionando o AMH com a CFA obtivemos também valores positivos (direita $cc = 0,48$; $P = 0,06$ e esquerda $cc = 0,37$; $P = 0,17$). Estas correlações positivas e negativas do AMH não foram estatisticamente significantes, provavelmente devido ao pequeno número de pacientes que colheram a amostra sérica para este novo tipo de marcador.

Iliodromiti *et al.* descrevem declínio progressivo das concentrações de AMH com o avançar da idade.⁽⁴⁶⁾ Outros estudos descreveram uma forte correlação entre o número de folículos antrais e o nível basal sérico de AMH.⁽⁸⁸⁾ Esta relação pode ser explicada pelo fato do AMH ser produzido pelas células da teca dos folículos antrais, portanto quanto maior o número de folículos antrais maior quantidade de hormônio será produzida, aumentando a sua concentração no sangue.^(17,108)

Vural *et al.* indicam que a CFA e dosagem de AMH tem igual poder na predição da resposta ovariana.⁽²⁾ Outros estudos sugerem que esse hormônio constitua um bom indicador do provável número de oócitos a serem obtidos após estimulação ovariana em técnicas de RA.^(20,51) Também concluem que outros marcadores, como FSH e estradiol, não se associam fortemente à CFA, indicando, portanto, a superioridade do AMH para esse propósito.^(16,108)

Panchal *et al.* mostram que a CFA e dosagem do AMH baixas são os preditores mais significativos de má resposta à estimulação ovariana.^(46,73) Tanto isoladamente ou em combinação têm um poder de predição semelhante.⁽⁷³⁾

Ao se fazer a correlação de volume ovariano com folículos recrutados maiores do que 18 mm observa-se que, com um ponto de corte do volume de 2,6 cm³ em pelo

menos um ovário, existe uma sensibilidade de 81%, com valor preditivo positivo de 97% e área na curva ROC de 0,73 (95% IC=0,63-0,83) (figura 14).

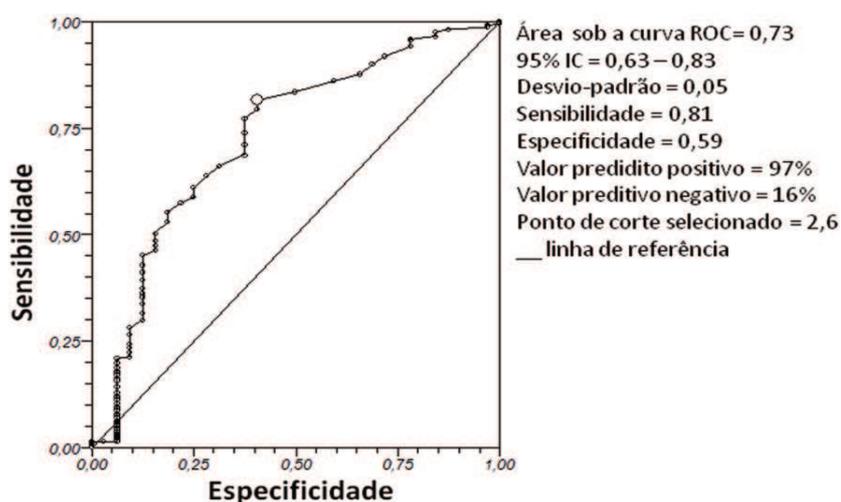


Figura 14. Curva ROC da correlação do de volume ovariano com folículos recrutados maiores do que 18 mm.

Nesta amostra, não se estabeleceu um valor preditivo de volume ovariano com relação às chances de não se obter resposta ovariana. Entretanto, foi estudado que até um ponto de corte de volume de 2,0 cm³ não se mostrou estatisticamente significativa.

Já, quando correlacionamos a CFA com os folículos recrutados maiores do que 18 mm, observamos que com um ponto de corte de 12 folículos antrais, temos um valor preditivo positivo de 99% e uma área da curva ROC de 0,76 (95% IC=0,64-0,88) (figura 15).

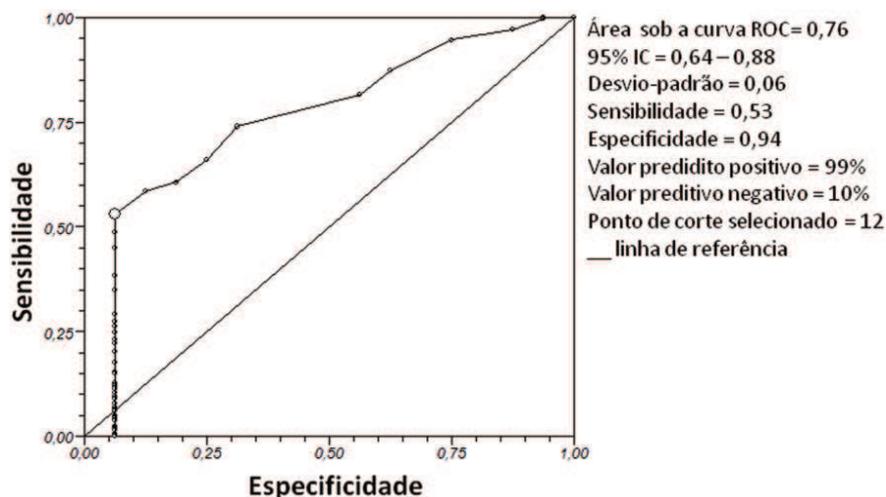


Figura 15. Curva ROC da correlação do número de folículos antrais com o número de folículos recrutados maiores do que 18 mm.

Ao se fazer a correlação de CFA com pacientes que tiveram menos de três folículos recrutados maiores do que 18 mm (más respondedoras) observa-se, quando se utiliza um ponto de corte de 11 folículos antrais, uma sensibilidade de 77%, especificidade de 68% e uma área na curva ROC de 0,78. Quando se utiliza um ponto de corte de cinco folículos antrais observa-se uma sensibilidade de 26%, especificidade de 93% e uma área sobre a curva ROC de 0,78 (figura 16).

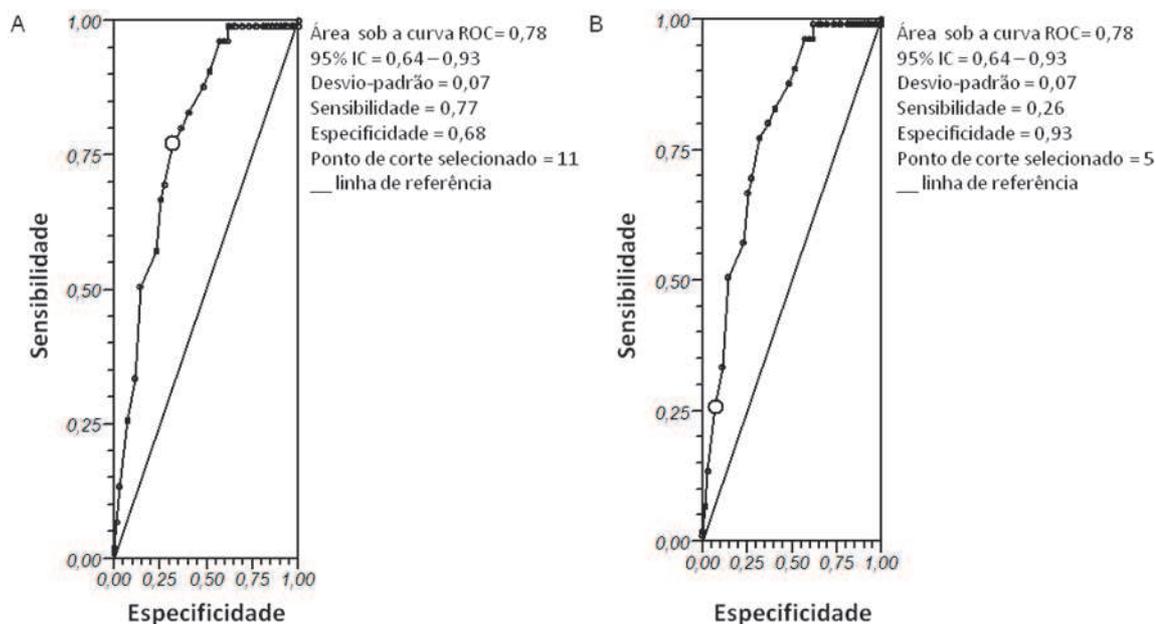


Figura 16. Curva ROC da correlação do número de folículos antrais com o número de folículos recrutados maiores do que 18 mm em pacientes que tiveram menos que três folículos recrutados (más respondedoras). A: ponto de corte 11 folículos antrais. B: ponto de corte cinco folículos antrais.

Broer *et al.* encontraram uma sensibilidade de 82% e uma especificidade de 80% para predição de baixa resposta. ⁽¹¹¹⁾ Kwee *et al.* encontraram baixa resposta com uma CFA inferior a seis, mesmo ponto de corte que nós utilizamos, com sensibilidade de 73% e especificidade de 95%. ⁽¹¹²⁾

A maioria dos dados bibliográficos levantados concorda que a CFA pode ser usada como *screening* para detectar prováveis pobres respondedoras ou com baixa reserva e tem o melhor valor preditivo do número de oócitos que serão captados nos ciclos de FIV. ^(9,13,29,88,113)

Já, ao se fazer a correlação de CFA com pacientes que tiveram mais de 15 folículos recrutados maiores do que 18 mm recrutados (pacientes com risco de síndrome do hiperestímulo ovariano), observa-se, quando se utiliza um ponto de corte de 15

folículos antrais, uma sensibilidade de 97%, especificidade de 70% e uma área na curva ROC de 0,91 (figura 17).

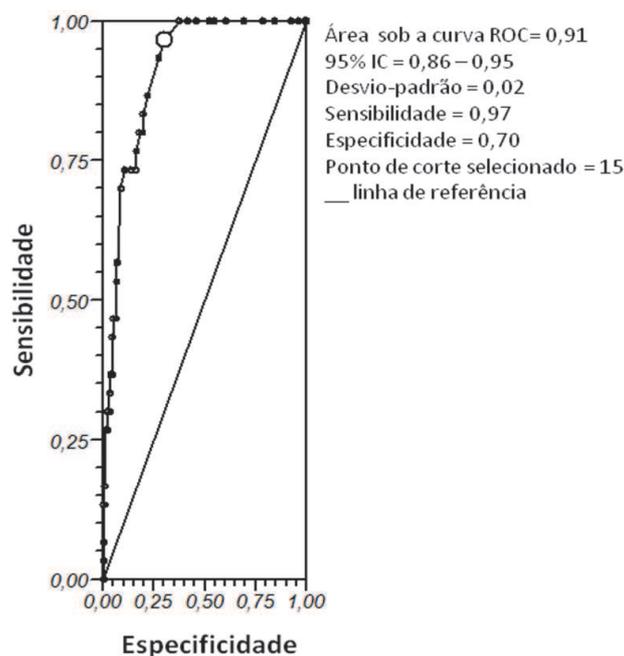


Figura 17. Curva ROC da correlação do número de folículos antrais com o número de folículos recrutados maiores do que 18 mm em pacientes que tiveram mais que 15 folículos recrutados (pacientes com risco de síndrome do hiperestímulo ovariano).

