

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**EDUARDO CAMELO DE CASTRO**

---

---

**EFEITO DA IDADE DA MULHER NA DOSAGEM SÉRICA DO FSH  
BASAL E NA CONTAGEM DOS FOLÍCULOS ANTRAIS  
OVARIANOS**

---

---

**Goiânia  
2011**

**EDUARDO CAMELO DE CASTRO**

---

---

**EFEITO DA IDADE DA MULHER NA DOSAGEM SÉRICA DO FSH  
BASAL E NA CONTAGEM DOS FOLÍCULOS ANTRAIS  
OVARIANOS**

---

---

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Waldemar Naves do Amaral

**Goiânia  
2011**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)  
GPT/BC/UFG**

C355 e Castro, Eduardo Camelo de Castro.  
Efeito da idade da mulher na dosagem sérica do FSH basal e na contagem dos folículos antrais ovarianos [manuscrito] / Eduardo Camelo de Castro. - 2011.  
71 f.

Orientador: Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2011.

Bibliografia.  
Inclui lista de abreviaturas e siglas.  
Apêndices.

1. Reserva Ovariana 2. FSH 3. Folículos Antrais. I.  
Título.

CDU: 618.11



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**  
**da Universidade Federal de Goiás**

**FOLHA DE APROVAÇÃO DE DEFESA DE**  
**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**“EFEITO DA IDADE DA MULHER NA DOSAGEM**  
**SÉRICA DO FSH BASAL E NA CONTAGEM DOS**  
**FOLÍCULOS ANTRAIS OVARIANOS”**

**Eduardo Camelo de Castro**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Waldemar Navés do Amaral - Presidente

Prof. Dr. Rui Gilberto Ferreira – Membro

Prof. Dr. Rodopiano de Souza Florêncio – Membro

Prof. Dr. Juarez Antônio de Souza – Suplente

Goiânia, 06 de dezembro de 2011.

***Dedico este trabalho***  
*Aos meus pais (Newton e Maria Lina)*

## **AGRADECIMENTOS**

---

*Ao Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral, pelo exemplo de médico trabalhador e pela confiança depositada para a realização desse trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Nilson Donadio, um dos pioneiros da Reprodução Humana na América Latina, por ter me ensinado o passado, o presente e o futuro da Reprodução Humana.*

*Aos colegas e amigos do Serviço de Reprodução Humana da Universidade Federal de Goiás, em especial ao Prof. Dr. Mario Silva Approbato e ao Prof. Dr. Rodopiano de Souza Florêncio pelo apoio na realização deste trabalho.*

*Ao atual Presidente da Associação Médica de Goiás, Prof. Dr. Rui Gilberto Ferreira pelo trabalho de incentivo a prática e a ciência médica no Estado de Goiás.*

*Ao atual presidente da Sociedade Brasileira de Mastologia – Regional de Goiás, Prof. Dr. Juarez Antônio de Souza que tem incentivado muito a Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia no Estado de Goiás.*

*Aos meus amigos e sócios da Fêmeina Reprodução Humana, hoje denominada Humana Medicina Reprodutiva, que colaboraram indiretamente na realização deste trabalho.*

*Aos meus professores da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo por terem me ensinado a medicina e em especial aos professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia por me ensinarem esta especialidade.*

*Ao Prof. Dr. Luiz Arnaldo Szutan, diretor da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, por ter orientado o meu trabalho do Programa de Iniciação Científica do CNPQ.*

*Ao Prof. Paulo Luiz Carvalho Francescantônio, diretor do Curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, um dos incentivadores dos meus trabalhos docentes.*

*A Enfermeira Mayra Martins Bastos, pelo grande apoio nos diversos trâmites burocráticos que acompanham uma dissertação.*

*A minha grande família, que esteve ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Em especial aos meus irmãos (Newton, Ernesto e Marcelo), por compreenderem alguns momentos de minha ausência no convívio familiar devido à produção deste trabalho.*

*A todos aqueles que, direta ou indiretamente, me apoiaram para a realização deste estudo.*

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
Reserva Ovariana .....	11
Hormônio Folículo Estimulante .....	13
Contagem dos Folículos Antrais .....	14
<b>2. OBJETIVO.....</b>	<b>16</b>
Objetivo Geral.....	16
Objetivos Específicos .....	16
<b>3. PUBLICAÇÕES.....</b>	<b>17</b>
Artigo 1 - Avaliação da reserva ovariana .....	18
Artigo 2 - Folículos antrais como marcadores da reserva ovariana .....	27
Artigo 3 – Nomograma correlacionando a idade com a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis.....	33
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>
Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa .....	61
Anexo 2. Normas para Publicação da Revista Reprodução e Climatério .....	62
Anexo 3. Normas para Publicação da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia .....	64



## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.

---

<b>AFC</b>	Antral follicle count
<b>CFA</b>	Contagem dos folículos antrais
<b>ESCA</b>	Esterilidade sem causa aparente
<b>FIV</b>	Fertilização in vitro
<b>FOP</b>	Falência ovariana prematura
<b>FSH</b>	Hormônio folículo estimulante
<b>HAM</b>	Hormônio antimülleriano
<b>UI / L</b>	Unidades internacionais por litro

## RESUMO

---

**OBJETIVOS:** Estabelecer a correlação entre as curvas da CFA e da dosagem sérica do FSH basal. Construir um nomograma correlacionando a idade com diferentes valores dos percentis da contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis.

**MÉTODO:** Estudo transversal de todas as pacientes atendidas no Centro de Reprodução Humana Fêmea no período 01/03/2010 a 01/10/2011. As pacientes foram submetidas à ultrassonografia transvaginal e a dosagem do FSH basal do 2º ao 4º dia do ciclo menstrual. Foram **incluídas** as pacientes de 21 a 45 anos, com ciclos regulares, dois ovários íntegros, sem evidência de endocrinopatias e que assinaram o consentimento. Foram **excluídas** as tabagistas, portadoras de galactosemia, cistos ovarianos, com antecedente de hepatopatia, cirurgia ginecológico-ovariana, tratamento com quimioterapia ou radioterapia. Os testes utilizados foram os coeficientes de correlação de Pearson, para dados paramétricos, e de Spearman para dados não paramétricos. Para verificar a evolução da CFA em relação à idade dos pacientes foram utilizados os percentis 5, 25, 50, 75 e 95. Foi feita uma regressão linear que possibilitasse perceber o efeito da idade sobre a CFA. Foi utilizado como nível de significância o valor de 5% ( $p < 0,05$ ).

**RESULTADOS:** Cento e setenta e duas pacientes foram incluídas no estudo, a idade média foi de 32,7 anos. A correlação entre a dosagem sérica do FSH basal e a CFA foi negativa e fraca ( $r = - 0,269$ ). O nomograma correlacionando a idade com os percentis 5, 25, 50, 75 e 95 da contagem dos folículos antrais foi melhor ajustado por uma função linear. Os percentis que apresentaram as correlações mais altas foram o 25 ( $r = - 0,960$ ;  $p < 0,001$ ), 50 ( $r = - 0,948$ ;  $p < 0,001$ ) e 75 ( $r = - 0,917$ ;  $p < 0,001$ ). Todas as correlações foram estatisticamente significantes.

**CONCLUSÃO:** A correlação entre a dosagem sérica do FSH basal e a CFA foi negativa e fraca. Construiu-se um nomograma correlacionando a idade com diferentes valores dos percentis da contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis sem endocrinopatias. Houve uma correlação linear, negativa e forte em todos os percentis.

**Palavras Chave:** Reserva Ovariana, FSH, Folículos Antrais, Ultrassonografia, Infertilidade.

## ABSTRACT

---

**OBJECTIVES:** To establish the correlation between the curves of the AFC and serum basal FSH as well as to construct a nomogram correlating age with different values of antral follicles counts percentiles in infertile patients. **METHODS:** A cross-sectional study of patients treated at Fêmeina Reprodução Humana was made from March 2010 to October 2011. The patients were submitted to transvaginal ultrasonography and basal FSH dosage from days 2 to 4 of their menstrual period. The patients included were the ones who were 21 to 45 years old, with regular menses, two healthy ovaries, without any evidence of endocrinopathies and that signed the consent. Patients excluded: smokers, with galactosemia or ovarian cysts, with antecedents of hepatopathies, ovarian surgeries or treated with chemotherapy or radiotherapy. Pearson's correlations coefficient was used to analyze the parametric data and Spearman's test to the non parametric data. To evaluate the evolution of the AFC in relation to age of patients the percentiles 5th, 25th, 50th, 75th and 95<sup>th</sup> were used. A linear regression was made to understand the effect of age on the AFC. **RESULTS:** One hundred and seventy-two patients were included in the trial with a mean age of 32.7 years old. There was a weak correlation between the dose of basal FSH and the AFC ( $r = - 0,269$ ). The age-related normogram for the 5rd, 25th, 50th, 75th and 95th percentile of antral follicle count revealed that changes were best fitted by a linear function. The percentiles that showed the highest correlations were 25 ( $r = - 0,960$ ;  $p < 0,001$ ), 50 ( $r = - 0,948$ ;  $p < 0,001$ ) and 75 ( $r = - 0,917$ ;  $p < 0,001$ ). All were statistically significant. **CONCLUSIONS:** The correlation between serum levels of FSH and AFC was negative and weak. A nomogram was constructed correlating age with different values of the percentiles of the antral follicle count in infertile women without endocrinopathies. There was a linear, strong and negative correlation in all percentiles.

**Keywords:** Ovarian Reserve, FSH, Antral Follicles, Ultrasonography, Infertility.

## 1. INTRODUÇÃO

---

### Reserva Ovariana

Nos países desenvolvidos, em função das tarefas da vida moderna, o desejo da maternidade e o início da vida reprodutiva têm se postergado para fases da vida mais tardias. A constante busca pela realização profissional e a necessidade da estabilidade econômica vêm fazendo com que as mulheres passem a programar a chegada dos filhos para depois dos 35 anos (CASTRO & AMARAL, 2009).

No nascimento há aproximadamente 2.000.000 de oócitos nos ovários humanos. Na menarca estão reduzidos a aproximadamente 250.000. Há uma perda mensal de grande número deles até a menopausa, quando não se encontra mais nenhum oócito (SPEROFF et al., 1991).

Reserva ovariana é o *pool* de folículos ovarianos disponíveis para recrutamento. Representa o potencial funcional do ovário através da quantidade e da qualidade dos oócitos (MAHESHWARI et al., 2006).

Diminuição da reserva ovariana é um processo de declínio da fecundidade associado tanto à depleção folicular dos ovários quanto à piora da qualidade oocitária (BROEKMANS et al., 2006).

Provavelmente haja um consumo folicular mais acelerado em tabagistas (EL-NEMR et al., 1998; POPOVIC-TODOROVIC et al., 2003) e em pacientes submetidas a cirurgias ginecológico-ovarianas (MELICA et al., 1995). O uso de quimioterápicos também pode destruir um número importante de folículos primordiais ovarianos (WALLACE e KELSEY, 2004). A endometriose também pode reduzir a contagem de folículos antrais ovarianos (BROEKMANS et al., 2010).

A reserva ovariana pode variar de forma significativa entre mulheres de mesma idade. Um declínio na função reprodutiva feminina torna-se evidente cerca de dez anos antes do seu término e a fertilidade diminui durante a quarta década de vida (BURGER et al., 2002).

Autores sugerem que apenas a idade não prediz de forma confiável a capacidade reprodutiva de uma mulher (JAIN et al., 2004). Por isso outros métodos que avaliam essa função têm sido estudados.

Funções da avaliação da reserva ovariana:

1. Oferecer um prognóstico para pacientes inférteis que serão submetidas a técnicas de reprodução assistida.
2. Acompanhar pacientes com suspeita ou história familiar de falência ovariana prematura (FOP).
3. Avaliar previamente jovens que serão submetidas a tratamentos para neoplasias que podem acarretar perda da fertilidade futura.
4. Auxiliar na decisão da realização de uma ooforectomia profilática em mulheres selecionadas.

Essa variedade de funções mostra a importância de se estabelecer correlações e nomogramas para os testes de reserva ovariana.

Um bom teste de reserva ovariana deve ser preditivo de concepção, indicar a duração provável da atividade dos ovários, mostrar a chance de ter um recém-nascido vivo e indicar a dose real de estimulação ovariana (MAHESHWARI et al., 2006). Atualmente não há exames confiáveis e altamente sensíveis para avaliar esses fatores nas mulheres (Al-AZEMI et al., 2011).

Na tentativa de se avaliar a reserva ovariana, diversos testes têm sido propostos. Estes testes podem ser divididos em estáticos e dinâmicos. Os testes estáticos são conhecidos como "testes basais" e comumente são realizados no terceiro dia do ciclo menstrual, destacando-se entre eles a medida do volume ovariano (HENDRIKS et al., 2007), a contagem de folículos antrais ovarianos (ROSEN et al., 2010), a dosagem do FSH basal (CASTRO e AMARAL, 2009), a dosagem da inibina B (HOFMANN et al., 1998) e o Hormônio Antimülleriano (LA MARCA et al., 2010).

Os testes estáticos (basais) são comumente realizados no terceiro dia do ciclo menstrual, destacando-se neste estudo a dosagem do FSH basal e a contagem de folículos antrais ovarianos.

Os testes com agonistas do GnRH e com FSH exógenos não apresentam resultados superiores aos outros testes classicamente usados, sendo menos eficazes do que a CFA na predição da reserva ovariana (HAADSMA et al., 2007).