Para predição de risco para síndrome do hiperestímulo ovariano (SHO), Aflatoonian *et al.* encontraram sensibilidade de 89% e especificidade de 92% para a CFA com ponto de corte de ≥ 16 . Mostraram ainda que a CFA e o AMH tem precisão semelhante, com área sob a curva ROC de 0,961 e 0,922, respectivamente.⁽¹¹³⁾ Martins *et al.* utilizaram 20 folículos e Jayaprakasan *et al.* utilizaram 24 folículos como ponto de corte e demonstraram que essas mulheres tem risco aumentado de SHO.^(114,115) Nastri *et al.* apresentam em uma revisão sistemática que a avaliação através da CFA e dosagem de AMH antes de ciclo de indução de ovulação permite a predição do risco de SHO e

que outros parâmetros basais, tais como a idade e níveis de FSH têm menor acurácia preditiva.⁽⁶¹⁾

Dividindo em três grupos pelo volume do ovário: menor que 3 cm³, de 3 a 10 cm³ e maior que 10 cm³, observamos que o subgrupo das mulheres com volume menor que 3 cm³ apresentou idade (P=0,01) e dosagem de FSH (P=0,02) maiores do que o grupo entre 3 e 10 cm³ (igual para o ovário direito e esquerdo) conforme figuras 18 e 19 na qual foram utilizados o teste Kruskal-Wallis para amostras independentes.

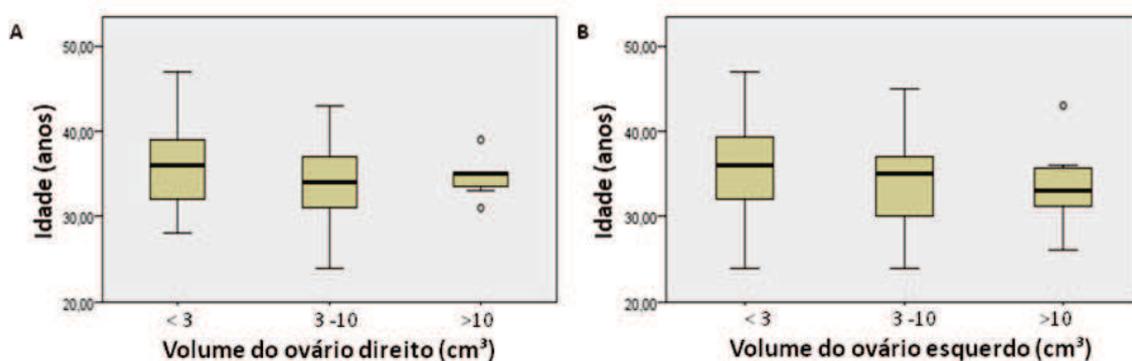
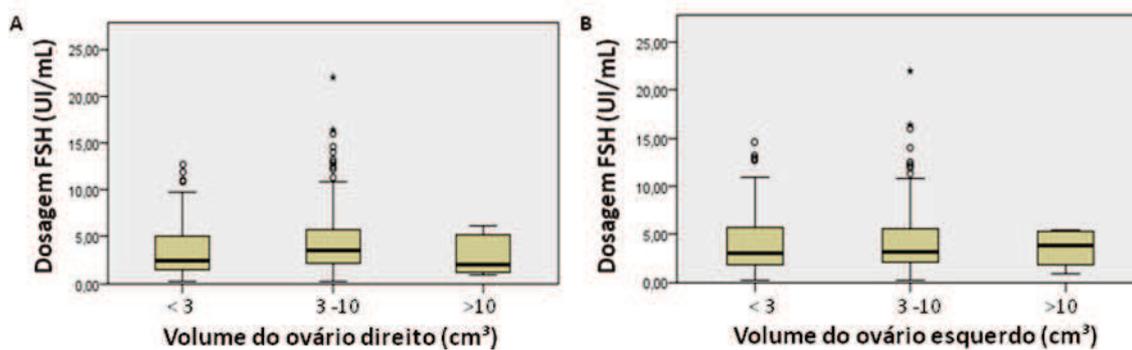


Figura 18. A: Relação da idade com volume do ovário direito. B: Relação da idade com volume do ovário esquerdo. Teste Kruskal-Wallis.



FSH: *follicle-stimulating hormone*.

Figura 19. A: Relação da dosagem de FSH com volume do ovário direito. B: Relação da dosagem de FSH com volume do ovário esquerdo. Teste Kruskal-Wallis.

Observamos que volume menor que 3 cm³ apresentou CFA do respectivo ovário menor do que nos outros grupos (P=0,001 para ambos ovários) (figura 20).

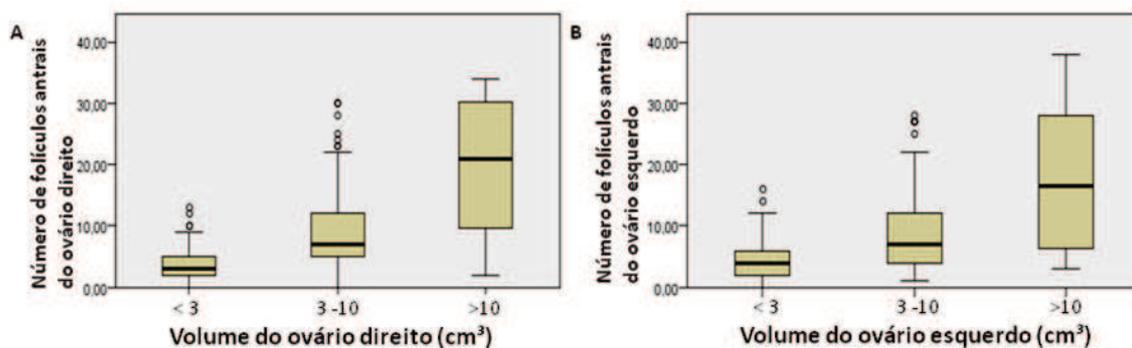


Figura 20. A: Relação do número de folículos antrais do ovário direito com o seu respectivo volume. B: Relação do número de folículos antrais do ovário esquerdo com o seu respectivo volume. Teste Kruskal-Wallis.

Observamos ainda volume menor que 3 cm³ apresentou total de folículos recrutados (P=0,0001 para ambos ovários) menores do que os outros grupos, conforme figura 21.

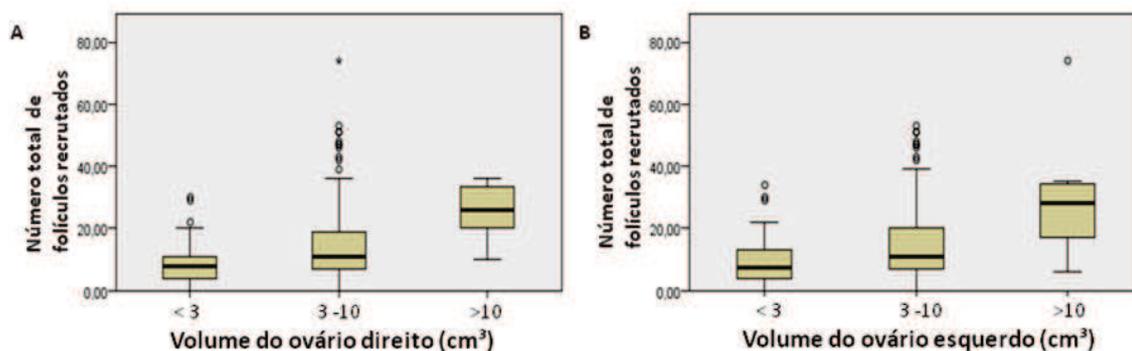


Figura 21. A: Relação do número total de folículos recrutados com o volume do ovário direito. B: Relação do número total de folículos recrutados com o volume do ovário esquerdo. Teste Kruskal-Wallis.

Separando pelo número de folículos antrais em três grupos: menos que seis, de seis a 15 e mais que 15, observamos que o subgrupo das mulheres com menos que seis

folículos apresentou idade maior que os outros grupos ($P < 0,0001$), menor número de folículos recrutados que os outros grupos ($P < 0,0001$) e dosagem de FSH maior do que o grupo entre seis e 15 ($P = 0,02$), na qual foram utilizados o teste Kruskal-Wallis para amostras independentes (figuras 22 a 24).

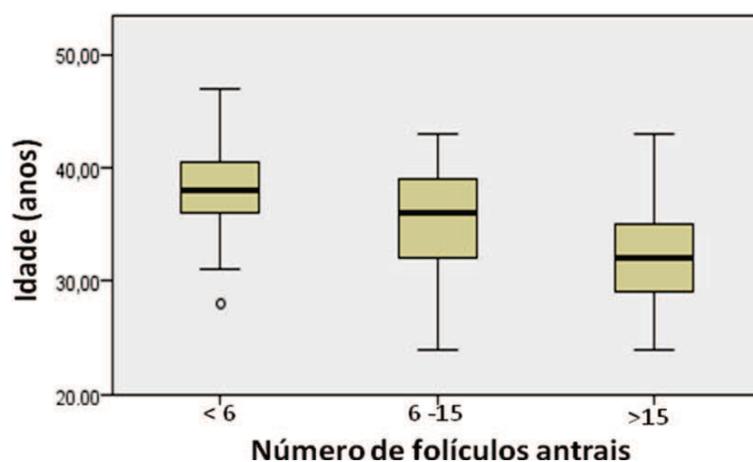


Figura 22. Relação da idade com o número de folículos antrais. Teste Kruskal-Wallis.

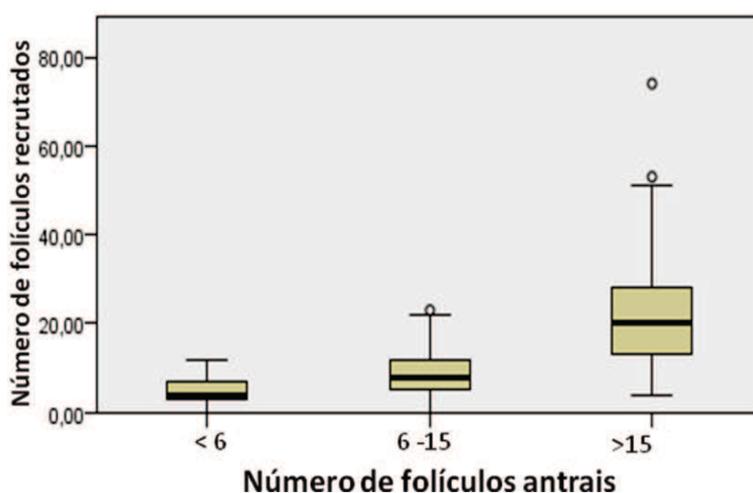
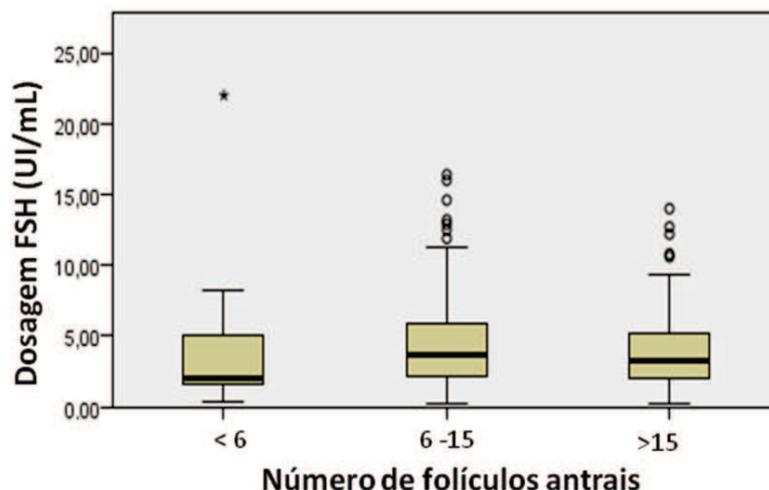


Figura 23. Relação do número de folículos recrutados com o número de folículos antrais. Teste Kruskal-Wallis.



FSH: *follicle-stimulating hormone*.

Figura 24. Relação da dosagem de FSH com o número de folículos antrais. Teste Kruskal-Wallis.