## Hormônio Folículo Estimulante

Há muitos anos vem sendo descrito na literatura que o FSH basal seria melhor preditor da resposta ovariana do que a idade (SHARIF et al., 1998) e a dosagem do FSH é o teste mais amplamente utilizado na avaliação da reserva ovariana (BROEKMANS et al., 2006).

O FSH sérico basal reflete o estoque folicular dos ovários em um determinado momento da vida reprodutiva. À medida que diminui a reserva folicular, os níveis basais do FSH se elevam. Por isso o FSH tem sido utilizado como um marcador de insuficiência ovariana; um FSH alto está associado a baixas taxas de sucesso em técnicas de reprodução assistida. Os valores considerados normais do FSH sérico variam entre 3 e 15 UI/L (CHUANG et al., 2003).

Na prática clínica, há necessidade de se estabelecer valores de referência para o FSH nas diferentes idades. Após exclusão das mulheres com fatores de risco de antecipação da falha ovariana, os níveis de FSH deveriam ser estabelecidos de modo pontual em mulheres saudáveis nas diferentes faixas etárias. Faltam estudos neste sentido (MEDEIROS S & MEDEIROS M, 2007).

Um trabalho com 119 mulheres chinesas mostra uma correlação fraca entre o FSH basal e a idade ( $r = 0,215$ ;  $p = 0,02$ ) (NG et al., 2003). Estudo norte americano, com 42 mulheres, mostra uma correlação moderada do FSH basal com a idade ( $r = 0,509$ ;  $p < 0,001$ ) (PASTOR et al., 2005). Estes e outros estudos mostram também uma correlação negativa e fraca entre o FSH basal e a CFA (HAADSMA et al., 2007).

A idade da mulher e o FSH basal são associados de forma independentes aos resultados da FIV. Um estudo com pacientes submetidas à FIV concluiu que o FSH basal é um marcador do tamanho do pool folicular remanescente. Observou-se também que mulheres de idade avançada, mesmo com níveis baixos desse hormônio, demonstraram resultados limitados no tratamento. Isso sugere que a idade deve ser levada em consideração antes da dosagem do FSH na estimativa de sucesso da FIV (CHUANG et al., 2003).

Outro estudo observou que o FSH basal alto não deve ser critério de exclusão de pacientes para 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

oócitaria, especialmente se for jovem (ABDALLA & THUM, 2004).

O FSH basal, no entanto, parece não ser um bom marcador da perda gradual da capacidade funcional do ovário com a idade (AHMED EBBIARY et al., 1994; BROEKMANS et al., 1998).

### **Contagem dos Folículos Antrais**

Na última década, estudos mostraram que a CFA está relacionada à reserva ovariana e diminui com o avançar da idade (POPOVIC-TOOROVIC et al., 2003; HENDRIKS et al., 2007).

Considera-se como mínima uma contagem de dez folículos antrais na soma dos dois ovários, para a obtenção de taxas adequadas de gestação (AVRIL, 2006). Alguns trabalhos demonstram uma correlação linear entre a CFA e a idade (ROSEN et al., 2010).

A CFA seria capaz de identificar 89% das más respondedoras previamente à estimulação com gonadotrofinas exógenas. Autores encontraram associação significativa com o número de oócitos obtidos após ciclos induzidos e com a probabilidade de gravidez química (MUTTUKRISHNA et al., 2005). Outro estudo admite a importância da CFA como teste de rastreamento para predição da má resposta ovariana (BROEKMANS et al., 2006).

Existem poucos dados na literatura que suportem a utilização de um único marcador para determinar a reserva ovariana de uma paciente (Al-AZEMI et al., 2011). A CFA associada ao FSH basal parece ser a abordagem de menor custo na avaliação atual do casal infértil (CASTRO & AMARAL, 2009).

O primeiro passo para o aconselhamento das pacientes em uma base científica seria o estabelecimento de nomogramas que correlacionem marcadores da reserva ovariana com a idade (LA MARCA et al., 2011).

Um estudo com 56 mulheres demonstrou a correlação entre a CFA e HAM (ELDAR-GEVA et al., 2005) e outro, com 81 pacientes, mostraram como os níveis HAM se correlacionam com as concentrações séricas do FSH na definição da reserva ovariana (SINGER et al., 2009). No entanto, foram encontrados poucos estudos, na literatura mundial, que estudaram a correlação da CFA com as dosagens séricas do FSH.

A demonstração que existe uma correlação estreita entre a curva da

dosagem do FSH e da contagem dos folículos antrais poderá permitir uma racionalização dos custos da avaliação da reserva ovariana.

A existência de poucos dados na literatura que suportem a utilização de um único marcador para determinar a reserva ovariana (AL-AZEMI et al., 2011), o baixo custo da avaliação com a CFA associada ao FSH basal (CASTRO E AMARAL, 2009), a necessidade de estabelecimento de nomogramas ou curvas que correlacionem marcadores da reserva ovariana com a idade para aconselhamento das pacientes (LA MARCA et al., 2011) e a escassez de trabalhos correlacionando o FSH basal e a CFA justificaram a realização deste trabalho. Estudos também sugerem diferenças étnicas nas curvas de declínio da contagem dos folículos antrais com a idade (NG EH, 2003) e isto seria mais uma justificativa para este estudo em uma população brasileira.



## **2. OBJETIVOS**

---

### **Objetivo Geral**

Avaliar o efeito da idade sobre a dosagem do hormônio folículo estimulante e a contagem dos folículos antrais ovarianos.

### **Objetivos Específicos**

Fazer uma revisão bibliográfica sobre os principais métodos de avaliação da reserva ovariana.

Avaliar a correlação entre a contagem dos folículos antrais e a dosagem sérica do hormônio folículo estimulante.

Construir um nomograma relacionando a idade com a contagem dos folículos antrais em uma população de pacientes inférteis.

### 3. PUBLICAÇÕES

---

**Artigo 1** – Avaliação da Reserva Ovariana

Eduardo Camelo de Castro e Waldemar Naves do Amaral

Revista Reprodução e Climatério. (Publicado)

**Artigo 2** – Folículos antrais ovarianos como marcadores da reserva ovariana.

Eduardo Camelo de Castro, Rodopiano de Souza Florêncio, Gercino Monteiro Filho e Waldemar Naves do Amaral.

Revista Reprodução e Climatério. (Publicado)

**Artigo 3** - Nomograma correlacionando a idade com a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis.

Eduardo Camelo de Castro, Rodopiano de Souza Florêncio, Gercino Monteiro Filho e Waldemar Naves do Amaral.

Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Submetido para publicação).

---

---

**Artigo 1**  
Avaliação da Reserva Ovariana

# Avaliação da reserva ovariana

## Assessment of ovarian reserve

Eduardo Camelo de Castro<sup>1</sup>, Waldemar Naves do Amaral<sup>2</sup>



O Doutor **Eduardo Camelo de Castro** é formado, fez Residência em Ginecologia e Obstetrícia e Curso de Especialização em Reprodução Humana na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP). É Diretor Técnico do Centro de Reprodução Humana Fêmeina, Professor da Unidade de Saúde da Mulher do Curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO) e Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás (UFG).

### Resumo

A diminuição da reserva ovariana é um processo de declínio da fecundidade associado tanto à depleção folicular dos ovários quanto à piora da qualidade oocitária que ocorre com o avanço da idade feminina. Na tentativa de avaliar a reserva ovariana, são realizados testes, como a medida do volume ovariano, a contagem dos folículos antrais do ovário, a dosagem basal do hormônio folículo-estimulante, a dosagem de inibina-B, do hormônio anti-mülleriano e o teste do clomifeno. A contagem folicular antral associada ao hormônio folículo-estimulante basal parece ser a abordagem de menor custo na avaliação do casal infértil, mas a contagem folicular antral associada aos níveis séricos de anti-mülleriano tem o maior poder preditivo de sucesso no tratamento de reprodução assistida.

**Unitermos:** Ultrassonografia; Hormônio anti-mülleriano; Fertilização *in vitro*.

### Abstract

The ovarian reserve diminution is a fecundity decrease process associated both to the follicular depletion of the ovaries as well as to the decline of the oocyte quality that happens due to female ageing. Tests like the ovarian volume measurement, the ovarian basal antral follicle counting, the basal follicle-stimulating hormone level, the dosage of the inhibin B and of the anti-Müllerian hormone, and the clomiphene citrate challenge test are made trying to evaluate the ovarian reserve. The basal antral follicle count associated to the basal follicle-stimulating hormone dosage seems to be the lowest cost approach in the evaluation of the infertile couple, but the basal antral follicle count associated to the serum anti-Müllerian levels has higher success predictive power in the assisted reproduction treatment.

**Uniterms:** Ultrasonography; Anti-mullerian hormone; Fertilização *in vitro*.

<sup>1</sup> Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás (UFG); Professor da Unidade de Saúde da Mulher do Curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-Goiás); Diretor Técnico do Centro de Reprodução Humana Fêmeina – Goiânia (GO), Brasil.

<sup>2</sup> Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFG; Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana; Professor do Curso de Pós Graduação em Ciências da Saúde da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

Endereço para correspondência: Eduardo Camelo de Castro – Alameda Coronel Joaquim Bastos, 120, sala 8 – Setor Marista – CEP 74150-175 – Tel.: (62) 3093-8073 – E-mail: dr.eduardodecastro@gmail.com

## Introdução

Nos países desenvolvidos, em função das tarefas da vida moderna, o desejo da maternidade e o início da vida reprodutiva têm se postergado para fases da vida nas quais nem sempre a capacidade reprodutiva contribui isso. A constante busca pela realização profissional e a necessidade da estabilidade econômica vêm fazendo com que as mulheres passem a programar a chegada do bebê para depois dos 35 anos.

No nascimento, há aproximadamente 2 milhões de oócitos nos ovários humanos. Na menarca, eles estão reduzidos a aproximadamente 250 mil<sup>1</sup>. Após os 35 anos, alterações funcionais hipotálamo-hipofisárias antecedem, em vários anos, a exaustão folicular e desencadeiam uma aceleração no consumo folicular. Esta diminuição é precedida da elevação do hormônio folículo-estimulante (FSH) sérico e acompanhada clinicamente das primeiras alterações no intervalo dos ciclos menstruais<sup>2</sup>. Aos 50 anos, com ciclos menstruais ainda regulares, cada ovário contém 2.500 a 4.000 folículos<sup>3</sup>. Percebe-se, então, que há uma perda mensal de grande número dos oócitos até a menopausa, época em que não há nenhum oócito<sup>4</sup>.

É provável que haja um consumo folicular mais acelerado em tabagistas, em portadoras de galactosemia e em mulheres submetidas a cirurgias ginecológico-ovarianas<sup>4</sup>. Nas pacientes sobreviventes de neoplasias na infância, a fertilidade também é preocupante, já que os quimioterápicos podem destruir um número importante de folículos primordiais ovarianos<sup>5</sup>. Estas variáveis teriam possível repercussão sobre a reserva ovariana.

Reserva ovariana é o *pool* de folículos ovarianos disponíveis para recrutamento, e representa o potencial funcional do ovário através do número e da qualidade oocitária<sup>6,7</sup>.

A diminuição da reserva ovariana é um processo de declínio da fecundidade associado tanto à depleção folicular dos ovários quanto à piora da qualidade oocitária<sup>8</sup>. Parece haver, também, uma diminuição da resposta ovariana a quantidades crescentes de gonadotrofinas. A elevação compensatória de FSH nem sempre é acompanhada de diminuição de estradiol ou inibina-B<sup>9</sup>. Os níveis basais de hormônio luteinizante (LH), relevantes na fase folicular tardia, permanecem mais estáveis e elevam-se tardiamente na vida reprodutiva, no período pré-menopausa<sup>10,11</sup>.

Entre mulheres de mesma idade, a reserva ovariana pode variar de forma significativa<sup>12,13</sup>. Um declínio na função reprodutiva das mulheres torna-se evidente cerca de dez anos antes do seu término, e a fertilidade diminui durante a quarta década de vida, período associado a modificações já referidas na secreção de gonadotrofinas<sup>10</sup>.

O recrutamento e o desenvolvimento de múltiplos folículos ovarianos em resposta ao estímulo com gonadotrofinas são realizados no tratamento com fertilização *in vitro* (FIV). A resposta

ovariana a este tipo de tratamento é variável e imprevisível. O número de folículos em desenvolvimento durante a estimulação ovariana tem relação direta com a quantidade de oócitos captados e exerce influência sobre o número de embriões disponíveis para seleção, transferência e congelamento. Assim, está relacionado com maior ou menor chance de gestação. Em aproximadamente 10% dos casos ocorre baixa resposta ao tratamento proposto associada diretamente à redução do número de oócitos captados, ao aumento do número de ciclos cancelados e a índices menores de gravidez<sup>8</sup>.

Autores sugerem que apenas a idade não prediz de forma confiável a capacidade reprodutiva de uma mulher<sup>14</sup>. Por isso, outros métodos que avaliam essa função têm sido estudados. Essa avaliação se aplica a pacientes inférteis que serão submetidas a técnicas de reprodução assistida com a intenção de selecionar aquelas que apresentam bom prognóstico para gravidez viável, a pacientes com suspeita ou história familiar de falência ovariana prematura (FOP) e a jovens que serão submetidas a tratamentos para neoplasias que podem acarretar perda da fertilidade futura.

Um bom teste de reserva ovariana deve ser preditivo de concepção, deve indicar a duração provável da atividade dos ovários, apontar a chance de recém-nascido vivo e indicar a dose real de estimulação ovariana<sup>6</sup>. Atualmente, não há exames confiáveis e altamente sensíveis capazes de avaliar esses fatores em mulheres na menarca.

Com o intuito de avaliar essa reserva ovariana, diversos testes têm sido propostos, podendo ser divididos em estáticos e dinâmicos<sup>15</sup>. Os testes estáticos são conhecidos como "testes basais" e são comumente realizados no terceiro dia do ciclo menstrual, destacando-se entre eles a medida do volume ovariano antes do GnRH-a<sup>16,17</sup>, o número de folículos antrais presentes antes da estimulação,<sup>8</sup> a dosagem basal do FSH<sup>18,19</sup> e a dosagem de inibina-B<sup>20,21</sup>. O Hormônio Antimülleriano (HAM) também tem sido muito estudado. Dentre os testes dinâmicos, destacam-se os testes com citrato de clomifeno (TCC), com agonista do GnRH (TAG) ou com hormônio folículo-estimulante exógeno (TFE).

## Ultrassonografia transvaginal

Marcadores ultrassonográficos têm sido avaliados como preditores de resposta aos tratamentos com indução da ovulação. O volume ovariano<sup>22</sup>, a contagem dos folículos antrais (CFA)<sup>8,23,24</sup> e o fluxo sanguíneo do estroma ovariano<sup>25,26</sup> têm sido aparentemente úteis na avaliação da reserva ovariana.

O volume ovariano e a CFA diminuem com o avançar da idade<sup>27</sup>.

O volume ovariano menor que 3 mL tem sido considerado indicativo de mau prognóstico reprodutivo. Sugere-se que o volume ovariano dos 25 aos 50 anos esteja diretamente relacionado à população folicular remanescente<sup>5</sup>. Essa medida não é

expressiva quando analisada isoladamente, devendo, portanto, ser associada a outros marcadores da reserva ovariana<sup>6</sup>.

Alguns trabalhos demonstram aparente correlação entre a CFA e o estado funcional dos ovários. Ela parece refletir o número de folículos primordiais remanescentes<sup>5</sup>, podendo ter alguma ligação com a quantidade de ciclos cancelados nas pacientes más respondedoras e com o número de oócitos aspirados<sup>14</sup>.

A CFA envolve a medida de folículos entre 2 e 10 mm, variando entre os centros de estudo. Considera-se que essa contagem depende do tamanho do *pool* folicular primordial do qual os folículos são recrutados<sup>28-30</sup>. Mulheres com mais folículos antrais tendem a produzir mais folículos maduros e ovos fertilizados em resposta à administração do FSH<sup>31</sup>. Considera-se como mínima uma contagem de dez folículos antrais na soma dos dois ovários para a obtenção de taxas adequadas de gestação<sup>30</sup>. A maioria dos trabalhos demonstra uma relação íntima entre esse parâmetro e a idade<sup>5,23</sup>.

Uma meta-análise demonstrou que a CFA é superior à medida do volume dos ovários na avaliação de má resposta à FIV<sup>27</sup>. Esse e outros estudos demonstraram também a superioridade da CFA em relação à dosagem de gonadotrofinas basais na predição de resposta à hiperestimulação ovariana nos ciclos de FIV<sup>27,32</sup>.

Alguns estudos mostram que a CFA apresenta nítida correlação positiva com as concentrações dos marcadores séricos, principalmente com o hormônio anti-mülleriano<sup>33,34</sup> e com os testes dinâmicos, e sugerem que a CFA seja um dos melhores parâmetros funcionais quantitativos de reserva ovariana<sup>29,32</sup>.

A CFA seria capaz de identificar 89% das pacientes más respondedoras previamente à estimulação com gonadotrofinas exógenas. Apesar da especificidade de 39%, os autores encontraram associação significativa entre o número de oócitos obtidos após ciclos induzidos e a probabilidade de gravidez química<sup>35</sup>. Outro estudo admite a importância da CFA como teste de *screening* para predição da má resposta ovariana<sup>36</sup>.

## Exames hormonais

A utilização de dosagens hormonais para a investigação da função ovariana já está bem estabelecida. Entre os testes mais solicitados, estão as dosagens séricas do FSH e da inibina-B no terceiro dia do ciclo.

## Hormônio folículo-estimulante

O FSH é o hormônio-chave para o crescimento folicular, sendo que seus níveis basais refletem o estoque folicular de ambos os ovários em um determinado momento da vida reprodutiva. À medida que a reserva folicular diminui, os níveis basais do FSH se elevam. Por isso, o FSH tem sido utilizado como um marcador

de insuficiência ovariana, e um FSH alto está associado a baixas taxas de sucesso em técnicas de reprodução assistida. Os valores considerados normais do FSH sérico variam entre 3 e 15 UI. A idade da mulher e o FSH basal estão associados de forma independentes aos resultados da FIV. Um estudo com pacientes submetidas à FIV concluiu que o FSH basal é um marcador do tamanho do *pool* folicular remanescente. Observou-se também que mulheres de idade avançada, mesmo com níveis baixos desse hormônio, demonstraram resultados limitados no tratamento, o que sugere que a idade deve ser levada em conta antes da dosagem do FSH na estimativa de sucesso da FIV<sup>7</sup>. Outro estudo observou que o FSH alto não deve ser critério de exclusão de pacientes para 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. Sugere-se que o FSH basal seja usado para aconselhar as pacientes sobre suas chances de sucesso de uma gestação<sup>37</sup>.

O objetivo da dosagem do FSH, inibina-B e estradiol no terceiro dia do ciclo é essencialmente baseado na habilidade do folículo antral precoce de produzir inibina-B e estradiol em resposta ao FSH. Esses marcadores apresentam variáveis de confusão ligadas ao status de crescimento folicular e discrepância do folículo antral durante a fase folicular precoce<sup>38</sup>. Essas limitações podem explicar a variabilidade dos resultados desses hormônios de um ciclo ao outro<sup>39-44</sup>.

## Inibina-B

Trata-se de um hormônio produzido pelas células da granulosa de folículos em crescimento. Representa uma medida mais imediata da atividade ovariana que outros marcadores séricos. Os níveis de inibina-B considerados normais estão em torno de 100 pg/mL<sup>45</sup>.

Os níveis de FSH aumentam e os níveis de inibina-B diminuem com o tempo, mas essas mudanças ocorrem fisiologicamente somente em mulheres com mais de 40 anos<sup>46</sup>. Uma diminuição da inibina-B no terceiro dia do ciclo pode prever uma baixa reserva ovariana antes mesmo do aumento esperado do FSH basal.

Alguns autores, entretanto, recomendam que este teste não seja usado para prever a resposta de tratamentos de FIV, já que pode ser influenciado por fatores como a quantidade de gordura corporal<sup>5</sup>.

## Hormônio Anti-mülleriano

O hormônio anti-mülleriano (HAM) parece ter ação regulatória no desenvolvimento e crescimento foliculares, exercendo uma ação inibitória sobre o crescimento de folículos primordiais

e sobre o crescimento folicular induzido pelo FSH<sup>47</sup>. Por estas razões, a dosagem do HAM é atualmente um promissor biomarcador do status ovariano<sup>48</sup>.

Após o nascimento, o HAM é expresso pelas células da granulosa de folículos ovarianos em crescimento<sup>49</sup>. Do nascimento até a puberdade, os níveis de HAM circulantes são irrisórios, mas eles aumentam daí em diante, provavelmente como resultado do crescimento folicular, e permanecem em níveis detectáveis no sangue até o final da vida reprodutiva<sup>50</sup>.

Nos anos que precedem a menopausa, ocorrem alterações no ciclo menstrual. Entretanto, sabe-se que antes de se dar esta manifestação clínica, a reserva ovariana já está em declínio, gerando subfertilidade<sup>51</sup>. Mulheres na pós-menopausa e ooforectomizadas apresentam níveis indetectáveis de HAM<sup>45,46</sup>.

O HAM é secretado exclusivamente nas gônadas, e seus níveis séricos são considerados um reflexo do estoque folicular<sup>46</sup>. Isto foi confirmado por vários pesquisadores que demonstraram a existência de uma correlação entre a concentração sérica de HAM e a CFA no ultrassom<sup>29,49,52</sup>. Existe também uma melhor relação do HAM com a CFA em comparação às dosagens séricas de FSH, inibina-B e estradiol<sup>53</sup>. A CFA dá uma idéia do número de folículos em crescimento e, portanto, de forma indireta, do tamanho do conjunto de folículos primordiais. Como o HAM é produzido pelos folículos antrais em crescimento até o momento da seleção (4 a 6 mm)<sup>54</sup>, ele pode servir como um marcador sérico da reserva ovariana.

Autores sugerem que os folículos antrais precoces (2-12 mm) são provavelmente os maiores produtores de HAM na mulher adulta<sup>35,55,56</sup> e tem papéis diretos ou indiretos em várias fases da foliculogênese: do primordial aos estágios foliculares sensíveis ao FSH<sup>57,58</sup>.

Em mulheres regularmente ovulatórias, os níveis séricos do HAM medidos no terceiro dia do ciclo menstrual foram associados positivamente com a resposta ovariana a estimulação controlada<sup>59,60</sup>.

O HAM apresenta peculiaridades que o diferem dos outros marcadores da reserva ovariana: constitui o fator que se altera mais precocemente com a idade, apresenta a menor variabilidade dos níveis séricos entre os ciclos menstruais e durante o mesmo ciclo, pode ser dosado em qualquer dia do ciclo menstrual sem alterar seus resultados e apresenta resultados mais fidedignos e substanciais de associação ao *pool* folicular<sup>52</sup>. O HAM é expresso pelas células de vários folículos do estágio primário ao antral precoce<sup>54,56,57</sup>. Após o estágio antral precoce, os folículos perdem progressivamente a capacidade de expressar o HAM<sup>56</sup>. Estudos sugerem que a produção do HAM pelos folículos ovarianos seja independente do FSH<sup>55,61</sup>.

A relação quantitativa entre o HAM e a resposta ovariana à estimulação controlada pode resultar da correlação positiva que

existe entre níveis periféricos de HAM e o número dos folículos antrais precoces no terceiro dia<sup>45,62</sup>. Os níveis séricos de HAM foram significativamente mais baixos nas pacientes más respondedoras do que naquelas que tiveram boa resposta<sup>46</sup>.

Sabe-se que mulheres normo-ovulatórias demonstram concentrações decrescentes de HAM com o passar da idade, sendo que essas mudanças são detectadas mais precocemente do que outras alterações hormonais, como o aumento do FSH e a baixa da inibina-B, assim como a diminuição folicular e pode ser demonstrada pela ultrassonografia transvaginal<sup>29,57</sup>. Acredita-se que as alterações dos marcadores da função ovariana iniciam com um declínio sérico do HAM, seguido pela diminuição de inibina-B e, por último, o aumento do FSH<sup>45,52</sup>.

Autores mostraram que a concentração sérica do HAM não se relaciona exclusivamente com o número de folículos, mas também com a habilidade de cada folículo em produzir o HAM. Logo, uma elevada concentração sérica de HAM indica não somente um grande número de folículos antrais, mas também que cada folículo provavelmente produz mais HAM individualmente. Isso poderia refletir não só quantitativamente, mas qualitativamente na resposta ovariana à estimulação<sup>62</sup>.

Dados clínicos têm indicado que a concentração sérica do HAM durante a fase folicular precoce do ciclo menstrual reflete o número de oócitos recuperados após ciclos estimulados<sup>49,59,63,64</sup>. Trabalhos posteriores mostraram que a concentração sérica de HAM no terceiro dia foi positivamente relacionada com a taxa de gravidez em ciclos estimulados<sup>55,65</sup>, predizendo resultados na FIV<sup>66-68</sup>.

Faz-se necessário mais estudos para comprovar se o HAM também pode ser um parâmetro qualitativo do *pool* folicular, e não apenas quantitativo, como os demais testes existentes. Mais estudos também são necessários para o estabelecimento de níveis padronizados de normalidade.

Como mencionado anteriormente, estudos evidenciaram uma forte correlação dos níveis de HAM com a contagem folicular antral, com o número de oócitos captados, com a idade, com os níveis de FSH e com a inibina B, mas a contagem folicular antral e os níveis séricos de HAM foram os dois parâmetros de maior poder preditivo de sucesso no tratamento de reprodução assistida.

## Testes dinâmicos

Os testes dinâmicos ou provocativos estudam a resposta funcional dos ovários a estímulos hormonais exógenos. Os mais utilizados são: o teste de estímulo com agonista do GnRH, o teste com FSH exógeno e o teste do clomifeno<sup>29</sup>.

Os testes com agonistas do GnRH e com FSH exógenos não apresentam resultados superiores aos outros testes classicamente

usados, sendo menos eficazes do que a dosagem de FSH basal e a CFA para prever a reserva ovariana. Por isso não são preconizados na rotina de investigação de pacientes inférteis e, portanto, não serão discutidos nesta revisão.

### Teste do clomifeno

No teste do clomifeno, realiza-se a dosagem do FSH no terceiro dia da menstruação. Em seguida, promove-se uma estimulação ovariana com 100 mg de citrato de clomifeno do quinto ao nono dia do ciclo menstrual e os valores de FSH são reavaliados no décimo dia do mesmo ciclo<sup>69</sup>. Nos casos de ovários com boa carga oocitária, a elevação do FSH do décimo dia será suprimida por retrocontrole negativo exercido pelo estradiol e pela inibição produzidos pelos folículos em desenvolvimento. Caso não haja folículos, há elevação dos níveis FSH nesta segunda dosagem<sup>69</sup>. A soma da dosagem do FSH do terceiro dia com a do décimo dia do ciclo acima de 20 UI está associada à baixa resposta funcional e a um prognóstico desfavorável nos tratamentos de infertilidade<sup>70</sup>.