Vural *et al.*, Souza *et al.* e Kwee *et al.* demonstraram que a CFA pode ser utilizada como fator preditivo da resposta ovariana. Uma CFA inferior a seis, como no nosso estudo, demonstrou pobre resposta e maior probabilidade de cancelamento de ciclo. Assim, sugerem este número como ponto de corte para este parâmetro de avaliação.^(2,47,112)

Jayaprakasan *et al.* usaram como ponto de corte uma CFA menor ou igual a quatro e confirmaram que a CFA é um preditor significativo da má resposta ovariana.⁽¹¹⁵⁾

Lai *et al.* mostraram que a CFA tem melhor valor preditivo em relação ao número de oócitos obtidos, porém não foram estabelecidos pontos de corte para a análise.^(28,116)

Outros autores utilizaram dez folículos antrais como ponte de corte, e descreveram que uma CFA de ambos os ovários inferior a dez folículos pode estar

associada a um risco aumentado de cancelamento de ciclo e representa um importante parâmetro de avaliação preditiva de resposta ovariana.^(29,42,48,58,73,117)

Li *et al.* confirmaram uma boa correlação de AMH e CFA com parâmetros de resposta ovariana no tratamento de FIV, porém salientam que não vale a pena usar qualquer um dos marcadores reserva ovariana para excluir indivíduos de tentar tratamentos de reprodução assistida.⁽¹¹⁸⁾

Segundo o Comitê da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva, uma CFA menor do que seis tem especificidade de moderada a alta para rastreio de pobres respondedoras. Orienta que realizar testes de reserva ovariana diminuída em população de baixo risco vai produzir um número alto de falso positivo. Traz ainda que a dosagem de FSH é a mais utilizada para testes de rastreio de reserva ovariana diminuída, e, se realizada juntamente com a dosagem do estradiol, tem uma interpretação mais precisa.⁽¹¹⁹⁾

Das 293 incluídas neste estudo, 21 pacientes tiveram seus ciclos cancelados devido à falha de indução de ovulação. Nesse grupo observam-se idade ($P=0,03$) e níveis de FSH ($P=0,02$) maiores do que no grupo que terminou o tratamento; volume ovariano direito e esquerdo e CFA ($P=0,0001$) menores do que no grupo que terminou o tratamento. Gonzalez-Foruia *et al.* observaram maior taxa de cancelamento de ciclo em mulheres com mais de 40 anos.⁽¹²⁰⁾ Luna *et al.* também descrevem que as taxas de cancelamento do ciclo foram significativamente maiores em pacientes com um FSH elevado ($\geq 13,03$ UI/mL) no dia três em comparação com pacientes com níveis normais de FSH, em todas as faixas etárias.⁽⁷⁶⁾ Descrevem ainda que os níveis de FSH são mais preditivos de cancelamento de ciclo do que a idade.⁽⁷⁶⁾

No nosso estudo somente mulheres com dosagens de FSH menor do que 15 UI/mL foram incluídas, portanto, más respondedoras em potencial foram excluídas e esta seleção pode ter atenuado a força global das correlações.

Aboulghar *et al.* descrevem que realizar a dosagem de AMH antes de ciclos de fertilização *in vitro* diminui o risco de cancelamento de ciclo.⁽³⁰⁾

Vural *et al.* relatam que o AMH e a CFA são os melhores testes de avaliação da reserva ovariana, e que ambos podem ser realizados antes do início da indução de ovulação, para prever o risco de SHO e cancelamento de ciclos.^(2,9,51,65)

A aplicação dos testes de avaliação da reserva ovariana em pacientes que se submeterão a FIV tem sido muito estudada, principalmente devido aos altos custos e complexidade do tratamento. Ainda não existe um consenso quanto ao melhor preditor da resposta ovariana, embora vários estudos tenham sido publicados, fato que talvez explique existirem tantos testes propostos.

O objetivo de estabelecer qual o melhor método é diminuir o número de testes que uma determinada paciente deverá se submeter para a avaliação da sua reserva ovariana, diminuindo o estresse, bem como os encargos financeiros, sem, entretanto comprometer as informações necessárias para realizar um tratamento de FIV.⁽⁷²⁾

Um aspecto que ainda exige maior investigação e novos estudos é o fato de que todos os testes existentes no presente momento são preditores quantitativos do *pool* folicular, porém não são capazes de avaliar a qualidade oocitária e nem taxas de gestação.⁽⁵¹⁾

A combinação dos testes existentes ainda se mostra a conduta mais eficaz e útil para o aconselhamento de pacientes inférteis, em uma tentativa de lhes proporcionar alguma expectativa quanto ao sucesso do tratamento proposto.^(16,119)

Assim, é importante apostar na investigação da reserva ovariana uma vez que ela permite a otimização de protocolos de tratamento, a diminuição dos temíveis efeitos secundários da estimulação ovárica controlada e a ocorrência traumática de ciclos cancelados.^(9,107)

IV. CONCLUSÕES

Concluimos com nosso trabalho que:

- a idade e contagem de folículos antrais são eficientes preditores da resposta ovariana em ciclos de Reprodução Assistida.
- a dosagem de hormônio folículo estimulante e o volume ovariano não são marcadores específicos para a resposta ovariana aos protocolos de indução da ovulação.
- a dosagem de hormônio anti-Mulleriano parece ser um excelente marcador da reserva ovariana e nos leva à necessidade de novos estudos complementares.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Prasad S, Gupta T, Divya A. Correlation of the day 3 FSH/LH ratio and LH concentration in predicting IVF outcome. *J Reprod Infertil*. 2013;14:23-8.
2. Vural B, Cakiroglu Y, Vural F, Filiz S. Hormonal and functional biomarkers in ovarian response. *Arch Gynecol Obstet* 2014;289:1355-61.
3. Galliano D, Bellver J, García CD, Simón C, Pellicer A. ART and uterine pathology: how relevant is the maternal side for implantation? *Hum Reprod Update* 2015;21:13-38.
4. Pelosi E, Forabosco A, Schlessinger D. Genetics of the ovarian reserve. *Front. Genet* 2015;6:308 doi:10.3389/fgene.2015.00308.
5. Miao M, Huang H. Dynamic measurements of serum inhibin B and estradiol: a predictive evaluation of ovarian response to gonadotrophin stimulation in the early stage of IVF treatment. *J Zhejiang Univ* 2009;10:35-45.
6. Carvalho BR, Rosa e Silva ACJS, Rosa e Silva JC, Reis RM, Ferriani RA, Sá MFS. Ovarian reserve evaluation: state of the art. *J Assist Reprod Genet* 2008; 25:311-22.
7. Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. Relevance of anti-mullerian hormone measurement in a routine IVF program. *Hum Reprod* 2008;23:1359-65.
8. Satwik R, Kochhar M, Gupta SM, Majumdar A. Anti-mullerian hormone cut-off values for predicting poor ovarian response to exogenous ovarian stimulation in *in-vitro* fertilization. *J Hum Reprod Sci* 2012;5:206-12.

9. Castro E C, Borges ALF, de Rezende KN, Amaral WN. Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in in vitro fertilization cycles. *Reproduclin* 2014;29:136-42.
10. Beltadze K, Barbakadze L. Ovarian reserve in women of late reproductive age by the method of treatment of PCOS. *Iran J Reprod Med* 2015;13:263-8.
11. Oliani AH, Vaz-Oliani DCM. Monitorização ultrassonográfica da indução da ovulação. In: Pastore AR, Cerri GG, editor. *Ultrassonografia em Ginecologia e Obstetrícia*. 2º ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2010. p. 950-9.
12. Fong SL, Visser JA, Welt CK, de Rijke YB, Eijkemans MJC, Broekmans FJ, et al. Serum anti-mullerian hormone levels in healthy females: a nomogram ranging from infancy to adulthood *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:4650-5.
13. Nelson SM, Klein BM, Arce JC. Comparison of antimullerian hormone levels and antral follicle count as predictor of ovarian response to controlled ovarian stimulation in good-prognosis patients at individual fertility clinics in two multicenter trials. *Fertil Steril* 2015;103:923-30.
14. Broer SL, Van Disseldorp J, Broeze KA, Dolleman M, Opmeer BC, Bossuyt P, et al. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. *Hum Reprod Update* 2013;19:26-36.
15. Wood MA, Rajkovic A. Genomic markers of ovarian reserve. *Semin Reprod Med* 2013;31:399-415.
16. Silva ALB, Vilodre LCF. Avaliação da reserva ovariana: métodos atuais. *Femina* 2009;37:149-54.
17. Jehan S, Syed S. Association of ovarian reserve with age, BMI and serum FSH level in subfertile women. *J Pak Med Assoc* 2016;66:409-13.

18. Nagai K, Yanagawa Y, Katagiri S, Nagano M. The relationship between antral follicle count in a bovine ovary and developmental competence of in vitro-grown oocytes derived from early antral follicles. *Biomed Res* 2016;37:63-71.
19. Bentzen JG, Forman JL, Larsen EC, Pinborg A, Johannsen TH, Schmidt L, et al. Maternal menopause as a predictor of anti-mullerian hormone level and antral follicle count in daughters during reproductive age. *Hum Reprod* 2013;28:247-55.
20. Yassin MM, Sharif FA, Laqqan MM. Anti-mullerian hormone as a predictor of ovarian reserve and ovarian response in IVF women from Gaza strip. *Iran J Reprod Med* 2013;11:261-6.
21. Haadsma ML, Groen H, Fidler V, Bukman A, Roeloffzen EMA, Groenewoud ER, et al. The predictive value of ovarian reserve tests for spontaneous pregnancy in subfertile ovulatory women. *Hum Reprod* 2008;23:1800-7.
22. Cobo A, Garrido N, Crespo J, Remohí J, Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reprod Biomed Online* 2012;24:424-32.
23. Oehninger S, Nelson SM, Verweij P, Stegmann BJ. Predictive factors for ovarian response in a corifollitropin alfa/GnRH antagonist protocol for controlled ovarian stimulation in IVF/ICSI cycles. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:117 doi:10.1186/s12958-015-0113-1.
24. Surekha T, Himabindu Y, Sriharibabu M. Impact of socio-economic status on ovarian reserve markers. *J Hum Reprod Sci* 2013;6:201-4.
25. Dua M, Bhatia V, Malik S, Prakash V. ART outcome in young women with premature ovarian aging. *J Midlife Health* 2013;4:230-2.

26. Brodin T, Bergh T, Berglund L, Hadziosmanovic N, Holte J. High basal LH levels in combination with low basal FSH levels are associated with high success rates at assisted reproduction. *Hum Reprod* 2009;24:2755-9.
27. Coelho Neto MA, Martins W de P, Luz CM, Jianini BT, Ferriani RA, Navarro PA. Endometriosis, ovarian reserve and live birth rate following in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2016;38:218-24.
28. Silveira CF, Coutinho LMA, Amaral WN, Castro EC. A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização *in vitro*: uma revisão sistemática. *Reprod Clim* 2013;28:68-73.
29. Dólleman M, Depmann M, Eijkemans MJC, Heimensem J, Broer SL, van der Stroom EM, et al. Anti-mullerian hormone is a more accurate predictor of individual time to menopause than mother's age at menopause. *Hum Reprod* 2014;29:584-91.
30. Aboulghar M, Saber W, Amin Y, Aboulghar MM, Serour G, Mansour R. Impact of antimullerian hormone assays on the outcomes of in vitro fertilization: a prospective controlled study. *Fertil Steril* 2014;101:134-7.
31. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril* 2014;101:633-4.
32. Lee KH, Kim CH, Suk HJ, Lee YJ, Kwon SK, Kim SH, et al. The effect of aromatase inhibitor letrozole incorporated in gonadotrophin-releasing hormone antagonist multiple dose protocol in poor responders undergoing *in vitro* fertilization. *Obstet Gynecol Sci* 2014;57:216-22.