Na interpretação do teste do clomifeno, alguns autores sugerem avaliar somente a segunda dosagem do FSH, considerando como valor limite 26 U/1<sup>69</sup> ou a soma das dosagens do FSH, também com um valor próximo<sup>71</sup>. No entanto, a soma dos valores do FSH parece não mostrar uma melhor correlação com a idade em comparação ao uso da variável isoladamente<sup>72</sup>.

Uma meta-análise demonstrou que a medida de FSH basal e o teste do clomifeno apresentaram resultados semelhantes na

predição de sucesso de gestação viável<sup>14</sup>. Quando os dois testes apresentam resultado anormal, virtualmente confirma-se má resposta ao tratamento. Resultados normais, porém, não se mostram úteis por não garantirem o seu sucesso, ou seja, ambos os testes apresentam baixa sensibilidade e alta especificidade, estando adequados ao aconselhamento dessas pacientes<sup>14</sup>. Se o médico tiver que escolher entre um dos testes, a medida do FSH deve ser preferida, já que constitui um método mais simples, de menor custo e com menos risco à paciente. O teste do clomifeno pode ser válido antes do tratamento com pacientes maiores que 37 anos<sup>70</sup>.

### Conclusões

Ainda não existem na literatura dados que suportem a utilização de um único marcador para determinar se um casal deve ou não ser submetido a intervenções para a obtenção de uma gestação.

Mesmo que não apresentem resultados de grande acurácia, a combinação dos testes existentes ainda é a conduta mais eficaz e útil para o aconselhamento e triagem de pacientes inférteis, na tentativa de lhes proporcionar alguma expectativa quanto ao sucesso do tratamento proposto.

A contagem folicular antral associada ao FSH basal parece ser a abordagem de menor custo na avaliação do casal infértil, mas a CFA associada aos níveis séricos de HAM tem aparentemente maior poder preditivo de sucesso no tratamento de reprodução assistida.

### Referências bibliográficas

1. Speroff L, Glass RH, Kase NG. O ovário desde a concepção até a senilidade. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG, editors. *Endocrinologia Ginecológica, Clínica e Infertilidade*. 4ª ed. São Paulo: Manole; 1991. p. 103-43.
2. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*. 1992;7(10):1342-6.
3. Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*. 1994;50(3):653-63.
4. Medeiros SF, Assi PE, de Medeiros MM. Gonadotrophin dynamics during reproductive life. *Int J Gynaecol Obstet*. 2004;87(1): 24-8.
5. Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod*. 2004;19(7):1612-7.
6. Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve – should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod*. 2006;21(11):2729-35.
7. 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(1):63-8.
8. Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1997;12(2):220-3.
  9. Jacobs SL, Metzger DA, Dodson WC, Haney AF. Effect of age on response to human menopausal gonadotrophin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71(6):1525-30.
  10. Burger HG, Dudley EC, Robertson DM, Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res.* 2002;57(1):257-75.
  11. Medeiros SF, Assi PE, Sékula VG, Carmona F, Yamamoto MMW. Dinâmica dos níveis do hormônio foliculo estimulante na fase folicular precoce durante a vida reprodutiva. *Reprod Clim.* 2002;17(1):34-8.
  12. Shara FI, Scott RT Jr, Seifer DB. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(3 Pt 1):804-12.
  13. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin a and inhibin b reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod.* 1999;14(2):409-15.
  14. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test of ovarian reserve screening. *Fertil Steril.* 2004;82(1):180-5.
  15. Younis JS, Haddad S, Matilsky M, Ben-Ami M. Premature luteinization: could it be an early manifestation of low ovarian reserve? *Fertil Steril.* 1998;69(3):461-5.
  16. Syrop CH, Willhoite A, Van Voorhis BJ. Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction. *Fertil Steril.* 1995;64(6):1167-71.
  17. Bazeos A, Tozer A, Zosmer A, Al-Shawaf T, Lower A, Grudzinskas JG. Pre-treatment transvaginal ultrasound measurement of the ovarian volume: a predictor of responsiveness in an in-vitro fertilization cycle. *Hum Reprod.* 1998;13:26-7.
  18. Cameron IT, O'Shea FC, Rolland JM, Hughes EG, de Kretser DM, Healy DL. Occult ovarian failure: a syndrome of infertility, regular menses, and elevated follicle-stimulating hormone concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67(6):1190-4.
  19. Gürkan T, Urman B, Yarali H, Duran HE. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 to predict ovarian response in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization using a flare-up protocol. *Fertil Steril.* 1997;68(3):483-7.
  20. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril.* 1997;67(1):110-4.
  21. Hofmann GE, Danforth DR, Seifer DB. Inhibin-B: the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril.* 1998;69(3):474-7.
  22. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in vitro fertilization can predict poor response. *Hum Reprod.* 1997;12(2):294-7.
  23. Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril.* 2000;74(3):512-7.
  24. Nahum R, Shifren JL, Chang Y, Leykin L, Isaacson K, Toth TL. Antral follicle assessment as a tool for predicting outcome in IVF – Is it a better predictor than age and FSH? *J Assist Reprod Genet.* 2001;18(3):151-5.
  25. Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir J, Campbell S, Tan SL. The pattern of changes in ovarian stromal and uterine artery blood flow velocities during in vitro fertilization treatment and its relationship with outcome of the cycle. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;13(1):26-33.
  26. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsbøll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in standard IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod.* 2003;18(4):781-7.
  27. Hendriks DJ, Kwee J, Mol BWJ, te Velde ER, Broekmans JM. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil Steril.* 2007;87(4):764-75.
  28. Tufan E, Elter K, Durmusoglu F. Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve tests. *Hum Reprod.* 2004;19(11):2484-9.
  29. Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EMA, Groenewoud ER, Heineman MJ, et al. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1925-31.
  30. Avril C. L'ovocyte: avancées fondamentales et thérapeutiques. Peut-on prédire la qualité ovocytaire par L'échographie? *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2006;35 (cahier 2):2542-3.
  31. Melo MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, Meseguer M, Pellicer A, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. *Fertil Steril.* 2009;91(1):148-56.
  32. Jayaprakasan K, Hilwah N, Kendall NR, Hopkisson JF, Campbell BK, Johnson IR, et al. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after assisted reproduction treatment? *Hum Reprod.* 2007;22(7):1932-41.

33. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod.* 2003;18(2):323-7.
34. Visser JA, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;234(1-2):81-6.
35. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count, anti-müllerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG.* 2005;112(10):1384-90.
36. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):685-718.
37. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod.* 2004;19(4):893-8.
38. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: study of serum and follicular fluids levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(7):2742-5.
39. Scott RT Jr, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone concentrations and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1990;54(2):297-302.
40. Brown JR, Liu HC, Sewitch KF, Rosenwaks Z, Berkeley AS. Variability of day 3 follicle-stimulating hormone concentrations in eumenorrhic women. *J Reprod Med.* 1995;40(9):620-4.
41. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril.* 1999;72(5):845-51.
42. Hansen KR, Morris JL, Thyer AC, Soules MR. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. *Fertil Steril.* 2003;80(3):577-83.
43. Jain T, Klein NA, Lee DM, Sluss PM, Soules MR. Endocrine assessment of relative reproductive age in normal eumenorrhic younger and older women across multiple cycles. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(4):1080-4.
44. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB, Schoemaker J. Intercycle variability of ovarian reserve tests: results of a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 2004;19(3):590-5.
45. Vet A, Laven JSE, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BCJM. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril.* 2002;77(2):357-8.
46. Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Banesi LF, Jong FH. Serum anti-müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod.* 2002;17(12):3065-71.
47. La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64(6):603-10.
48. Scheffer JB, Lozano DM, Frydman R, Fanchin R. Relação entre os níveis séricos do hormônio anti-Mülleriano, inibina-B, estradiol e hormônio foliculo estimulante no terceiro dia e o status folicular ovariano. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007;29(4):186-91.
49. Fiçicioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakacak Z. Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2006;85(3):592-6.
50. Josso N, Cate RL, Pieard JY, Vigier B, di-Clemente N, Wilson C, et al. Anti-müllerian hormone: the Jost factor. *Recent Prog Horm Res.* 1993;48:1-59.
51. Visser JA. L'ovocyte: avancées fondamentales et Thérapeutiques. Rolê de l'AMH (hormone anti-Müllerienne) dans le recrutememnt folliculaire initial et cyclique. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2006;35(2):2530-4.
52. Pastor CL, Vanderhoof VH, Lim LCL, Calis KA, Premkumar A, Guerrero NT, et al. Pilot study investigating the age-related decline in ovarian function of regularly menstruating normal women. *Fertil Steril.* 2005;84(5):1462-9.
53. Seifer DB, MacLaughlin DT. Müllerian Inhibiting Substance in an ovarian growth factor or emerging clinical significance. *Fertil Steril.* 2007;88(3):539-46.
54. Weenen C, Laven JS, Von Berg AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and eyelike follicle recruitment. *Hum Reprod.* 2004;10:77-83.
55. Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, Rabinowitz R, Markowitz E, Mimoni T, et al. Dynamic assays of inhibin B, anti-Müllerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. *Hum Reprod.* 2005;20(11):3178-83.
56. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, et al. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology.* 1995;136(11):4951-62.
57. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology.* 2001;142(11):4891-9.
58. McGee EA, Smith R, Spears N, Nachtigal MW, Ingraham H, et al. Müllerian inhibitory substance induces growth of rat preantral ovarian follicles. *Biol Reprod.* 2001;64(1):293-8.
59. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril.* 2002;77(3):468-71

60. Fanchin R, Louafi N, Mendez Lozano DH, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Per-follicle measurements indicate that anti-Müllerian hormone secretion is modulated by the extent of follicular development and luteinization and may qualitatively reflect the ovarian follicular status. *Fertil Steril*. 2005;84(1):167-73.
61. Bath LE, Wallace WH, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Müllerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Hum Reprod*. 2003;18(11):2368-74.
62. Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod* 2005;20(4):923-7.
63. Penarrubia J, Fabregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotrophin releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod*. 2005;20(4):915-22.
64. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*. 2003;18(2):328-32.
65. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum anti-müllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertil Steril*. 2004;82(5):1323-9.
66. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril*. 2009;91(3):705-14.
67. Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2008;89(3):586-91.
68. Lee TH, Liu CH, Huang CC, Wu YL, Shih YT, Ho HN, et al. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod*. 2008;23(1):160-7.
69. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet*. 1987;2(8560):645-7.
70. Dechaud H. L'ovocyte: avancées fondamentales et thérapeutiques. Les tests dynamiques peuvent-ils prévoir la qualité ovocytaire? *J Gynecol Obst Biol Reprod*. 2006;35(2):2537-8.
71. Loumaye E, Billion JM, Mine JM, Psalti I, Pensis M, Thomas K. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril*. 1990;53(2):295-301.
72. Broekmans FJ, Scheffer GJ, Bancsi LF, Dorland M, Blankenstein MA, te Velde ER. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women. *Maturitas*. 1998;30(2):205-14.

Recebido em: 19/06/09

Aprovado para publicação: 30/08/09

---

---

## **Artigo 2**

### Folículos Antrais como Marcadores da Reserva Ovariana

# Folículos antrais como marcadores da reserva ovariana

## Antral follicles as markers of ovarian reserve

Eduardo Camelo de Castro<sup>1</sup>, Rodopiano de Souza Florêncio<sup>2</sup>, Gercino Monteiro Filho<sup>3</sup>, Waldemar Naves do Amaral<sup>4</sup>



O Doutor **Eduardo Camelo de Castro** é formado, fez Residência em Ginecologia e Obstetrícia e Curso de Especialização em Reprodução Humana na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP). É Diretor Associado da Humana Medicina Reprodutiva (Fêmeina), Professor do Curso de Pós Graduação em Reprodução Humana da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO) e Professor da Unidade de Saúde da Mulher do Curso de Medicina da PUC-GO.

### Resumo

**Objetivo:** Comparar as curvas padrões de decréscimo da reserva ovariana considerando a dosagem do hormônio folículo estimulante (FSH) e a contagem dos folículos antrais (CFA). **Método:** Estudo transversal prospectivo de pacientes atendidas no Centro de Reprodução Fêmeina no período de 01/03/2010 a 31/08/2010. As pacientes foram submetidas à ultrassonografia transvaginal e à dosagem do FSH do 2º ao 4º dia da menstruação. Foram incluídas pacientes de 21 a 44 anos, com ciclos regulares, dois ovários íntegros, nenhuma evidência de endocrinopatias, que não recebam medicamentos há 6 meses, e que assinaram o consentimento. Foram excluídas as tabagistas, portadoras de galactosemia, cistos ovarianos, com antecedente de hepatopatia, cirurgia ginecológico-ovariana, tratamento com quimioterapia ou radioterapia. O teste utilizado foi o coeficiente de correlação de Pearson. **Resultados:** Sessenta e oito pacientes com idade entre 22 e 44 anos foram incluídas. O fator masculino foi a principal etiologia da infertilidade, contribuindo com 41% dos casos. A correlação entre a dosagem do FSH e a CFA foi fraca ( $r=-0,269$ ) e o teste de Pearson foi estatisticamente significante ( $p=0,026$ ). **Conclusão:** A correlação entre a contagem dos folículos antrais e a dosagem sérica do hormônio folículo estimulante foi fraca e estatisticamente significante.