33. Velarde-Ochoa Mdel C, Esquivel-Valerio JA, Vega-Morales D, Skinner-Taylor CM, Galarza-Delgado DÁ, Garza-Elizondo MA. Anti-müllerian hormone in reproductive age women with systemic lupus erythematosus. *Reumatol Clin* 2015;11:78-82.
34. Dunlop CE, Anderson RA. Uses of anti-müllerian hormone (AMH) measurement before and after cancer treatment in women. *Maturitas* 2015;80:245-50.
35. Klemp JR, Kim SS. Fertility preservation in young women with breast cancer. *J Assist Reprod Genet* 2012;29:469-72.
36. Cobo A, Garcia-Velasco JA, Domingo J, Remohí J, Pellicer A. Is vitrification of oocytes useful for fertility preservation for age-related fertility decline and in cancer patients? *Fertil Steril* 2013;99:1485-95.
37. Rizk B, Turki R, Lotfy H, Ranganathan S, Zahed H, Freeman AR, et al. Surgery for endometriosis-associated infertility: do we exaggerate the magnitude of effect? *Facts Views Vis ObGyn* 2015;7:109-18.
38. Smith V, Osianlis T, Vollenhoven B. Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a review. *Obstet Gynecol Int* 2015;2015:514159 doi:10.1155/2015/514159.
39. Huang LN, Jun SH, Drubach N, Dahan MH. Predictors of in vitro fertilization outcomes in women with highest follicle-stimulating hormone levels ≥ 12 IU/L: a prospective cohort study. *PLoS One* 2015;10:e0124789 doi:10.1371/journal.pone.0124789.
40. Gleicher N, Kushnir VA, Barad DH. Prospectively assessing risk for premature ovarian senescence in young females: a new paradigm. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:34 doi:10.1186/s12958-015-0026-z.

41. Almog B, Shehata F, Paz ES, Tan SL, Tulandit T. Age-related normogram for antral follicle count: McGill reference guide. *Fertil Steril* 2011;95:663-6.
42. Mutlu MF, Erdem M, Erdem A, Yildiz S, Mutlu I, Arisoy O, et al. Antral follicle count determines poor ovarian response better than anti-mullerian hormone but age is the only predictor for live birth in in vitro fertilization cycles. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:657-65.
43. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update* 2014;20:124-40.
44. Barrenetxea G, Agirregoikoa JA, Jimenez MR, Larruzea AL, Ganzabal T, Carbonero K. Ovarian response and pregnancy outcome in poor responder women: a randomized controlled trial on the effect of luteinizing hormone supplementation on in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2008;89:546-53.
45. Chiang HJ, Lin PY, Huang FJ, Kung FT, Lin YJ, Sung PH, et al. The impact of previous ovarian surgery on ovarian reserve in patients with endometriosis. *BMC Women's Health* 2015;15:74 doi:10.1186/s12905-015-0230-1.
46. Iliodromiti S, Anderson RA, Nelson SM. Technical and performance characteristics of anti-mullerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum Reprod Update* 2015;21:698-710.
47. Souza MCB, Souza MM, Oliveira JBA, Henriques CA, Cardoso FFO, Mancebo ACA, et al. Utilização da contagem de folículos antrais para predição do padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação controlada com antagonista de GnRH. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2007;30:36-41.
48. Hugues JN, Gerard LT, Coussieu C, Pasquier M, Dewailly D, Durnerin IC. Assessment of theca cell function prior to controlled ovarian stimulation: the

- predictive value of serum basal/stimulated steroid levels. *Hum Reprod* 2010;25:228-34.
49. Su HI, Sammel MD, Freeman EW, Lin H, DeBlasis T, Gracia CR. Body size affects measures of ovarian reserve in late reproductive age women. *Menopause* 2008;15:857-61.
50. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2003;80:350-5.
51. Göksedef BP, İdiş N, Görgeç H, Asma YR, Api M, Cetin A. The correlation of the antral follicle count and serum anti-mullerian hormone. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 2010;11:212-5.
52. Kojima R, Nakagawa K, Nakashima A, Horikawa T, Ohgi S, Saito H. Elevated basal FSH levels, if it is under 15 IU/L, will not reflect poor ART outcomes. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:73-7.
53. Disseldorp JV, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MCJC, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod* 2010;25:221-7.
54. Parry JP, Moran T, Koch CA. Ovarian reserve testing. 2013; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279058/>.
55. Alipour F, Rasekhjahromi A, Maalhigh M, Sobhanian S, Hosseinpour M. Comparison of specificity and sensitivity of AMH and FSH in diagnosis of premature ovarian failure. *Dis Markers* 2015;2015:585604 doi:10.1155/2015/585604.
56. Deb S, Batcha M, Campbell BK, Jayaprakasan K, Clewes JS, Hopkisson JF, et al. The predictive value of the automated quantification of the number and size

- of small antral follicles in women undergoing ART. *Hum Reprod* 2009;24:2124-32.
57. Lekamge DN, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP. Increased gonadotrophin stimulation does not improve IVF outcomes in patients with predicted poor ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:515-21.
58. Hsu A, Army M, Knee AB, Bell MSC, Cook MDE, Novak AL, et al. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertil Steril* 2011;95:474-9.
59. Kim SK, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH. What number of oocytes is appropriate for defining poor ovarian response? *Yonsei Med J* 2015;56:482-9.
60. Deepika K, Rathore S, Garg N, Rao K. Empty follicle syndrome: Successful pregnancy following dual trigger. *J Hum Reprod Sci* 2015;8:170-4.
61. Nastri CO, Teixeira DM, Moroni RM, Leitão VMS, Martins WP. Ovarian hyperstimulation syndrome: pathophysiology, staging, prediction and prevention. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;4:377-393.
62. Aiyappan SK, Karpagam B, Vadanika V, Chidambaram PK, Vinayagam S, Saravanan KC. Age-related normogram for ovarian antral follicle count in women with polycystic ovary syndrome and comparison with age matched controls using magnetic resonance imaging. *J Clin Diagn Res* 2016;10:TC11-3 doi:10.7860/JCDR/2016/17334.7136.
63. Xi W, Yang Y, Mao H, Zhao X, Liu M, Fu S. Circulating anti-mullerian hormone as predictor of ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovary syndrome. *J Ovarian Res* 2016;9:3 doi:10.1186/s13048-016-0214-2.

64. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod* 2011;26:1616-24.
65. Papathanasiou A. Implementing the ESHRE ‘poor responder’ criteria in research studies: methodological implications. *Hum Reprod* 2014;29:1835-8.
66. Younis JS, Ben-Ami M, Ben-Shlomo I. The Bologna criteria for poor ovarian response: a contemporary critical appraisal. *J Ovarian Res* 2015;8:76 doi:10.1186/s13048-015-0204-9.
67. Cakmak H, Tran ND, Zamah AM, Cedars MI, Rosen MP. A novel “‘delayed start’” protocol with gonadotropin-releasing hormone antagonist improves outcomes in poor responders. *Fertil Steril* 2014;101:1308-14.
68. De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, Massaro MG, Morgante G, Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS: an update. *Reprod Biol Endocrinol* 2016;14:38 doi:10.1186/s12958-016-0173-x.
69. Jayaprakasan K, Deb S, Batch M, Hopkisson J, Johnson I, Campbell B, et al. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-mullerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2010;94:1775-81.
70. Andersen AN, Witjes H, Gordon K, Mannaerts B. Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment. *Hum Reprod* 2011;26:3413-23.
71. Styer AK, Toth TL. Antral follicle count in clinical practice: building the bridge from ovarian reserve to in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2011;95:480-1.

72. Broekmans FJM, Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril* 2010;94:1044-51.
73. Panchal S, Nagori C. Comparison of anti-mullerian hormone and antral follicle count for assessment of ovarian reserve. *J Hum Reprod Sci* 2012;5:274-8.
74. Hudecova M, Holte J, Olovsson M, Poromaa IS. Long-term follow-up of patients with polycystic ovary syndrome: reproductive outcome and ovarian reserve. *Hum Reprod* 2009;24:1176-83.
75. Jo J, Kang MJ, Lee JM, Kim H, Jerng UM. Effects of traditional Korean medicine on anti-Müllerian hormone in patients with diminished ovarian reserve: a retrospective study. *Complement Ther Med* 2016;24:118-22.
76. Luna M, Grunfeld L, Mukherjee T, Sandler B, Copperman AB. Moderately elevated levels of basal follicle-stimulating hormone in young patients predict low ovarian response, but should not be used to disqualify patients from attempting in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2007;78:782-7.
77. Johnson LN, Sammel MD, Dillon KE, Lechtenberg L, Schanne A, Gracia CR. Antimullerian hormone and antral follicle count are lower in female cancer survivors and healthy women taking hormonal contraception. *Fertil Steril* 2014;102:774-81.
78. Chand AL, Harrison CA, Shelling AN. Inhibin and premature ovarian failure. *Hum Reprod Update* 2010;16:39-50.
79. Rustamov O, Krishnan M, Roberts SA, Fitzgerald CT. Effect of salpingectomy, ovarian cystectomy and unilateral salpingo-oophorectomy on ovarian reserve. *Gynecol Surg* 2016;13:173-8.

80. Chen MJ, Yang WS, Chen CL, Wu MY, Yang YS, Ho HN. The relationship between anti-mullerian hormone, androgen and insulin resistance on the number of antral follicles in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:952-7.
81. Wu CH, Chen YC, Wu HH, Yang JG, Chang YJJ, Tsai HD. Serum anti-mullerian hormone predicts ovarian response and cycle outcome in IVF patients. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:383-9.
82. Gleicher N, Kim A, Weghofer A, Shohat-Tal A, Lazzaroni E, Lee HJ, et al. Starting and resulting testosterone levels after androgen supplementation determine at all ages in vitro fertilization (IVF) pregnancy rates in women with diminished ovarian reserve (DOR). *J Assist Reprod Genet* 2013;30:49-62.
83. Eilertsen TB, Vanky E, Carlsen SM. Anti-mullerian hormone in the diagnosis of polycystic ovary syndrome: can morphologic description be replaced? *Hum Reprod* 2012;27:2494-502.
84. Detti L, Uhlmann RA, Lu M, Diamond MP, Saed GM, Fletcher NM, et al. Serum markers of ovarian reserve and ovarian histology in adult mice treated with cyclophosphamide in pre-pubertal age. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:1421-9.
85. Iliodromiti S, Kelsey TW, Wu O, Anderson RA, Nelson SM. The predictive accuracy of anti-mullerian hormone for live birth after assisted conception: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Hum Reprod Update* 2014;20:560-70.
86. Merhi Z, Zapantis A, Berger DS, Jindal SK. Determining an anti-mullerian hormone cutoff level to predict clinical pregnancy following in vitro fertilization

- in women with severely diminished ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:1361-5.
87. Reijnders IF, Nelen WL, IntHout J, van Herwaarden AE, Braat DD, Fleischer K. The value of Anti-Mullerian hormone in low and extremely low ovarian reserve in relation to live birth after in vitro fertilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016;200:45-50.
88. Salmassi A, Mettler L, Hedderich J, Jonat W, Deenadayal A, Von Otte S, et al. Cut-off levels of anti-mullerian hormone for the prediction of ovarian response, *in vitro* fertilization outcome and ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Fertil Steril* 2015;9:157-67.
89. Broer SL, Broekmans FJM, Laven JSE, Fauser BCJM. Anti-mullerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update* 2014;20:688-701.
90. Deb S, Campbell BK, Pincott-Allen C, Clewes JS, Cumberpatch G, Raine-Fenning NJ. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-mullerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;39:574-80.
91. Kurobe FMC, Dzik A, Cavagna M, Drezett J. Importância do hormônio anti-muleriano na infertilidade. *Reprod Clim* 2013;27:104-8.
92. Steiner AZ, Stanczyk FZ, Patel S, Edelman A. Antimullerian hormone and obesity: insights in oral contraceptive users. *Contraception*. 2010;81:245-8.
93. Cui L, Sheng Y, Sun M, Hu J, Qin Y, Chen ZJ. The value of Anti-Mullerian hormone in low and extremely low ovarian reserve in relation to live birth after

- in vitro fertilization Müllerian Hormone. PLoS One 2016;11:e0156130
doi:10.1371/journal.pone.0156130.
94. Jamil Z, Fatima SS, Ahmed K, Malik R. Anti-Mullerian hormone: above and beyond conventional ovarian reserve markers. Dis Markers 2016;2016:5246217
doi:10.1155/2016/5246217.
95. Barri P, Pellicer A. Fertility preservation: moving ahead faster than expected! J Assist Reprod Genet 2014;31:3-5.
96. Saikumar P, Selvi VK, Prabhu K, Venkatesh P, Krishna P. Anti mullerian hormone: a potential marker for recruited non growing follicle of ovarian pool in women with polycystic ovarian syndrome. J Clin Diagn Res 2013;7:1866-9.
97. Anderson RA, Anckaert E, Bosch E, Dewailly D, Dunlop CE, Fehr D, et al. Prospective study into the value of the automated Elecsys antimüllerian hormone assay for the assessment of the ovarian growing follicle pool. Fertil Steril 2015;103:1074-80.
98. Craciunas L, Roberts SA, Yates AP, Smith A, Fitzgerald C, Pemberton PW. Modification of the Beckman-Coulter second-generation enzyme-linked immunosorbent assay protocol improves the reliability of serum antimüllerian hormone measurement. Fertil Steril 2015;103:554-9.
99. Barbakadze L, Kristesashvili J, Khonelidze N, Tsagareishvili G. The correlations of anti-mullerian hormone, follicle-stimulating hormone and antral follicle count in different age groups of infertile women. Int J Fertil Steril 2015;8:393-8.
100. Jin J, Pan C, Fei Q, Ni W, Yang X, Zhang L, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on the clinical outcomes for in vitro fertilization and

- intracytoplasmic sperm injection in women with different ovarian reserves. *Fertil Steril* 2015;103:910-6.
101. Firouzabadi RD, Tayebi N, Asgharnia M. Serum Level of anti-mullerian hormone in early follicular phase as a predictor of ovarian reserve and pregnancy outcome in assisted reproductive technology cycles. *Arch Iranian Med* 2008;11:371-6.
102. Hauzman EE, Zapata A, Bermejo A, Iglesias C, Pellicer A, Garcia-Velasco JA. Cycle scheduling for in vitro fertilization with oral contraceptive pills versus oral estradiol valerate: a randomized, controlled Trial. *Reprod Biomed Online* 2013;11:96.
103. Lan VTN, Linh NK, Tuong HM, Wong PC, Howles CM. Anti-mullerian hormone versus antral follicle count for defining the starting dose of FSH. *Reprod BioMed Online* 2013;27:390-9.
104. Knauff EAH, Eijkemans MJC, Lambalk CB, Booij MJK, Hoek A, Beerendonk CCM, et al. Anti-mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:786-92.
105. Menken J, Trussel J, Larsen U. Age and fertility. *Science* 1986;233:1389-94.
106. Choi B, Bosch E, Lannon BM, Leveille MC, Wong WH, Leader A, et al. Personalized prediction of first-cycle in vitro fertilization success. *Fertil Steril* 2013;99:1905-11.
107. Boeno AC. Relação entre hormônio antimulleriano, contagem de folículos antrais, volume ovariano e resultados de FIV [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2012.

108. Magalhães ACF. Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-mulleriana em Procriação Medicamente Assistida [dissertação]. Covilhã (Castelo Branco): Universidade da Beira Interior; 2012.
109. Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003;79:63-8.
110. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004;19:893-8.
111. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705-14.
112. Kwee J, Elting ME, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol* 2007;5:9.
113. Aflatoonian A, Oskouian O, Ahmadi S, Oskouian L. Prediction of high ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation: anti-Müllerian hormone versus small antral follicle count (2-6 mm). *J Assist Reprod Genet* 2009;26:319-25.
114. Martins WP, M. Kollmann M, Raine-Fenning N. Counting ovarian follicles: updated threshold for diagnosis of hyperandrogenic anovulation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:131-4.
115. Jayaprakasan K, Chan Y, Islam R, Haoula Z, Hopkisson J, Coomarasamy A, et al. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle

- count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. *Fertil Steril* 2012;98:657-63.
116. Lai Q, Chen C, Zhang Z, Zhang S, Yu Q, Yang P, et al. The significance of antral follicle size in predicting ovarian response in a multiple dose GnRh antagonist protocol. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6:258-66.
117. Tremellen K, Savulescu J. Ovarian reserve screening: a scientific and ethical analysis. *Hum Reprod* 2014;29:2606-14.
118. Li HW, Lee VC, Lau EY, Yeung WS, Ho PC, Ng EH. Role of baseline antral follicle count and anti-Mullerian hormone in prediction of cumulative live birth in the first in vitro fertilisation cycle: a retrospective cohort analysis. *PLoS One* 2013;8:e61095 doi:10.1371/journal.pone.0061095.
119. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98:1407-15.
120. González-Foruria I, Peñarrubia J, Borràs A, Manau D, Casals G, Peralta S, et al. Age, independent from ovarian reserve status, is the main prognostic factor in natural cycle in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2016;106:342-7.

VI. APÊNDICES

Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96)

Para uma investigação científica honesta e segura, a pessoa que vai participar do estudo, ou o seu responsável legal deve dar seu consentimento livremente, após ter sido muito bem informado sobre os riscos e benefícios do estudo.

É da responsabilidade do pesquisador lhe dar toda e qualquer informação necessária e solicitada. Este termo de consentimento, que foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FAMERP (telefone 17-3201-5700, ramal 5813), tem a finalidade de proteger o participante do estudo.

Você é convidada a participar da pesquisa **Valor da Ecografia no Estudo da Reserva Ovariana para Predição da Recuperação Oocitária**. Este projeto, coordenado pelo pesquisador Prof. Dr. Antônio Hélio Oliani e de responsabilidade da pesquisadora Dra. Meire Spressão, vai estudar o valor diferentes parâmetros ecográficos na avaliação da reserva ovariana como forma de prever o número de oócitos. Caso concorde, as informações obtidas durante a realização de ecografia de rotina no seu ciclo de indução de ovulação para reprodução assistida, juntamente com os dados laboratoriais serão usados na pesquisa.

Durante a ultrassonografia transvaginal você poderá apresentar: incômodo pelo aparelho, constrangimento da realização do exame e alergia ao preservativo. A coleta de sangue poderá deixar hematomas no braço, pequeno sangramento e até infecção no local da punção.

As informações e imagens obtidas serão mantidas em sigilo e o seu nome nunca será divulgado. Os resultados da pesquisa serão divulgados, sejam eles favoráveis ou não. Durante o trabalho você poderá tirar qualquer dúvida a respeito do processo e, se necessário, entrar em contato conosco pelos telefones 17-32353600 (Instituto de Medicina Reprodutiva e Fetal).

É através das pesquisas que ocorrem avanços na Medicina. Sua participação é de fundamental importância e voluntária. Você não receberá qualquer pagamento por participar e nem terá nenhuma despesa com a pesquisa. Você tem total liberdade de recusar participar do mesmo, sendo que este fato não implicará na interrupção do seu atendimento, que está assegurado.

Eu, _____, li o texto acima e concordo voluntariamente em participar deste estudo. Sei que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento, sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico.

Assinatura da paciente

Data: ____/____/____

Este documento será elaborado em duas vias, sendo que um será entregue para o sujeito da pesquisa, e o outro ficará em poder do pesquisador.

Apêndice 2 – E-mail recebido da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (RBGO Gynecology and Obstetrics) que informa que o artigo foi aceito para publicação.

De: RBGO <rbgo@fmrp.usp.br>

Enviado: sexta-feira, 2 de setembro de 2016 14:35

Para: spressao@hotmail.com

Assunto: RBGO

Dear Dr Meire Spressão

I am pleased to inform you that your manuscript "Value of ultrasound in the study of ovarian reserve for prediction of oocyte recovery", filed under nº 5652, has been accepted for publication in RBGO. We considered that the authors met most of comments of the reviewers and we are interested in publishing it in the present form.

Thank you for giving us the preference and we hope that you continue to honor RBGO when submitting your manuscripts for future publications.

Dr Marcos Felipe Silva de Sá

Editor – RBGO Gynecology and Obstetrics

Apêndice 3 – Artigo aceito para publicação na RBGO Gynecology and Obstetrics.

**Valor da Ecografia no Estudo da Reserva Ovariana para Predição da Recuperação
Oocitária**
**Value of the Ultrasound in the Study of Ovarian Reserve for Prediction of Oocyte
Recovery**

Meire Spressão

Denise Cristina Mós Vaz Oliani

Antonio Hélio Oliani

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Instituto de Medicina Reprodutiva e Fetal

RESUMO

Objetivo: identificar quais métodos utilizados na avaliação da reserva ovariana são excipientes ou complementares na identificação da melhor resposta ao desenvolvimento folicular.

Métodos: estudo retrospectivo de coorte, que envolveu pacientes em tratamento de Reprodução Assistida no Instituto de Medicina Reprodutiva de abril de 2009 a julho de 2014. Foram avaliadas idade, exames bioquímicos e ecografia. Os dados foram analisados na predição do desenvolvimento folicular e suas relações entre si, utilizando para análise estatística o programa Statistical Package for Social Sciences.

Resultados: Dos 293 casais incluídos, 50,2% apresentavam infertilidade por fator ovariano. A média de idade foi de 34,7 anos. Considerando a idade como principal variável, foi observada uma correlação significativa e negativa com volume de ambos ovários (ovário direito $cc=-0,21$; esquerdo $cc=-0,22$; ambos $p<0,0001$), e com contagem de folículos antrais (ovário direito $cc=-0,38$; esquerdo $cc=-0,47$; ambos $p<0,0001$). Considerando contagem de folículos antrais como variável principal, foi observada uma correlação significativa e positiva com total de oócitos recrutados (ovário direito $cc=0,73$; esquerdo $cc=0,72$; total folículos antrais $cc=0,77$; todos $p<0,0001$). Quando correlacionamos contagem de folículos antrais com os folículos recrutados maiores do que 18 mm, observa-se que com um ponto de corte de 12 folículos antrais, tem-se um valor preditivo positivo de 99% e uma área da curva ROC de 0,76. Separando em três grupos pelo número de folículos antrais: menos que seis, de seis a 15 e mais que 15, observa-se que o subgrupo das mulheres com menos que seis folículos apresentou idade maior que os outros grupos ($p<0,0001$), menor número de folículos recrutados que os outros grupos ($p<0,0001$)

Conclusões: Concluimos com nosso trabalho que a idade e a contagem de folículos antrais são eficientes preditores da resposta ovariana em ciclos de Reprodução Assistida. O volume ovariano assim como a dosagem do hormônio anti-mulleriano, também parecem ser um marcador adequado de reserva ovariana.

Palavras-chave: fertilização *in vitro*; ultrassonografia; testes de função ovariana; reserva ovariana

ABSTRACT

Purpose: Identify which methods used in the assessment of the ovarian reserve are exclusionary or complementary to identify the best response to follicle development.

Methods: Retrospective cohort study, involving patients in treatment on Assisted Reproduction at the Institute for Reproductive Medicine, from April 2009 to July 2014. Age, biochemical tests, and ultrasound were assessed. The data were analyzed to predict the follicular development and the relation between themselves using, for statistical analysis, the Statistical Package program for Social Sciences.