**Unitermos:** Reserva ovariana; Hormônio folículo estimulante; Contagem dos folículos antrais ovarianos; Infertilidade.

### Abstract

**Objective:** To compare the curves patterns of ovarian reserve decline taking into account the follicle stimulating hormone measurement (FSH) and the antral follicles count (AFC). **Methods:** Prospective transversal study of patients attended at Fêmeina Reproduction Center from March 2010 to August 2010. The patients were submitted to transvaginal ultrasonography and had FSH measurement from days 2 to 4 of their period. Patients included were the ones who were 21 to 44 years old, with regular menses, two healthy ovaries, without any evidence of endocrinopathies, that were not taking medicines for 6 months, and signed the consent. Patients excluded: smokers, with galactosemia or ovarian cysts, with antecedents of hepatopathies, gynecological ovarian surgeries or were treated with chemotherapy or x-ray. Pearson's correlation coefficient was used to analyze the data. **Results:** Sixty-eight patients were included in the trial, age ranged from 22 to 44 years old. The male factor was the main etiology of infertility, contributing with 41% of the cases. The correlation between FSH measurement and AFC was weak ( $r=-0,269$ ) and Pearson test was statistically significant ( $p=0,026$ ). **Conclusions:** The correlation between the antral follicles count and the serum dosage of FSH was weak and statistically significant.

**Uniterms:** Ovarian reserve; Follicle stimulating hormone; Antral follicles count; Infertility.

Pesquisa idealizada no Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Goiás (UFG) e realizada no Centro de Reprodução Assistida Fêmeina

<sup>1</sup> Graduado em Medicina, Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia e Especialização em Infertilidade Conjugal na Santa Casa de São Paulo; Professor da Unidade de Saúde da Mulher do Curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO); Professor do Curso de Pós-Graduação em Reprodução Humana da PUC-GO; Diretor Associado do Centro de Reprodução Assistida Fêmeina.

<sup>2</sup> Professor Adjunto Doutor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFG; Diretor Técnico do Centro de Reprodução Assistida Fêmeina.

<sup>3</sup> Professor Adjunto IV de Estatística da Faculdade de Medicina da UFG; Professor Efetivo de Estatística da Universidade do Estado de Goiás – Goiânia (GO), Brasil.

<sup>4</sup> Professor Adjunto Doutor e Diretor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFG; Diretor Técnico da Clínica Fértil Diagnósticos – Goiânia (GO), Brasil.

Endereço para correspondência: Eduardo Camelo de Castro – Rua 90-A, 166 – Setor Sul – CEP: 74093-030 – E-mail: dr.eduardodecastro@gmail.com

Reprod Clim. 2010; 26(1):7-11

## Introdução

Reserva ovariana é o *pool* de folículos ovarianos disponíveis para recrutamento, representando o potencial funcional do ovário através do número e da qualidade oocitária<sup>1,2</sup>.

Diminuição da reserva ovariana é um processo de declínio da fecundidade associado tanto a depleção folicular dos ovários quanto a piora da qualidade oocitária<sup>3</sup>. Parece haver também uma diminuição da resposta ovariana à quantidades crescentes de gonadotrofinas<sup>4</sup>.

Sugere-se que apenas a idade não prediz de forma confiável a capacidade reprodutiva de uma mulher<sup>5</sup>. Entre mulheres de mesma idade, a reserva ovariana pode variar de forma significativa. Um declínio na função reprodutiva das mulheres torna-se evidente cerca de dez anos antes do seu término e a fertilidade diminui durante a quarta década de vida, período associado com modificações na secreção de gonadotrofinas<sup>6</sup>.

O recrutamento e o desenvolvimento de múltiplos folículos ovarianos em resposta ao estímulo com gonadotrofinas são realizados no tratamento com fertilização *in vitro* (FIV). A responsividade ovariana a este tipo de tratamento é variável e imprevisível. O número de folículos em desenvolvimento durante a estimulação ovariana tem relação direta com a quantidade de oócitos captados e influencia o número de embriões disponíveis para seleção, transferência e congelamento. Assim, a reserva ovariana está relacionada com maior ou menor chance de gestação. Em aproximadamente 10% dos casos, ocorre baixa resposta ao tratamento proposto, associado diretamente à redução do número de oócitos captados, ao aumento do número de ciclos cancelados e a índices menores de gravidez<sup>4</sup>.

A avaliação da reserva ovariana se aplica a pacientes inférteis que serão submetidas às técnicas de reprodução assistida com a intenção de selecionar as que apresentam bom prognóstico para gravidez viável, a pacientes com suspeita ou história familiar de falência ovariana prematura (FOP), para jovens que serão submetidas a tratamentos para neoplasias que podem acarretar perda da fertilidade futura e ajuda os médicos na decisão da realização de uma ooforectomia profilática em mulheres selecionadas. Isso mostra a importância de se estabelecerem curvas de normalidade para os testes de reserva ovariana.

Existem poucos dados na literatura que suportem a utilização de um único marcador para determinar a reserva ovariana de uma paciente. A contagem folicular antral (CFA) associada ao hormônio Folículo Estimulante (FSH) basal parece ser a abordagem de menor custo na avaliação atual do casal infértil. A demonstração que existe uma correlação estreita entre a curva da dosagem do FSH e da contagem dos folículos antrais permitirá a racionalização ainda maior dos custos da avaliação da reserva ovariana.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi comparar as curvas padrões de decréscimo da reserva ovariana considerando a dosagem do hormônio folículo estimulante e a contagem dos folículos antrais.

## Metodologia

Foi realizado um estudo transversal prospectivo de pacientes dos 22 aos 44 anos atendidas pelos autores no Centro de Reprodução Assistida Fêmeina no período 01/03/2010 a 31/08/2010.

As pacientes foram submetidas à ultrassonografia transvaginal na fase folicular precoce do segundo ao quarto dia do ciclo menstrual. As ultrassonografias foram realizadas apenas pelos médicos pesquisadores, com equipamento Voluson da marca GE com transdutores transvaginais de 7,5MHz.

Todas as medidas dos folículos antrais foram feitas no modo bidimensional. O diâmetro máximo longitudinal e seu diâmetro perpendicular foram obtidos com o modo convencional 2D. O tamanho dos folículos foi considerado como a média dessas duas medidas. Os folículos de 2 a 10mm de diâmetro foram considerados antrais. Foram avaliados os ovários direito e esquerdo e realizado a somatória das duas contagens. O número total dos folículos antrais foi utilizado para o cálculo. Essas medições já são feitas de modo rotineiro para avaliação da reserva ovariana da mulher.

Entre o dia 2 e 4 do ciclo menstrual foram colhidas amostras de sangue para determinar também a dosagem do FSH basal pela eletroquimioluminescência. As coletas foram realizadas pela manhã, em jejum mínimo de 4 horas. Coletou-se 1mL de soro que ficou refrigerado entre 2° e 8°C e foi processado em, no máximo, 30 dias. Essa dosagem também é rotineira para avaliação da reserva ovariana da mulher.

O protocolo foi preenchido com a idade da paciente, causa da infertilidade, método de dosagem do FSH, o valor da dosagem do FSH, a contagem ultrassonográfica dos folículos ovarianos antrais, histórico de endocrinopatias, tabagismo, galactosemia e presença de cistos ovarianos durante a contagem dos folículos antrais. Nesse momento também foram avaliados os critérios de inclusão e exclusão discriminados abaixo.

Foram incluídas as pacientes com idade entre 21 e 44 anos, com ciclos regulares de 21 a 35 dias, com dois ovários íntegros, sem evidência de doenças endócrinas, que não recebiam medicamentos ou hormônios há 6 meses e que assinaram o informe de consentimento.

Foram excluídas as seguintes pacientes: tabagistas, portadoras de galactosemia, com antecedente de cirurgias ginecológico-ovarianas e de tratamento com quimioterapia ou radioterapia,

portadoras de cistos ovarianos ou de folículos ovarianos medindo mais que 10mm e aquelas com insuficiência hepática.

Para avaliar a significância das análises estatísticas foi utilizado o programa SPSS versão 16.0 para Windows. O teste utilizado para uma amostra normal foi o coeficiente de correlação de Pearson.

Este estudo foi aprovado pelo Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (UFG).

## Resultados

Sessenta e oito pacientes foram incluídas no estudo, com idade entre de 22 e 44 anos (média de 32,3 anos). Dentre as causas de infertilidade, o fator masculino foi a principal etiologia, contribuindo com quarenta e um por cento (41%) dos casos.

O Gráfico 1 demonstra que a correlação entre as medidas obtidas do FSH para cada idade foi pequena quando avaliada pelo coeficiente de correlação ( $r=0,191$ ), não sendo estatisticamente significativa ( $p=0,119$ ).

O Gráfico 2 mostra que o coeficiente de correlação entre as medidas obtidas do CFA para cada idade foi maior quando comparada com as dosagens do FSH. A correlação foi moderada e estatisticamente significativa ( $r=-0,545$  e  $p<0,001$ ).

A comparação entre a contagem dos folículos antrais e a dosagem sérica do hormônio folículo estimulante pode ser observada no Gráfico 3. A correlação entre a dosagem do FSH e a CFA foi fraca ( $r=-0,269$ ) e o teste de Pearson foi estatisticamente significativo ( $p=0,026$ ).

## Discussão

Um bom teste de reserva ovariana deve estimar a duração provável da atividade dos ovários, indicar a dose real de estimulação ovariana, ser preditivo de concepção e apontar a chance de se ter um recém nascido-vivo<sup>1</sup>. Em vários pontos da literatura considera-se que não há exames confiáveis e altamente sensíveis para avaliar esses fatores em mulheres na menarca.

Os testes estáticos (basais) são comumente realizados no terceiro dia do ciclo menstrual, destacando-se neste estudo a dosagem do FSH basal e o número de folículos antrais ovarianos<sup>7,8</sup>.

Os níveis basais do FSH refletem o estoque folicular de ambos os ovários em um determinado momento da vida reprodutiva. À medida que a reserva folicular diminui, os níveis basais do FSH se elevam. Por isso, o FSH tem sido utilizado como um marcador de insuficiência ovariana e, quando elevado, está associado à baixas taxas de sucesso em técnicas de reprodução assistida.

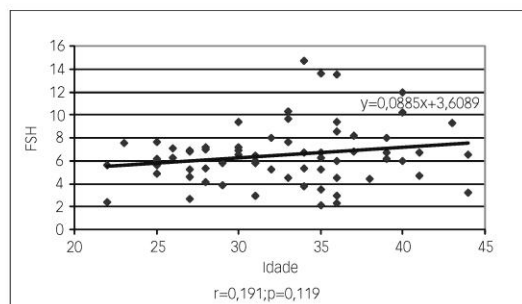


Gráfico 1 - Distribuição da dosagem sérica do hormônio folículo estimulante (FSH) em relação à idade.

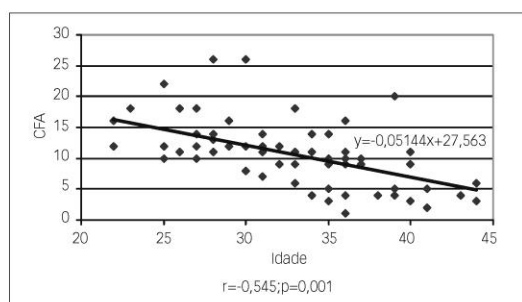


Gráfico 2 - Distribuição da contagem dos folículos antrais (CFA) em relação à idade.

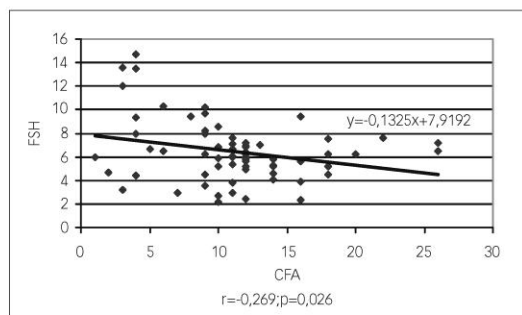


Gráfico 3 - Distribuição da dosagem sérica do hormônio folículo estimulante (FSH) em relação à contagem de folículos antrais (CFA).

Os valores considerados normais do FSH sérico variam entre 3 e 15UI<sup>2</sup>.

A idade da mulher e o FSH basal são associados de forma independentes aos resultados da FIV. Um estudo com pacientes submetidas à FIV concluiu que o FSH basal é um marcador do tamanho do pool folicular remanescente. Observou-se também que mulheres de idade avançada, mesmo com níveis baixos desse hormônio, demonstraram resultados limitados no tratamento. Isso sugere que a idade deve ser levada em conta antes da

dosagem do FSH na estimativa de sucesso da FIV<sup>2</sup>. O coeficiente de correlação entre o FSH e a idade nesta casuística foi pequeno. Foi aplicado o teste de Pearson, que não apresentou significância estatística.

Outro estudo observou que o FSH alto não deve ser critério de exclusão de pacientes para 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. Por outro lado, sugere-se que o FSH basal seja usado para aconselhar as pacientes sobre suas chances de sucesso de uma gestação<sup>9</sup>.

A primeira publicação que correlacionou a CFA com a reserva ovariana foi em 1996<sup>10</sup>. Posteriormente, mostrou-se que a CFA diminui com o avançar da idade<sup>11</sup>. A casuística deste estudo corroborou o achado da maioria dos trabalhos que demonstraram uma relação entre a CFA e a idade<sup>12,13</sup>.

Há algum tempo, estudos também demonstram uma correlação entre a CFA e o estado funcional dos ovários. A CFA parece refletir o número de folículos primordiais remanescentes<sup>12</sup>, podendo ter correlação com a quantidade de ciclos cancelados nas más respondedoras e com o número de oócitos aspirados<sup>5</sup>.