Results: Of the 293 couples included, 50,2% presented infertility by ovarian factor. The average age was 34.7 years. Considering the age as the main variable, a significant negative correlation with volume of both ovaries was observed (right ovary $cc = 0.21$; left $cc = -0.22$; both $p < 0.0001$), and with the antral follicles count (right ovary $cc = -0.38$; left ovary $cc = -0.47$; both $p < 0.0001$). Considering the count of antral follicles as the main variable, a significant positive correlation with total recruited oocytes was observed (right ovary $cc = 0.73$; left ovary $cc = 0.72$, total antral follicles $cc = 0.77$; all $p < 0.0001$). When we correlated antral follicle count with recruited follicles larger than 18 mm, it was observed that, with a cutoff of 12 antral follicles, there is a positive predictive value of 99% and an area under the ROC curve of 0.76. Creating three groups, separated by the number of antral follicles: less than six, six to 15, and more than 15, it was observed that the female subgroup of women

with less than six follicles showed greater age than the other groups ($p < 0.0001$), fewer follicles recruited than the other groups ($p < 0.0001$).

Conclusion: We concluded from our study that age and antral follicles count are effective predictors of ovarian response in cycles of Assisted Reproduction. The ovarian volume, as well as the anti-Müllerian hormone dosage, also seem to be an adequate marker of the ovarian reserve.

Keywords: *in vitro* fertilization; ultrasound; ovarian function tests; ovarian reserve.

I. INTRODUCTION

Valor da Ecografia no Estudo da Reserva Ovariana para Predição da Recuperação Oocitária

Value of the ultrasound in the Study of Ovarian Reserve for Prediction of Oocyte Recovery

Research on infertility has evolved with constant studies and technological advances due to the increase of infertile couples who seek Assisted Reproduction services (AR).^(1,2) The recruitment and development of multiple ovarian follicles are key to treatment.^(1,3,4)

The correct assessment of ovarian reserve is a central issue in the management of patients with infertility.^(1,3,5) The goal is to predict the chances of response to the induction and select the “optimal” dose for the ovarian hyperstimulation.^(3,6)

Among the aspects of clinical history, advancing age is considered a determining factor of fertility.^(7,8) It occurs a decrease in ovarian reserve and an impaired oocyte quality.

The ovarian volume, thanks to its good accuracy and the cost-benefit, seems to be a useful tool in monitoring patients undergoing AR.⁽⁹⁾

Studies have demonstrated an apparent correlation between the number of antral follicles and the functional status of the ovaries.^(3,6,10-13) When compared, the antral follicle count (AFC) is higher than the volume of the ovaries in the evaluation of poor response to *in vitro* fertilization (IVF).^(7,9)

The basal serum follicle stimulating hormone (FSH) concentration, together with the concentrations of estradiol^(1,14) represents a predictive value for ovarian response.^(15,16) Elevated FSH levels are strongly associated with poor ovarian response, low levels of estradiol and low rate gestation.^(1,17) Therefore, the basal serum concentration of FSH⁽⁶⁾ has been used as a marker for ovarian insufficiency.⁽⁹⁾

The dosage of anti-Müllerian hormone (AMH) has been used as early and sensitive marker of ovarian reserve.^(1,8,18) Reflects the amount of remaining primordial follicles, so, this hormone is strongly associated with AFC.^(1,8,11,19) The decline of AMH levels are detected earlier than other hormonal changes and the AFC.^(1,20,21)

A poor ovarian response may be associated with low pregnancy rates and, frequently, cycles are cancelled without achieving the oocyte retrieval.^(7,22)

Despite the importance of the ovarian reserve measurement, the best way to correctly evaluate the follicular status remains controversial.⁽¹⁾ A good ovarian reserve test should be predictive of conception and should indicate the probable duration of ovarian activity. Furthermore, it should point out the ideal dose of ovarian stimulation and the chance to achieve gestation successfully.⁽²³⁾

PURPOSE

The main objective of this work is to identify which methods used in the assessment of ovarian reserve are exclusionary or complementary to identify the best response to follicle development.

II. METHODS

After approval by the Ethics and Research Committee of the Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP (under number 18617), this study was developed at the Institute of Reproductive and Fetal Medicine SS – IMR - São José do Rio Preto, São Paulo, entity convened by FAMERP. It is a retrospective cohort study, involving patients under Assisted Reproduction treatment (AR) for conjugal infertility.

From April 2009 to July 2014, 379 patients were submitted to ovulation induction for highly complexity AR at the IMR and selected for this work. 293 patients were included after signing a free and informed consent and without prejudice to the proposed treatment.

The patients included in this study were evaluated, besides their chronological age, through biochemical tests (FSH, estradiol or AMH) and ultrasound (ovarian volume and AFC) for the analysis of ovarian reserve.

Patients with suspicion of pregnancy; patients who would have a procedure with egg reception; the submitted to oophorectomy and/or oophoroplasty, unilateral or bilateral; those who underwent ultrasound in other services; the ones in which one ovary was not visualized at baseline ultrasound; those with residual ovarian cyst (greater than 16 mm average diameter) in the moment of the first ultrasound; and the ones presenting FSH dosages greater than 15 UI/ml were excluded.

Clinical data were collected through the interview held by the author of the work or members of her team and the collection of medical record data.

Blood samples were drawn for FSH and estradiol dosage on the same day of the first ultrasound, always before the beginning of the stimulus, at most on the third day of the menstrual cycle. AMH measurements were performed before the beginning of treatment, at any stage of the menstrual cycle. The ultrasound operators had access to the laboratory tests results.

The sonographic examination was performed using ultrasound apparatus: brand Medison; model ACCUVIX XP; and brand GE; model Voluson E8, with endocavitary transducer of 5-12 MHz, adequately prepared for the implementation of endovaginal examination, performed always by the same operators (the paper author and other three IMR clinical doctors), lasting ten to twenty minutes. The ultrasonography was performed between the first and third day of the menstrual cycle.

During the 2D ultrasound examination, the volume of the ovaries was calculated by the measurement of its three largest diameters and the antral follicles were counted. The antral follicles are represented at the ultrasound as small rounded anechoic images with diameter between two and ten millimeters. The register was obtained by measuring the largest diameter of each follicle. The follicles number count was performed by scanning the ovaries by transvaginal way.

The new serial ultrasound was performed between six and eight days after the start of ovarian stimulation. From there, the ultrasound control was carried out with individual frequency for each case. Controls were carried out every two days until reaching follicles of 16 mm average diameter and, daily, until obtaining at least three

follicles of 18 mm or more for the final maturation with the hormone chorionic gonadotropin.⁽¹⁰⁾

Later, the sonographic parameters were analyzed (ovarian volume, AFC and follicular development data), the age and laboratory parameters (serum levels of FSH, estradiol and AMH) in the prediction of follicular development and also the relations among them. Data referring to egg collection, fertilization and pregnancy rates were not studied, to avoid potential sources of bias.

The collected data were tabulated and statistically analyzed using SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows package (SPSS, version 20, Chicago, USA).

The association between variables was assessed using Spearman's correlation coefficient. We used the ROC curve (Receiver Operating Characteristic) to determine the cutoff point, the sensitivity, the specificity and predictive values of the tests. The comparison between the subgroup of number of antral follicles and ovarian volume was analyzed by Kruskal-Wallis test. A p value <0.005 was considered statistically significant.

This Project did not require financial support to be developed.

III. RESULTS

Of the 293 couples included in this study, 39.6% had infertility by male factor; 50.2% by ovarian factor; 13.7% by endometriosis; 12.3% by tubal factor; 2.7% by uterine factor; 7.8% without factors defined and classified as infertility or sterility without apparent cause and 25.6% had more than a factor of infertility.

The average age was 34.7% years, ranging from 23 to 47 years; the FSH baseline had a mean of 4.3 IU/ml, ranging between 0.2 and 14.6 IU/ml, the estradiol 18.4 ng/ml and the AMH of 1.4 ng/ml ranging between 0.3 and 3.6 ng/ml.

The ovarian volume measurement and AFC were calculated in 293 patients, yielding an average of 4.5 cm³ in volume and 7.7 in the average number of antral follicles for the right ovary and mean of, respectively, 4.3 cm³ and 7.3 for the left.

Considering the age as the main variable, a significant negative correlation with the volume of both ovaries was observed (right ovary cc = -0.21; left cc = -0.22; both p<0.0001), CFA (right ovary cc = -0.38; left cc = -0.47; both p<0.0001) and total recruited follicles (cc = -0.47 p<0.0001).

Considering the volume of both ovaries as the main variable, a significant positive correlation with the AFC of the respective ovary and recruited follicles was observed, as shown in Table 1.

Considering the AFC as the main variable, a significant positive correlation was observed with total recruited oocytes (right ovary cc = 0.73; left cc = 0.72; total antral follicles cc = 0.77; all p<0.0001).

Considering the FSH dosage as the main variable, a significant positive correlation with the estradiol dosage (cc = 0.20; p = 0.004) was observed. This means that in patients of reproductive age, the greater is the dose of FSH, the higher is the dosage of estradiol. Correlating FSH with age (p = 0.49; cc = 0.45) a positive correlation without statistical significance was observed. Correlating FSH with AFC (both ovaries cc = 0.07; p = 0.24) a positive correlation without statistical significance was obtained, probably because patients with FSH higher than 15 UI/ml were excluded

from the study. In the relation with the recruited follicles ($cc = -0.27$; $p = 0.68$) a negative correlation was obtained, but not statistically significant.

The AMH versus age showed negative correlation ($cc = -0.33$; $p = 0.21$); correlating AMH with the volume of the ovaries, positive values were obtained (right $cc = 0.49$; $p = 0.06$ and left $cc = 0.28$; $p = 0.30$); and correlating AMH with the AFC also positive values were obtained (right $cc = 0.48$; $p = 0.06$ and left $cc = 0.37$; $p = 0.17$).

In making the correlation of the ovarian volume with the recruited follicles larger than 18 mm, when using a 2.6 cm^3 cutoff point in the amount of at least one ovary, it was observed: a sensitivity of 81%, a positive predictive value of 97%, and an area under the ROC curve of 0.76 (Figure 1).

However, when we correlate AFC with the recruited follicles larger than 18 mm, it was observed that, with a cutoff of 12 antral follicles, a positive predictive value of 99% and an area under the ROC curve of 0.76, were obtained (Figure 2).

In making the correlation of AFC in patients with less than three recruited follicles, larger than 18 mm, it is observed, when using a cutoff point of 11 antral follicles, a sensitivity of 77%, specificity of 68% and an area under the ROC curve of 0.78. When using a cutoff point of 5 antral follicles, a sensitivity of 26%, a specificity of 93% and an area under the ROC curve of 0.78. However, when we correlate AFC patients who had more than 15 recruited follicles larger than 18 mm, it is observed, when using a cutoff point of 15 antral follicles, a sensitivity of 97%, a specificity of 70% and an area under the ROC curve of 0.91.

Separating into three groups by the number of antral follicles: less than six, six to 15, and more than 15, it is observed that the women subgroup with less than six follicles showed greater age than the other groups ($p < 0.0001$), fewer follicles recruited

than the other groups ($p < 0.0001$) and FSH dosage higher than the group between six and 15 ($p = 0.02$), in which the Kruskal-Wallis test for independent samples was used. (Figures 3 and 4).

Separating into three groups by ovarian volume: less than 03 cm^3 , 03 to 10 cm^3 and greater than 10 cm^3 , it is observed that the women subgroup with volume of 03 cm^3 or less presented AFC of the respective ovary lower than the other groups ($p = 0.001$ for both ovaries) (Figure 5). It can be seen that even a volume lower than 03 cm^3 has a total of recruited follicles ($p = 0.0001$ for both ovaries) lower than the other groups.

Of the 293 people included in this study, 21 patients had their cycles cancelled due to ovulation induction failure. In this group, age ($p = 0.03$) and FSH levels ($p = 0.02$) higher than in the group that finished completed the stimulus, were observed; ovarian volume e AFC ($p = 0,0001$) lower than in the group that finished completed the stimulus, were observed.

IV. DISCUSSION

The application of assessment tests of ovarian reserve in patients who will undergo IVF has been widely studied, mainly due to high costs and complexity of treatment. Yet, there is no consensus regarding the best predictor of ovarian response, although several studies have been published, a fact that may explain the existence of so many proposed tests.

The objective of establishing the best method or combination of these tests is to reduce the number of tests that a particular patient should be submitted for the evaluation of ovarian reserve, reducing the stress and financial burden, without however compromise the necessary information to perform an IVF treatment.⁽¹⁴⁾

Considering the age as the main variable, it was observed that there is an obvious and strong correlation that, the greater the age, the lower the volume of the ovaries, the number of antral follicles, and the number of recruited follicles. The inverse association of woman's age with low ovarian reserve is largely reported in other published studies.^(9,12,24) Choi *et al.* report that before the first IVF in a patient, 60% of the predicted prognostic is for the age, and 40% for other clinical factors.⁽²⁵⁾

Aboulghar *et al.* describe that the age remains as the primary determinant of success in AR cycles, however, at any age, women with high levels of AMH have higher success rate of oocyte recovery after follicular puncture than those with lower levels of AMH in the same age range.⁽⁸⁾

Surekha *et al.* confirm the data from our study when comparing the lack of significant association of FSH with ovarian reserve unlike other specific markers such as AMH and AFC.⁽²⁶⁾

In another retrospective study, Chuang *et al.* concluded that the basal FSH is a good marker for the remaining follicular pool.⁽²⁷⁾ Magalhães *et al.* described that it is difficult to find associations between FSH basal level and follicular count when patients with FSH levels greater than 15 UI/ml are excluded from the study⁽²⁸⁾, as it was done in our work. On the other hand, Abdalla *et al.* suggest that a high rate of FSH (>10 IU/ml) should not be a criterion for exclusion of patients for treatment with IVF, since the test represents a quantitative and not qualitative aspect of the ovarian reserve, i.e., despite having a low follicular pool, one patient not necessarily presents a poor oocyte quality specially the ones with less than 38 years of age.^(9,29)

Luna *et al.* describe that the cycle cancellation rates were significantly higher in patients with elevated FSH (≥ 13.03 IU/ml) on day 3, compared with patients with normal levels of FSH, in all age groups, similar to that found in our study.⁽¹⁷⁾

Regarding the ovarian volume, we found an association of this variable with the ovarian response. Some studies have shown that the reduction is related to poor response to ovarian stimulation, but the sensitivity and specificity are lower compared with AFC.^(9,14)

Considering AFC as a main variable, it was found in our work that a higher AFC relates to a greater number of recruited follicles, similar to Souza *et al.*⁽²⁴⁾ Magalhães *et al.* describe that the predictive power of AFC is substantially similar to the serum concentration of AMH,^(14,28) but with a higher sensitivity.⁽¹⁴⁾ The data from our work are also similar to Barbakadze *et al.* showing negative correlation between age and the AFC.⁽²¹⁾

Iliodromitri *et al.* describe progressive decline of AMH concentration with advancing age.⁽¹¹⁾ Other studies have reported a strong correlation between the number of antral follicles and the serum basal level of AMH.⁽¹⁸⁾ This relationship can be explained by the fact that AMH is produced by the theca cells of the antral follicles, therefore, the greater is the number of antral follicles, the greater will be the amount of hormone produced, increasing its concentration in the blood.⁽²⁸⁾

Similar to our study, Aflatoonian *et al.* when correlating AFC with recruited follicles greater than 18 mm, observed good sensibility and specificity (89 and 92% respectively), but used a cutoff point of 16 antral follicles while in our study they were 12.⁽³⁰⁾

Most of the bibliographic data obtained confirm that the AFC and the AMH can be used as a screening method to detect probable poor responders, or with lower reserve, as well as to predict the risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) and the cancellation of cycles, having the best predictive value of the number of oocytes collected in IVF cycles.^(1,3,7,18,19)

Broer *et al.* found a sensitivity of 82% and a specificity of 80% for a prediction of poor response.⁽³¹⁾ Kwee *et al.* found low response with a AFC lower than six, same cutoff point we used, with sensitivity of 73% and specificity of 95%.^(1,24,32)

To predict ovarian hiperstimulation syndrome (OHSS), Aflatoonian *et al.* showed that the AFC and the AMH have similar accuracy, with an area under the ROC curve of 0.961 and 0.922, respectively.⁽³⁰⁾ Martins *et al.* used 20 follicles as the cutoff point and showed that these women have an increased risk of OHSS.⁽³³⁾ Nastri *et al.* presented in a systematic review, that the evaluation by AFC and AMH dosage, before the ovulation induction cycle allows the prediction of the risk of OHSS, and that other baseline parameters, such as age and FSH levels, are less predictive accurate.⁽³⁴⁾

Although the combination of existing tests appears to be the most effective and useful conduct for counseling infertile patients, in an attempt to provide them with some expectations about the success of the proposed treatment,⁽⁹⁾ our work shows stability in predicting ovarian reserve and subsequent oocytes recovery after follicular puncture through a simple ultrasound routine exam used in pre-conception gynecological evaluation.

Therefore, it is important to investigate the ovarian reserve through AFC since it allows the optimization of treatment protocols, a reduction of traumatic occurrence of

cancelled cycles and fearful side effects of controlled stimulation for polifolliculogenesis, such as the OHSS.^(28,33)

Our AMH correlations were not statistically significant, probably due to the small number of patients who collected the serum sample for this type of marker.

Cohort studies may be subject to selection bias, as in our study, in which infertility patients submitted to RA were selected. Only women with FSH dosages lower than 15 UI/ml were included, therefore, bad potential responders were excluded and this selection may have attenuated the overall strength of the correlations.

One aspect that still requires further research and further studies is the fact that all existing tests, at the moment, are quantitative predictors of follicular pool, but are not able to evaluate the oocyte quality nor the pregnancy rates.⁽³⁵⁾

CONCLUSIONS

We concluded, in our work, that age and AFC are effective predictors of ovarian response in AR cycles. The ovarian volume, as well as the AMH dosage, also appear to be a suitable marker of ovarian reserve.

Future perspectives:

The AFC, when performed by the three-dimensional method appears to offer advantages over the two-dimensional, among which we refer the ability to produce images in three different planes; the possibility of virtual coloration of follicles, enabling not to repeat and/or not to fail to identify them, and thus eliminating the technical issue of AFC be operator-dependent;^(19,26) greater speed of the test execution and greater comfort for the patients, since the obtained images can be analyzed later.⁽²⁸⁾

The 3D ultrasound with SonoAVC is used in order to obtain more precision and better reproduction,⁽¹⁴⁾ however, early studies show no statistical difference between the two and three-dimensional evaluation.

In our service, this technic is already being used and, in the future, we can compare our data (two-dimensional evaluation) to study the correlation of the three-dimensional evaluation with serum levels of AMH, randomization of ovarian hyperstimulation protocols, with consequent follicular response, and dopplerfluxometric analysis of oocyte quality, results that could help to achieve better pregnancy outcomes.

V. REFERENCES

1. Vural B, Cakiroglu Y, Vural F, Filiz S. Hormonal and functional biomarkers in ovarian response. Arch Gynecol Obstet. 2014;289:1355-61.
2. Galliano D, Bellver J, García CD, Simón C, Pellicer A. ART and uterine pathology: how relevant is the maternal side for implantation? Hum Reprod Update. 2015;21:13-38.
3. Castro EC, Borges ALF, Rezende KN, Amaral WN. Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in *in vitro* fertilization cycles. Reprod Clim. 2014;29:136-42.
4. Beltadze K, Barbakadze L. Ovarian reserve in women of late reproductive age by the method of treatment of PCOS. Iran J Reprod Med. 2015;13(5):263-8.
5. Bentzen JG, Forman JL, Larsen EC, Pinborg A, Johannsen TH, Schmidt L, et al. Maternal menopause as a predictor of anti-mullerian hormone level and antral

- follicle count in daughters during reproductive age. *Hum Reprod.* 2013;28:247-55.
6. Broer SL, Van Disseldorp J, Broeze KA, Dolleman M, Opmeer BC, Bossuyt P, et al. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. *Hum Reprod Update.* 2013;19:26-36.
 7. Silveira CF, Coutinho LMA, Amaral WN, Castro EC. A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização *in vitro*: uma revisão sistemática. *Reprod Clim.* 2013;28:68-73.
 8. Aboulghar M, Saber W, Amin Y, Aboulghar MM, Serour G, Mansour R. Impact of antimullerian hormone assays on the outcomes of *in vitro* fertilization: a prospective controlled study. *Fertil Steril.* 2014;101:134-7.
 9. Silva ALB, Vilodre LCF. Avaliação da reserva ovariana: métodos atuais. *Femina.* 2009;37:149-54.
 10. Oliani AH, Vaz-Oliani DCM. Monitorização ultrassonográfica da indução da ovulação. In: Pastore AR, Cerri GG, editores. *Ultrassonografia em Ginecologia e Obstetrícia.* 2º ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2010. p. 950-9.
 11. Iliodromiti S, Anderson RA, Nelson SM. Technical and performance characteristics of anti-mullerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum Reprod Update* 2014; <http://humupd.oxfordjournals.org/content/early/2014/12/08/humupd.dmu062.full.pdf+html>.

12. Hsu A, Arny M, Knee AB, Bell MSC, Cook MDE, Novak AL, et al. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertil Steril.* 2011;95:474-9.
13. Kim SK, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH. What number of oocytes is appropriate for defining poor ovarian response? *Yonsei Med J.* 2015;56:482-9.
14. Panchal S, Nagori C. Comparison of anti-mullerian hormone and antral follicle count for assessment of ovarian reserve. *J Hum Reprod Sci.* 2012;5:274-8.
15. Mutlu MF, Erdem M, Erdem A, Yildiz S, Mutlu I, Arisoy O, et al. Antral follicle count determines poor ovarian response better than anti-mullerian hormone but age is the only predictor for live birth in *in vitro* fertilization cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30:657-65.
16. Jayaprakasan K, Deb S, Batch M, Hopkisson J, Johnson I, Campbell B, et al. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-mullerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2010;94:1775-81.
17. Luna M, Grunfeld L, Mukherjee T, Sandler B, Copperman AB. Moderately elevated levels of basal follicle-stimulating hormone in young patients predict low ovarian response, but should not be used to disqualify patients from attempting *in vitro* fertilization. *Fertil Steril.* 2007;78:782-7.
18. Salmassi A, Mettler L, Hedderich J, Jonat W, Deenadayal A, von Otte S, et al. Cut-off levels of anti-mullerian hormone for the prediction of ovarian response, *in vitro* fertilization outcome and ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Fertil Steril.* 2015;9(2):157-67.

19. Nelson SM, Klein BM, Arce JC. Comparison of antimullerian hormone levels and antral follicle count as predictor of ovarian response to controlled ovarian stimulation in good-prognosis patients at individual fertility clinics in two multicenter trials. *Fertil Steril*. 2015;103:923-30.
20. Broer SL, Broekmans FJM, Laven JSE, Fauser BCJM. Anti-mullerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update*. 2014;20:688-701.
21. Barbakadze L, Kristesashvili J, Khonelidze N, Tsagareishvili G. The correlations of anti-mullerian hormone, follicle-stimulating hormone and antral follicle count in different age groups of infertile women. *Int J Fertil Steril*. 2015;8:393-8.
22. Coelho Neto MA, Martins WP, Lima MLS, Barboza MPA, Nastri CO, R. A. Ferriani RA, et al. Ovarian response is a better predictor of clinical pregnancy rate following embryo transfer than is thin endometrium or presence of an endometrioma. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;46:501-505.
23. Lan VTN, Linh NK, Tuong HM, Wong PC, Howles CM. Anti-mullerian hormone versus antral follicle count for defining the starting dose of FSH. *Reprod BioMed Online*. 2013;27:390-9.
24. Souza MCB, Souza MM, Oliveira JBA, Henriques CA, Cardoso FFO, Mancebo ACA, et al. Utilização da contagem de folículos antrais para predição do padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação controlada com antagonista de GnRH. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007;30:36-41.