Neste estudo a CFA envolveu a medida de folículos entre 2 e 10mm, mas esse valor pode variar entre os centros de estudo. Considera-se que essa contagem depende do tamanho do *pool* folicular primordial do qual os folículos são recrutados<sup>13,14,15</sup>. Mulheres com mais folículos antrais tendem a produzir mais folículos maduros e oócitos fertilizados em resposta à administração do FSH<sup>16</sup>. Considera-se como mínima uma contagem de dez folículos antrais na soma dos dois ovários para a obtenção de taxas adequadas de gestação<sup>15</sup>.

Uma meta-análise demonstrou que a CFA é superior à medida do volume dos ovários na avaliação de má resposta à FIV<sup>17</sup>.

## Referências bibliográficas

- Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve – should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod.* 2006;21(11):2729-35.
- 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(1):63-68.
- Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1997;12(2):220-3.
- Jacobs SL, Metzger DA, Dodson WC, Haney AF. Effect of age on response to human menopausal gonadotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71(6):1525-30.
- Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test of ovarian reserve screening. *Fertil Steril.* 2004;82(1):180-5.
- Burger HG, Dudley EC, Robertson DM, Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res.* 2002;57(1):257-75.
- Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril.* 1997;67:110-4.
- Hofmann GE, Danforth DR, Seifer DB. Inhibin-B: the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril.* 1998;69:474-7.

Esse e outros estudos demonstraram também a superioridade da CFA em relação à dosagem de gonadotrofinas basais na predição de resposta à hiperestimulação ovariana nos ciclos de FIV<sup>17,18</sup>.

Estudos mostram que a CFA apresenta nítida correlação positiva com as concentrações dos marcadores séricos<sup>19,20</sup> e com os testes dinâmicos e sugerem que a CFA seja um dos melhores parâmetros funcionais quantitativos de reserva ovariana<sup>14,18</sup>. O coeficiente de correlação entre a dosagem do FSH e a CFA realizado nesta dissertação foi fraco, com o teste de Pearson estatisticamente significante.

A CFA e níveis séricos de HAM foram os dois parâmetros de maior poder preditivo de sucesso no tratamento de reprodução assistida.

A CFA seria capaz de identificar 89% das más respondedoras previamente à estimulação com gonadotrofinas exógenas. Apesar da especificidade de 39%, os autores encontraram associação significativa com o número de oócitos obtidos após ciclos induzidos e a probabilidade de gravidez química<sup>21</sup>. Outro estudo admite a importância da CFA como teste de *screening* para predição da má resposta ovariana<sup>22</sup>.

Vários estudos demonstraram a reprodutibilidade da CFA tanto quando feita em duas oportunidades pelo mesmo observador quanto por dois observadores diferentes<sup>18,23,24</sup>.

Uma metanálise com 11 estudos conclui que a combinação de múltiplas variáveis (HAM, Inibina B, FSH, CFA e outras) para diagnóstico de má respondedora é comparável ao CFA isoladamente. Assim, se a opção for por um único exame, este seria a CFA<sup>25</sup>.

## Conclusão

A correlação entre a contagem dos folículos antrais e a dosagem sérica do hormônio folículo estimulante foi fraca e estatisticamente significante.



9. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod.* 2004;19(4):893-8.
10. Ruess ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Trisch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174:624-7.
11. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsbøll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in standard IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod.* 2003;18(4):781-7.
12. Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod.* 2004;19(7):1612-7.
13. Tufan E, Elter K, Durmusoglu F. Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve tests. *Hum Reprod.* 2004;19(11):2484-9.
14. Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EMA, Groenewoud ER, Heineman MJ, et al. The number of small antral follicles (2-6mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1925-31.
15. Avril C. L'ovocyte: avancées fondamentales et thérapeutiques. Peut-on prédire la qualité ovocytaire par L'échographie? *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2006;35(2):2542-3.
16. Melo MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, Meseguer M, Pellicer A, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. *Fertil Steril.* 2009;91(1):148-56.
17. Hendriks DJ, Kwee J, Mol BWJ, te Velde ER, Broekmans JM. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil Steril.* 2007;87(4):764-75.
18. Jayaprakasan K, Hilwah N, Kendall NR, Hopkisson JF, Campbell BK, Johnson IR, et al. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after assisted reproduction treatment?. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1932-41.
19. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod.* 2003;18(2):323-7.
20. Visser JA, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;234:81-6.
21. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R., Khadum I., Ranieri D. M., Serhal P. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG.* 2005;112:1384-90.
22. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):685-718.
23. Pache TD, Wladimiroff JW, De Jong FH, et al. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril.* 1990;54:638-642.
24. Scheffer GJ, Broekmans FJM, Bancsi LF, Habemma JDF, Looman CWN, te Velde ER. Quantitative transvaginal two and three-dimensional sonography of the ovaries: reproducibility of antral follicle counts. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;20(3):270-5.
25. Verhagen TEM, Hendriks DJ, Bancsi LFJMM, Mol BWJ, Broekmans FJM. The accuracy of multivariate model predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Hum Reprod.* 2008;14:95-100.

Recebido em: 6/4/2011

Aprovado para publicação em: 18/8/2011



### **Artigo 3**

Nomograma Correlacionando a Idade com a Contagem dos Folículos Antrais em  
Mulheres Inférteis



**NOMOGRAMA CORRELACIONANDO A IDADE COM A CONTAGEM DOS  
FOLÍCULOS ANTRAIS EM MULHERES INFERTES**

**NOMOGRAM CORRELATING AGE WITH THE ANTRAL FOLLICLES COUNT IN  
INFERTILE WOMEN**

**Autores:**

Eduardo Camelo de Castro<sup>1</sup>; Rodopiano de Souza Florêncio<sup>2</sup>; Gercino Monteiro Filho<sup>3</sup>,  
Waldemar Naves do Amaral<sup>4</sup>

1. Eduardo Camelo de Castro: Professor Efetivo da Unidade de Saúde da Mulher do Curso de Medicina e da Pós-Graduação em Reprodução Humana da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Diretor Associado do Centro de Reprodução Assistida Fêmeina – Humana Medicina Reprodutiva.

2. Rodopiano de Souza Florêncio: Professor Adjunto Doutor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Diretor Técnico do Centro de Reprodução Assistida Fêmeina – Humana Medicina Reprodutiva.

3. Gercino Monteiro Filho: Professor Adjunto de Estatística da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Professor Efetivo de Estatística da Universidade do Estado de Goiás.

4. Waldemar Naves do Amaral: Professor Adjunto Doutor e Diretor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Diretor Técnico da Clínica Fértil Diagnósticos.

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS – UFG

\*Endereço para correspondência:

Rua 90-A nº 166 Qd. F37 Lt. 06 Setor Sul - CEP:74093-030

Goiânia-GO

Telefone: 62-30938073

e-mail: dr.eduardodecastro@gmail.com

## RESUMO

**OBJETIVO:** construir um nomograma correlacionando a idade com diferentes valores dos percentis da contagem dos folículos antrais (CFA) em mulheres inférteis.

**MÉTODO:** estudo transversal de todas as pacientes atendidas no Centro de Reprodução Humana Fêmeina no período 01/03/2010 a 01/10/2011. As pacientes foram submetidas à ultrassonografia transvaginal do 2º ao 4º dia da menstruação. Foram **incluídas** as pacientes de 21 a 45 anos, com ciclos regulares, dois ovários íntegros, sem evidência de endocrinopatias e que assinaram o consentimento. Foram **excluídas** as tabagistas, portadoras de galactosemia, cistos ovarianos, com antecedente de hepatopatia, cirurgia ginecológico-ovariana e tratamento com quimioterapia ou radioterapia. Com o intuito de verificar a correlação da CFA com a idade das pacientes foram utilizados os percentis 5, 25, 50, 75 e 95. Através destes percentis foi feita uma regressão linear que possibilitasse perceber o efeito da idade sobre a CFA. Foi utilizado como nível de significância o valor de 5% ( $p < 0,05$ ).

**RESULTADOS:** Cento e setenta e duas pacientes foram incluídas no estudo, a idade média foi de 32,7 anos. Dentre as causas de infertilidade os fatores masculino e tubário foram as principais etiologias contribuindo com sessenta e cinco por cento (65%) dos casos. O nomograma correlacionando a idade com os percentis 5, 25, 50, 75 e 95 da contagem dos folículos antrais foi melhor ajustado por uma função linear. Os percentis que apresentaram as correlações mais altas foram o P25 ( $r = - 0,960$ ;  $p < 0,001$ ), o P50 ( $r = - 0,948$ ;  $p < 0,001$ ) e o P75 ( $r = - 0,917$ ;  $p < 0,001$ ).

**Conclusão:** Construiu-se um nomograma correlacionando a idade com diferentes valores dos percentis da contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis sem endocrinopatias. Houve uma correlação linear, negativa e forte em todos os percentis.

**Palavras Chave:** Reserva Ovariana, FSH, Folículos Antrais, Ultrassonografia, Infertilidade.

## ABSTRACT

**OBJECTIVES:** to produce age-related normograms for ovarian antral follicle count (AFC) in infertile women. **METHODS:** Cross-sectional study of patients attended at Fêmeina Reprodução Humana from March 2010 to October 2011. The patients were submitted to transvaginal ultrasonography from days 2 to 4 of their menstrual period. Patients included were 21 to 45 years old, with regular menses, two healthy ovaries, without any evidence of endocrinopathies and that signed the consent. Patients excluded: smokers, with galactosemia or ovarian cysts, with antecedents of liver disease, ovarian surgeries or that were treated with chemotherapy or radiotherapy. In order to check the evolution of the AFC in relation to age of patients was used percentiles 5rd, 25th, 50th, 75th and 95th. Through these percentiles was made a linear regression that makes possible to realize the effect of age on the CFA. **RESULTS:** One hundred and seventy-two patients were included in the trial; the mean age was 32.7 years old. The male and tubal factor were the main causes of infertility, accounting for 65% of cases. The age-related normogram for the 5rd, 25th, 50th, 75th and 95th percentile of antral follicle count revealed that changes were best fitted by a linear function. The percentiles that showed the highest correlations were 25 ( $r = - 0,960$ ;  $p < 0,001$ ), 50 ( $r = - 0,948$ ;  $p < 0,001$ ) and 75 ( $r = - 0,917$ ;  $p < 0,001$ ). **CONCLUSIONS:** A nomogram was constructed correlating age with different values of the percentiles of the antral follicle count in infertile women without endocrinopathies. There was a linear, strong and negative correlation in all percentiles.

**Keywords:** Ovarian Reserve, FSH, Antral Follicles, Ultrasonography, Infertility.

## INTRODUÇÃO

Reserva ovariana é o *pool* de folículos ovarianos disponíveis para recrutamento. Representa o potencial funcional do ovário através da quantidade e da qualidade dos oócitos<sup>1</sup>.

Diminuição da reserva ovariana é um processo de declínio da fecundidade associado tanto à depleção folicular dos ovários quanto a piora da qualidade oocitária<sup>2</sup>.

Provavelmente haja um consumo folicular mais acelerado em tabagistas<sup>3,4</sup> e em pacientes submetidas a cirurgias ginecológico-ovarianas<sup>5</sup>. O uso de quimioterápicos pode destruir um número importante de folículos primordiais ovarianos<sup>6</sup>. A endometriose também pode reduzir artificialmente a contagem de folículos antrais<sup>7</sup>.

A reserva ovariana pode variar de forma significativa entre mulheres de mesma idade<sup>8</sup>. Sugere-se que apenas a idade não prediz de forma confiável a capacidade reprodutiva de uma mulher<sup>9</sup>. Por isso métodos clínicos que avaliam essa função têm sido estudados. Destacam-se entre eles a CFA<sup>10</sup> e o Hormônio Antimülleriano (HAM)<sup>11</sup>.

A correlação entre a CFA histológica e o número de folículos primordiais remanescentes nos ovários das pacientes tem sido constatada há vários anos<sup>12,13,7</sup>. Nestes anos, estudos também verificaram uma queda no número de folículos primordiais e antrais com o aumento da idade<sup>14</sup>, mas somente com o aperfeiçoamento dos aparelhos de ultrassonografia foi possível mostrar a correlação entre a CFA ultrassonográfica e a idade<sup>15,16</sup>.

Desde 2002, trabalhos vêm demonstrando uma alta correlação entre a contagem dos folículos antrais menores e a contagem dos folículos antrais maiores ( $r= 0,95$ ;  $p < 0,001$ )<sup>17</sup>. Por isso, mesmo que tenha sido encontrada uma correlação maior da idade com os folículos

antrais de 2 a 6 mm do que com a CFA total<sup>18</sup>, a padronização de recomendações práticas para a realização desse exame é a contagem dos folículos menores que 10 mm<sup>7</sup>.

A CFA tem sido avaliada também como preditora de resposta para os tratamentos com indução da ovulação<sup>4</sup>, podendo ter correlação com a quantidade de ciclos cancelados nas más respondedoras<sup>9</sup>, com o número de oócitos aspirados e com a probabilidade de gravidez química<sup>19</sup>.

Vários estudos demonstraram a reprodutibilidade das contagens dos folículos antrais. A CFA é adequada tanto quando feita em duas oportunidades pelo mesmo observador ou por dois observadores diferentes. A CFA apresentou nítida correlação positiva com as concentrações do HAM<sup>20,21</sup> e esses foram os dois parâmetros de maior poder preditivo de sucesso no tratamento de reprodução assistida<sup>22,23</sup>.

Uma metanálise, com 11 estudos, conclui que a combinação de múltiplas variáveis (HAM, Inibina B, FSH, CFA e outras) para diagnóstico de má respondedora é comparável ao CFA isoladamente. Assim se a opção for por um único exame, este seria a CFA<sup>24</sup>.