25. Choi B, Bosch E, Lannon BM, Leveille MC, Wong WH, Leader A, et al. Personalized prediction of first-cycle *in vitro* fertilization success. *Fertil Steril*. 2013;99:1905-11.
26. Surekha T, Himabindu Y, Sriharibabu M. Impact of socio-economic status on ovarian reserve markers. *J Hum Reprod Sci*. 2013;6:201-4.
27. Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing *in vitro* fertilization. *Fertil Steril*. 2003;79:63-8.
28. Magalhães ACF. Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-mulleriana em Procriação Medicamente Assistida [dissertação]. Covilhã (Castelo Branco): Universidade da Beira Interior; 2012.
29. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod*. 2004;19:893-8.
30. Aflatoonian A, Oskouian O, Ahmadi S, Oskouian L. Prediction of high ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation: anti-Müllerian hormone versus small antral follicle count (2-6 mm). *J Assist Reprod Genet*. 2009;26:319-25.
31. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril*. 2009;91(3):705-14.
32. Kwee J, Elting ME, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with *in vitro* fertilization. *Reprod Biol Endocrinol*. 2007;5:9.

33. Martins WP, M. Kollmann M, Raine-Fenning N. Counting ovarian follicles: updated threshold for diagnosis of hyperandrogenic anovulation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44:131-134.
34. Nastri CO, Teixeira DM, Moroni RM, Leitão VMS, Martins WP. Ovarian hyperstimulation syndrome: pathophysiology, staging, prediction and prevention. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;4:377-393.
35. Göksedef BP, Idiş N, Görgen H, Asma YR, Api M, Cetin A. The correlation of the antral follicle count and serum anti-mullerian hormone. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2010;11:212-5.

VI. TABLES

Tabela 1. Spearman Correlation between the ovarian volume and the AFC, and the number of recruited follicles.

Variable	P	AFCR	AFCL	Recruited follicles
right ovary volume	<0,0001	0,593		0,489
left ovary volume	<0,001		0,560	0,438

P: percentile; AFCR: antral follicle count in the right ovary; AFCL: antral follicles count in the left ovary

VII. FIGURES LEGENDS

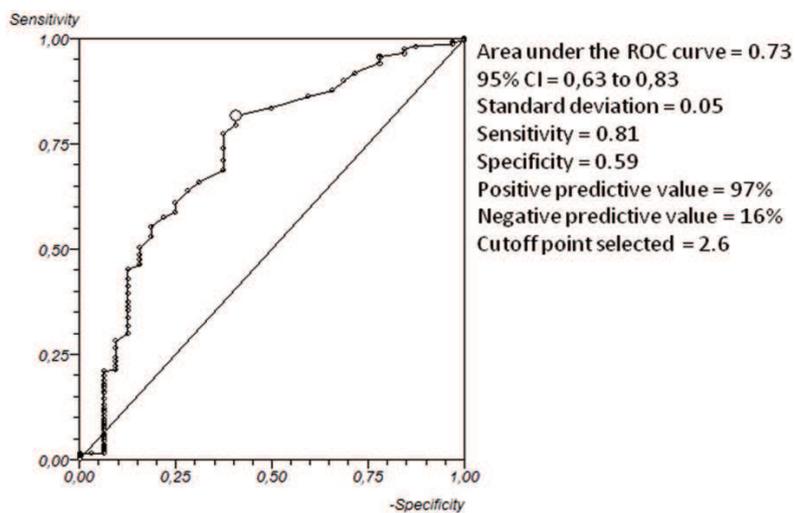


Figure 1. ROC Curve of the correlation between the ovarian volume and the recruited follicles greater than 18 mm.

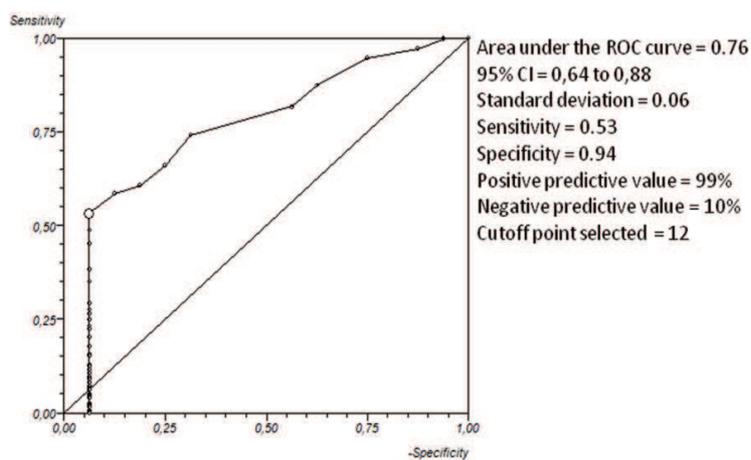


Figure 2. ROC Curve of the correlation between the number of antral follicles and the number of recruited follicles greater than 18 mm.

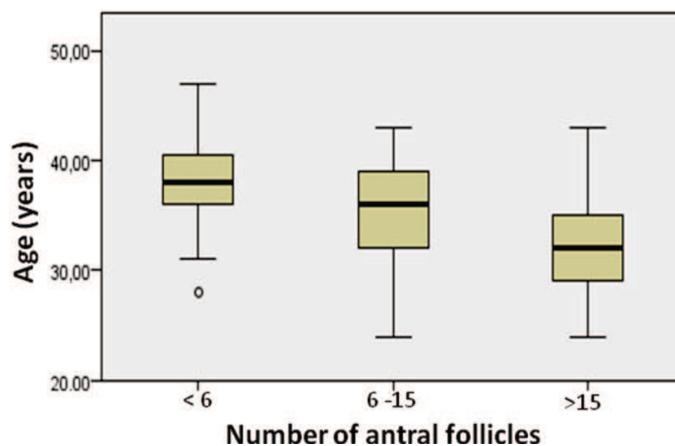


Figure 3. Relationship between age and the number of antral follicles. Test Kruskal-Wallis.

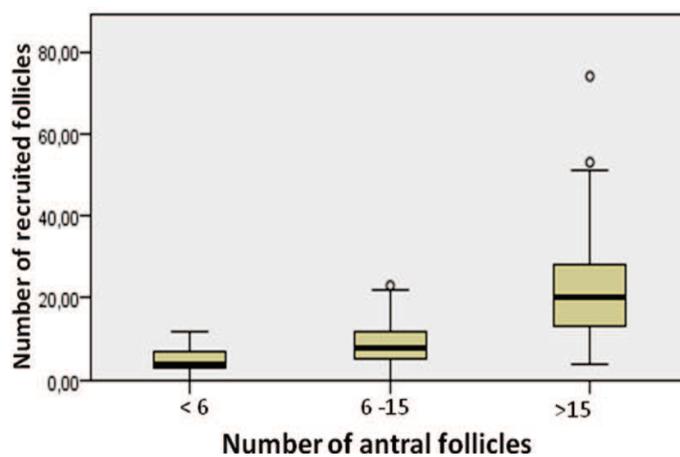


Figure 4. Relationship between the number of recruited follicles and the number of antral follicles. Test: Kruskal-Wallis.

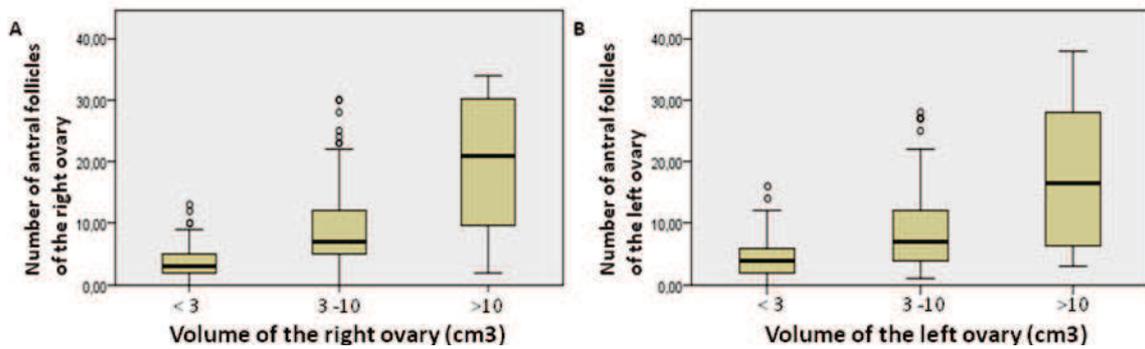


Figure 5. A: Relationship between the number of antral follicles of the right ovary and its respective volume. B: Relationship between the number of antral follicles of the left ovary with its respective volume. Test: Krustal-Wallis.

VII. ANEXO

Perspectivas futuras:

A contagem de folículos antrais, quando feita pelo método tridimensional, parece apresentar vantagens sobre o bidimensional, entre as quais: a capacidade de produzir imagens em três planos diferentes; a possibilidade de coloração virtual dos diferentes folículos (figura 25), o que permite não repetir e/ou não falhar na identificação dos mesmos e assim eliminar a questão técnica da CFA ser operador dependente; a maior rapidez na execução do exame e maior conforto para as pacientes, já que as imagens obtidas podem ser analisadas posteriormente.^(1,2)

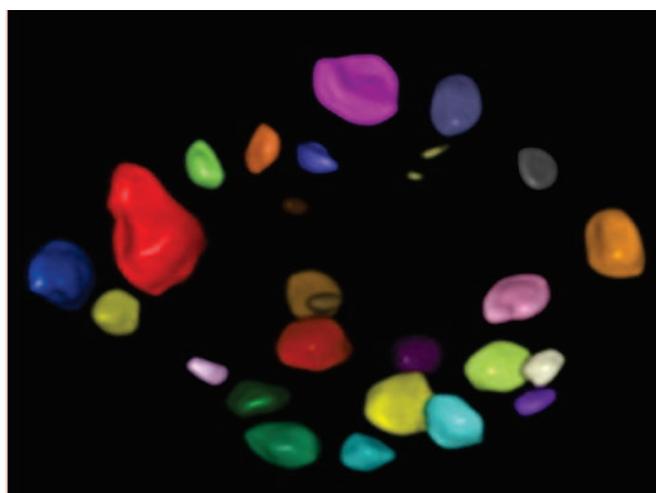


Figura 25. Imagem ecográfica de reconstrução tridimensional por via endovaginal do ovário direito evidenciando os folículos antrais através do SonoAVC.

O ultrassom 3D com SonoAVC é utilizado com a finalidade de obter mais precisão e reprodutibilidade,^(1,3) contudo, primeiros estudos não mostram diferença estatística entre a avaliação bi e tridimensional.

No nosso serviço essa técnica já está sendo utilizada e futuramente poderemos comparar nossos dados para estudar a correlação da avaliação tridimensional com as dosagens séricas do AMH, randomização dos protocolos de hiperestimulação ovariana com consequente resposta folicular e análise Dopplerfluxométrica da qualidade oocitária, resultados que poderão auxiliar para a obtenção de melhores resultados gestacionais.

Referências Bibliográficas:

1. Venturella R, Lico D, Sarica A, Falbo MP, Gulletta E, Morelli M et al. OvAge: a new methodology to quantify ovarian reserve combining clinical, biochemical and 3D-ultrasonographic parameters. *J Ovarian Res* 2015;8:8-21.
2. Magalhães ACF. Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-mulleriana em Procriação Medicamente Assistida [dissertação]. Covilhã (Castelo Branco): Universidade da Beira Interior; 2012.
3. Panchal S, Nagori C. Comparison of anti-mullerian hormone and antral follicle count for assessment of ovarian reserve. *J Hum Reprod Sci.* 2012;5:274-8.