O baixo custo da avaliação com a CFA<sup>25</sup>, a necessidade de estabelecimento de nomogramas que correlacionem marcadores da reserva ovariana com a idade<sup>26</sup> e a presença na literatura de estudos sugerindo diferenças étnicas nas curvas de declínio da CFA com a idade<sup>27</sup> justificam a realização deste estudo em uma população brasileira.

O objetivo deste estudo foi construir um nomograma correlacionando a idade com diferentes valores dos percentis da contagem dos folículos antrais em uma população brasileira de pacientes inférteis.



## MÉTODOS

Foi realizado um estudo clínico transversal de todas as pacientes atendidas pelos autores no Centro de Reprodução Assistida Fêmeina no período 01/03/2010 a 01/10/2011. Este estudo foi aprovado pelo Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG.

As pacientes foram submetidas à ultrassonografia transvaginal na fase folicular precoce do 2º ao 4º dia do ciclo menstrual. As ultrassonografias foram realizadas apenas pelos médicos pesquisadores com equipamento Voluson da marca GE com transdutores transvaginais de 7,5 MHz.

Todas as medidas dos folículos antrais foram feitas no modo bidimensional. O diâmetro máximo longitudinal e seu diâmetro perpendicular foram obtidos com o modo convencional 2D. O tamanho dos folículos foi considerado como a média destas duas medidas. Os folículos de 2 a 10 mm de diâmetro foram considerados antrais. Foram avaliados os ovários direito e esquerdo e realizado a somatória das duas contagens. O número total dos folículos antrais foi utilizado para o cálculo. Estas medidas já são feitas de modo rotineiro para avaliação da reserva ovariana da mulher.

O protocolo foi preenchido com a idade da paciente, causa da infertilidade, a contagem ultrassonográfica dos folículos antrais ovarianos, histórico de endocrinopatias, tabagismo, galactosemia e presença de cistos ovarianos durante a contagem dos folículos antrais. Neste momento também foram avaliados os critérios de inclusão e exclusão discriminados abaixo.

Foram incluídas as pacientes com idade de 21 a 45 anos, com ciclos regulares de 21 a 35 dias, com dois ovários íntegros, sem evidência de doenças endócrinas e que assinaram o informe de consentimento.

Foram excluídas as pacientes tabagistas, portadoras de galactosemia, com antecedente de cirurgias ginecológico-ovarianas, tratamento com quimioterapia ou radioterapia, portadoras de cistos ou folículos ovarianos medindo mais que 10 mm ou com insuficiência hepática.

O programa Microsoft® Excel 2007 foi usado para tabulação dos dados e a análise estatística foi realizada pelo programa SPSS® for Windows®, versão 15.0.

Com o intuito de verificar a correlação da CFA com a idade das pacientes foram utilizados os percentis 5, 25, 50, 75 e 95. Através destes percentis foi feita uma regressão linear que possibilitasse perceber o efeito da idade sobre a CFA. Foi utilizado como nível de significância o valor de 5% ( $p < 0,05$ ).

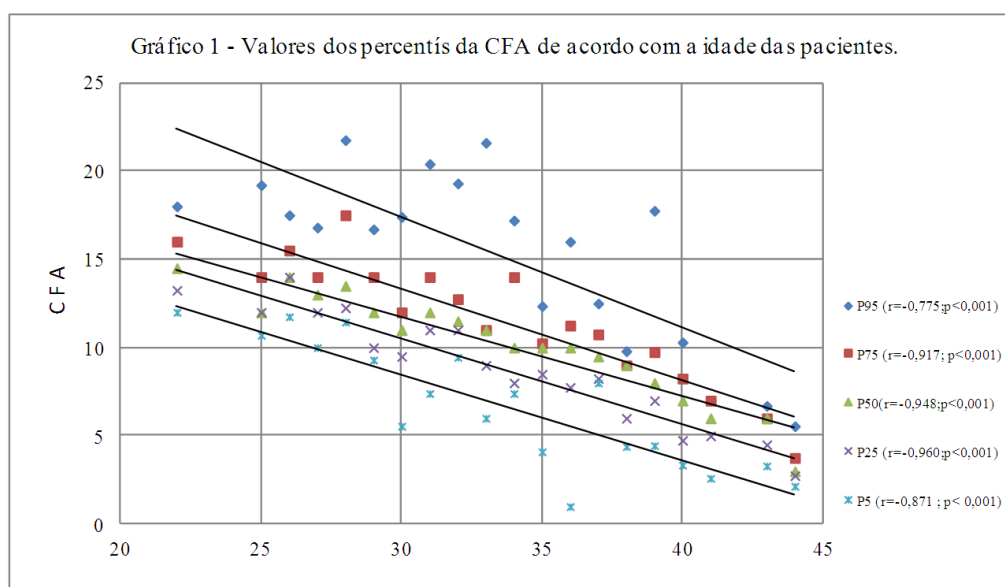
## **RESULTADOS**

Cento e setenta e duas pacientes foram incluídas no estudo, a idade média foi de 32,7 anos. Dentre as causas de infertilidade, os fatores masculino e tubário foram as principais etiologias contribuindo com sessenta e cinco por cento (65%) dos casos. O fator uterino, esterilidade sem causa aparente e síndrome de anticorpo antifosfolípido também compuseram a casuística.

Setenta e seis por cento (76%) das pacientes eram nulíparas, dezenove por cento (19%) já tinham tido partos anteriores e quatro por cento (4%) tinham antecedentes de um ou dois abortamentos.

O melhor modelo matemático encontrado para expressar o comportamento da CFA em relação a idade, em todos os percentis, foi a regressão linear. Observou-se significativa associação entre as variáveis estudadas, isso permitiu estabelecer um modelo de curva de referência a partir dos percentis 5, 25, 50, 75 e 95. Foi realizado um agrupamento das amostras nas faixas etárias mais baixas e mais altas.

O gráfico 1 mostra a correlação dos percentis da contagem dos folículos antrais com a idade. Em todos os percentis a CFA apresentou uma queda constante com o aumento da idade. A análise de regressão mostrou que em todos os percentis houve correlação linear, negativa e forte entre a contagem dos folículos antrais e a idade das pacientes. Os percentis que apresentaram as correlações mais altas foram o 25 ( $r = -0,960$ ;  $p < 0,001$ ), 50 ( $r = -0,948$ ;  $p < 0,001$ ) e 75 ( $r = -0,917$ ;  $p < 0,001$ ). A relação entre a idade e a AFC não foi significativamente melhorada por uma análise de regressão não linear.



## DISCUSSÃO

Nota-se nos resultados a predominância dos fatores masculino e tubário de infertilidade. Isso ocorreu por que a metodologia se preocupou em excluir as pacientes com causas não fisiológicas de alteração da reserva ovariana.

Muitos estudos disponíveis não excluem mulheres com probabilidade maior de consumo folicular acelerado, incluindo tabagistas, portadoras de galactosemia e aquelas que foram submetidas a cirurgias ginecológico-ovarianas<sup>28</sup>.

Um padrão bifásico de queda da CFA com a idade foi descrito em populações de mulheres saudáveis na Holanda<sup>29</sup>. Estudo de 2004 verificou um padrão linear de queda da CFA até os 43 anos<sup>30</sup>. O padrão de queda linear convencional da CFA foi confirmado em vários outros estudos e populações que investigaram a correlação da CFA com a idade<sup>27,31,32,33,10</sup>.

Neste ano de 2011, foram publicados os primeiros nomogramas que correlacionaram a CFA com a idade.

Um dos estudos foi realizado na Itália, com desenho transversal, incluindo 362 pacientes saudáveis com ciclos menstruais regulares. Este trabalho excluiu as mulheres com fatores de risco para diminuição acelerada da reserva ovariana. Os autores encontraram uma correlação linear e negativa entre a CFA e a idade em todos os percentis<sup>26</sup>. Estes resultados corroboram com o nomograma estabelecido pela casuística deste trabalho brasileiro.

Outro trabalho Canadense, com 1.880 mulheres inférteis, sem ovário policístico, observou uma correlação linear e alta para o percentil 50 ( $r = - 0,99$ ,  $p < 0,001$ ) e uma correlação alta e bifásica ( $r < - 0,98$ ,  $p < 0,001$ ) para os outros percentis. O estudo discute a

possibilidade de que as curvas encontradas apenas representem uma distribuição normal da queda da CFA<sup>16</sup>.

Estes nomogramas contribuem de forma significativa com a avaliação do efeito da idade na contagem dos folículos antrais. A identificação de uma paciente jovem abaixo dos percentis inferiores pode sugerir um sinal de alerta para a sua fertilidade futura. A mudança de percentil, de uma mesma paciente, em duas contagens feitas em dois momentos distintos e distantes, também pode ter um significado clínico. Estes gráficos podem ser os primeiros passos para o manejo e aconselhamento das pacientes.

Outros normogramas comumente utilizados, tais como as curvas de crescimento fetal e de peso ao nascer são baseadas em dados transversais. Apesar disso, estudos longitudinais são necessários para validar todos estes normogramas construídos através de estudos transversais.

## **CONCLUSÃO**

Construiu-se um nomograma correlacionando a idade com os diferentes valores dos percentis da contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis sem endocrinopatias. Houve uma correlação linear, negativa e forte em todos os percentis.

## REFERÊNCIAS

1. Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve – should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod.* 2006; 21(11):2729-35.
2. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006; 12(6): 685-718.
3. El-Nemr A., Al-Shawaf T, Sabatini L, Wilson C, Lower A.M, Grudzinskas J.G. Effect of smoking on ovarian reserve and ovarian stimulation in in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum. Reprod.* 1998;13:2192-98.
4. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsbøll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in standard IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod.* 2003;18(4):781-7.
5. Melica F, Chiodi S, Cristoforoni PM, Ravera GB. Reductive surgery and ovarian function in the human: can reductive surgery in reproductive age negatively influence fertility and age at onset of menopause? *Int J Fertil Menopausal Stud.* 1995;40:79–85.
6. Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod.* 2004;19(7):1612-7.
- 7.

7. Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril.* 2010;94(3):1044-51.
8. Burger HG, Dudley EC, Robertson DM, Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res.* 2002;57(1):257-75.
9. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test of ovarian reserve screening. *Fertil Steril.* 2004;829(1):180-5.
10. Rosen MP, Sternfeld B, Schuh-Huerta SM, Reijo Pera RA, McCulloch CE, Cedars MI. Antral follicle count: absence of significant midlife decline. *Fertil Steril.* 2010 Nov ; 94(6):2182-5.
11. Almog B, Shehata F, Suissa S, Holzer H, Shalom-Paz E, La Marca A, et al. Age-related normograms of serum antimüllerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. *Fertil Steril.* 2011;95(7):2359-63.
12. Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women: variations at different ages. *Acta Anat.* 1952;14(1-2):108-23.
13. Gougeon A, Chainy GB. Morphometric studies of small follicles in ovaries of women at different ages. *J Reprod Fertil.* 1987;81:433-42.
14. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod.* 1992;7(10):1342-6.

15. Reuss ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174(2):624-7.
16. Almog B; Shehata F, Shalom-Paz E, Tan SL and Tulandi T. Age-related normogram for antral follicle count: McGill reference guide. *Fertil Steril.* 2011; 95(2):663-666.
17. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, Jong FH, Habbema JD, Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2002;77(2):328-36.
18. Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EMA, Groenewoud ER, Heineman MJ, et al. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum reprod.* 2007;22(7):1925-31.
19. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri D.M, Serhal P. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *B. J. O. G.* 2005;112:1384-90.
20. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003;18(2):323-7.
21. Visser JA, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cel Endocrinol.* 2005;234:81-6



22. Jayaprakasan K, Hilwah N, Kendall NR, Hopkisson JF, Campbell BK, Johnson IR, et al. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after assisted reproduction treatment. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1932-41.
23. Scheffer GJ, Broekmans FJM, Bancsi LF et al. Quantitative transvaginal two and three-dimensional sonography of the ovaries: reproducibility of antral follicle counts. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;20:270-75.
24. Verhagen TE, Hendriks DJ, Bancsi LF, Mol BW, Broekmans FJ. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2008 Mar-Apr;14(2):95-100.
25. Castro EC, Amaral WN. Avaliação da Reserva Ovariana. *Reprodução e Climatério.* 2009; 24(3):1-8.
26. La Marca A., Spada E, Sighinolfi G, Argento C, Tirelli A., Giulini S, et al. Age –specific nomogram for the decline in antral follicle count throughout the reproductive period. *Fertility and Sterility.* 2011;95(2):684- 88.
27. Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. *Hum Reprod.* 2003;18:2169-74.
28. Medeiros SF, Assi PE, de Medeiros MM. Gonadotrophin dynamics during reproductive life. *Int J Gynaecol Obstet.* 2004;87(1):24-8.

29. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, LoomanCW, Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril*. 1999;72:845–51.
30. Broekmans FJ, Faddy MJ, Scheffer G, Velde ER. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. *Menopause*. 2004;11:607–14.
31. Tufan E, Elter K, Durmusoglu F. Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve tests. *Hum Reprod*. 2004;19(11):2484-9.
32. Pastor CL, Vanderhoof VH, Lim LCL, Calis KA, Premkumar A, Guerrero NT, et al. Pilot study investigating the age-related decline in ovarian function of regularly menstruating normal women. *Fertil Steril*, v. 84, n. 5, p. 1462-1469, 2005.
33. Al-Sunaidi M, Al-Mahrizi S, Tan SL, Tulandi T. Age-related changes in antral follicle count among women with and without polycystic ovaries. *Gynecol Obstet Invest* 2007;64:199–203.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Uma melhor compreensão do envelhecimento reprodutivo pode afetar a tomada de decisões reprodutivas e ter implicações econômicas e sociais.

As curvas de decréscimo da reserva ovariana podem ter um impacto significativo no planejamento da gravidez e nas decisões sobre o tratamento da infertilidade.

A contagem dos folículos antrais parece ser um potencial preditor da menopausa.

Devido à precisão da CFA, a sua pouca variabilidade avaliada entre os ciclos, o seu baixo custo e viabilidade, acreditamos que este teste pode ser preferido em detrimento ao FSH basal para a avaliação da reserva ovariana.

Estudos longitudinais são necessários para validar todos os nomogramas que são construídos com base em estudos transversais.

## REFERÊNCIAS

---

Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. **Hum Reprod**, v. 19, n.4, p. 893-898, 2004.

Ahmed Ebbiary NA, Lenton EA, Cooke ID. Hypothalamic-pituitary ageing: progressive increase in FSH and LH concentrations throughout the reproductive life in regularly menstruating women. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 41, p. 199–206, 1994.

Almog B, Shehata F, Shalom-Paz E, Tan SL, Tulandi T. Age-related normogram for antral follicle count: McGill reference guide. **Fertil Steril**, v. 95, n. 2, p. 663 – 666, jun. 2011a

Almog B, Shehata F, Suissa S, Holzer H, Shalom-Paz E, La Marca A, Muttukrishna S, Blazar A, Hackett R, Nelson SM, Cunha-Filho JS, Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Raine-Fenning N, Jayaprakasan K, Mcllveen M, Wunder D, Freour T, Nardo LG, Balasch J, Peñarrubia J, Smeenk J, Gnoth C, Godehardt E, Lee TH, Lee MS, Levin I, Gamzu R, Tulandi T. Age-related normograms of serum antimüllerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. **Fertil Steril**, v. 95, n. 7, p. 2359-2363, Jun. 2011b.

Al-Azemi M, Killick SR, Duffy S, Pye C, Refaat B, Hill N, Ledger W. Multi-marker assessment of ovarian reserve predicts oocyte yield after ovulation induction. **Human Reproduction**, v. 26, n. 2, p. 414–422, 2011.

Al-Sunaidi M, Al-Mahrizi S, Tan SL, Tulandi T. Age-related changes in antral follicle count among women with and without polycystic ovaries. **Gynecol Obstet Invest**, v. 64, p.199–203, 2007.

Approbato MS. **Manual Prático de Metodologia Científica**. Goiânia: Cir/FUNAPE, 2010.

Avril C. L`ovocyte: avancées fondamentales et thérapeutiques. Peut-on prédire la qualité ovocytaire par L`échographie? **J Gynecol Obstet Biol Reprod**, v. 35, n. 2, p. 2542-2543, 2006.

Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in *in vitro* fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. **Fertil Steril.**, v. 77, n. 2, p. 328-336, fev. 2002

Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, et al. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. **Endocrinology**, v.136, n. 11 p. 4951-4962, 1995.

Bath LE, Wallace WH, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Müllerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. **Hum Reprod**, v. 18, n. 11, p. 2368-2374, 2003.

Bazeos A, Tozer A, Zosmer A, Al-Shawaf T, Lower A, Grudzinskas JG. Pre-treatment transvaginal ultrasound measurement of the ovarian volume: a predictor of responsiveness in an *in vitro* fertilization cycle. **Hum Reprod**, v. 13, p. 26-27, 1998.

Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women: variations at different ages. **Acta Anat**, v. 14, n. 1-2, p.108-123, 1952.

Broekmans FJ, Faddy MJ, Scheffer G, te Velde ER. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. **Menopause**, v. 11, p. 607–614, 2004.

Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. **Hum Reprod Update**, v. 12, n. 6, p. 685-718, 2006.

Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. **Fertil Steril**, v. 94, n. 3, p. 1044-1051, aug. 2010.

Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. **Fertil Steril**, v. 91, n. 3, p. 705-714, 2009.

Broekmans FJ, Scheffer GJ, Bancsi LF, Dorland M, Blankenstein MA, Velde ER. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women. **Maturitas**, v.30, n. 2, p. 205-214, 1998.

Brown JR, Liu HC, Sewitch KF, Rosenwaks Z, Berkeley AS. Variability of day 3 follicle-stimulating hormone concentrations in eumenorrheic women. **J Reprod Med**, v. 40, n. 9, p. 620-624, 1995.

Burger HG, Dudley EC, Robertson DM, Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. **Recent Prog Horm Res**, v. 57, n. 1, p. 257-275, 2002.

Cameron IT, O`Shea FC, Rolland JM, Hughes EG, de Kretser DM, Healy DL. Occult ovarian failure: a syndrome of infertility, regular menses, and elevated follicle-stimulating hormone concentrations. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 67, p. 1190-1194, 1988.

Castro EC, Amaral WN. Avaliação da Reserva Ovariana. **Reprodução e Climatério**, v. 24, n. 3, p. 1-8, 2009.

Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potencial than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. **Fertil Steril**, 2003;79(1):63-68.

Dechaud H. L'ovocyt: avancées fondamentales et thérapeutiques. Les tests dynamiques peuvent-ils prévoir la qualité ovocytaire? **J Gynecol Obst Biol Reprod**, v.35, n. 2, p. 2537-2538, 2006.

Durlinger AL, Grujters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. **Endocrinology**, v. 142, n. 11, p. 4891-4899, 2001.

El-Nemr A, Al-Shawaf T, Sabatini L, Wilson C, Lower A.M, Grudzinskas J.G. Effect of smoking on ovarian reserve and ovarian stimulation in in-vitro fertilization and embryo transfer. **Hum. Reprod**, v. 13, p. 2192 – 2198, 1998.

Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, Rabinowitz R, Markowitz E, Mimoni T, Gal M, Zylber-Haran E, Margalioth EJ. Dynamic assays of inhibin B, anti-Müllerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. **Hum Reprod.**, v. 20, n. 11, p. 3178-3183, nov. 2005.

Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. **Hum Reprod**, v. 7, n. 10, p. 1342-1346, 1992.

Fanchin R, Louafi N, Mendez Lozano DH, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Per-follicle measurements indicate that anti-Müllerian hormone secretion is modulated by the extent of follicular development and luteinization and may qualitatively reflect the ovarian follicular status. **Fertil Steril**, v. 84, n. 1, p.167-173, 2005.

Fanchin R, Taieb J, Lozano DHM, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. **Hum Reprod**, v. 20, n. 4, p. 923-927, 2005.

Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. **Hum Reprod**, v. 18, n. 2, p. 328-332, 2003.

Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. **Hum Reprod**, v. 18, n. 2, p. 323-327, 2003.

Fiçicioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakacak Z. Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve. **Fertil Steril**, v. 85, n. 3, p. 592-596, 2006.

Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. **Fertil Steril**, v. 74, n. 3, p. 512-517, 2000.

Gougeon A, Chainy GB. Morphometric studies of small follicles in ovaries of women at different ages. **J Reprod Fertil**, v. 81, p. 433–42, 1987.

Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. **Biol Reprod**, v. 50, n. 3, p. 653-663, 1994.

Gürkan T, Urman B, Yarali H, Duran HE. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 to predict ovarian response in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization using a flare-up protocol. **Fertil Steril** v. 68, p. 483-487, 1997.

Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EMA, Groenewoud ER, Heineman MJ, et al. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. **Hum reprod**, v. 22, n. 7, p. 1925-1931, 2007.

Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin a and inhibin b reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. **Hum Reprod**, v. 14, n. 2, p. 409-415, 1999.

Hansen KR, Morris JL, Thyer AC, Soules MR. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. **Fertil Steril**. V. 80, n. 3, p. 577-583, 2003.

Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen- Bacrie P. Serum anti-müllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. **Fertil Steril**, v. 82, n. 5, p. 1323-1329, 2004.

Hendriks DJ, Kwee J, Mol BWJ, te Velde ER, Broekmans JM. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. **Fertil Steril**, v. 87, n.4, p. 764-775, 2007.

Hofmann GE, Danforth DR, Seifer DB. Inibin-B: the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. **Fertil Steril**, v. 69, p. 474-477, 1998.

Jacobs SL, Metzger DA, Dodson WC, Haney AF. Effect of age on response to human menopausal gonadotropin stimulation. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 71, n. 6, p.1525-1530, 1990.

Jain T, Klein NA, Lee DM, Sluss PM, Soules MR. Endocrine assessment of relative reproductive age in normal eumenorrheic younger and older women across multiple cycles. **J Obstet Gynecol**, v. 189, n. 4, p.1080-1084, 2003.

Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test of ovarian reserve screening. **Fertil Steril**, v. 82, n. 1, p:180-185, 2004.

Jayaprakasan K, Hilwah N, Kendall NR, Hopkisson JF, Campbell BK, Johnson IR, et al. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after assisted reproduction treatment. **Hum Reprod**, v. 22, n. 7, p.1932-1941, 2007.

Jayaprakasan K, Walker KF, Clewes JS. The interobserver reliability of off-line antral follicle counts made from stored three-dimensional ultrasound data: a comparative study different measurement techniques. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 29, p. 335–341, 2007.

Josso N, Cate RL, Pieard JY, Vigier B, di-Clemente N, Wilson C, et al. Anti-müllerian hormone: the Jost factor. **Recent Prog Horm Res**, v. 48, p. 1-59, 1993.

Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: study of serum and follicular fluids levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 81, n. 7, p. 2742-2745, 1996.

Kwee J, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB, Schoemaker J. Intercycle variability of ovarian reserve tests: results of a prospective randomized study. **Hum Reprod**, v. 19, n. 3, p. 590-595, 2004.

Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in vitro fertilization can predict poor response. **Hum Reprod**, v. 12, n. 2, p. 294-297, 1997.

La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). **Hum Reprod Update**, v. 16, n. 2, p. 113-130, mar-apr . 2010.

La Marca A., Spada E., Sighinolfi G., Argento C., Tirelli A., Giulini S., Milani S. Age – specific nomogram for the decline in antral follicle count throughout the reproductive period. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 2, p. 684- 688, 2011.

La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful toll? **Clin Endocrinol**, v. 64, n. 6, p. 603-610, 2006.

Lee TH, Liu CH, Huang CC, Wu YL, Shih YT, Ho HN, et al. Serum anti- Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. **Hum Reprod**, v. 23, n. 1, p. 160-167, 2008.

Loumaye E, Billion JM, Mine JM, Psalti I, Pensis M, Thomas K. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomiphene citrate challenge test. **Fertil Steril**, v. 53, n. 2, p. 295-301, 1990.



Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve – should we perform tests of ovarian reserve routinely? **Hum Reprod**, v. 21, n.11, p. 2729-2735, 2006.

McGee EA, Smith R, Spears N, Nachtigal MW, Ingraham H, et al. Müllerian inhibitory substance induces growth of rat preantral ovarian follicles. **Biol Reprod**, v. 64, n. 1, p. 293-298, 2001.

Medeiros SF, Assi PE, Sékula VG, Carmona F, Yamamoto MMW. Dinâmica dos níveis do hormônio folículo estimulante na fase folicular precoce durante a vida reprodutiva. **Reprod Clim**, v.17, n. 1, p. 34-38, 2002.

Medeiros SF, Assi PE, de Medeiros MM. Gonadotrophin dynamics during reproductive life. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 87, n.1, p. 24-28, 2004.

Melica F, Chiodi S, Cristoforoni PM, Ravera GB. Reductive surgery and ovarian function in the human: can reductive surgery in reproductive age negatively influence fertility and age at onset of menopause? **Int J Fertil Menopausal Stud**, v. 40, p. 79–85, 1995.

Melo MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, Meseguer M, Pellicer A, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. **Fertil Steril**, v. 91, n. 1, p. 148-156, 2009.

Muttukrishna S., McGarrigle H., Wakim R., Khadum I., Ranieri D. M., Serhal P. - Antral follicle count, anti-müllerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? **B. J. O. G**, v. 112, p. 1384–1390, 2005.

Nahum R, Shifren JL, Chang Y, Leykin L, Isaacson K, Toth TL. Antral follicle assessment as a tool for predicting outcome in IVF – Is it a better predictor than age and FSH? **J Assist Reprod Genet**, v. 18, n. 3, p. 151-155, 2001.

Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. **Lancet**, v. 2, n. 8560, p. 645-647, 1987.

Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. **Hum Reprod**, v. 18, p. 2169–2174, 2003.

Pache TD, Wladimiroff JW, De Jong FH. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. **Fertil Steril**, v. 54, p. 638–642, 1990.

Pastor CL, Vanderhoof VH, Lim LCL, Calis KA, Premkumar A, Guerrero NT, et al. Pilot study investigating the age-related decline in ovarian function of regularly menstruating normal women. **Fertil Steril**, v. 84, n. 5, p. 1462-1469, 2005.

Penarrubia J, Fabregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotrophin releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. **Hum Reprod**, v. 20, n.4, p. 915-922, 2005.

Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsboll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in standard IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. **Hum Reprod**, v.18, n. 4, p. 781-7, 2003.

Reuss ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. **J Obstet Gynecol**, v. 174, n. 2, p. 624-7. feb. 1996.

Rosen MP, Sternfeld B, Schuh-Huerta SM, Reijo Pera RA, McCulloch CE, Cedars MI. Antral follicle count: absence of significant midlife decline. **Fertil Steril**, v. 94, n.6, p. 2182-2185, nov. 2010.

Scheffer GJ, Broekmans FJM, Bancsi LF. Quantitative transvaginal twoand three-dimensional sonography of the ovaries: reproducibility of antral follicle counts. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 20, p. 270–275, 2002.

Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, LoomanCW, teVelde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. **Fertil Steril**, v. 72, p. 845–851, 1999.

Scheffer JB, Lozano DM, Frydman R, Fanchin R. Relação entre os níveis séricos do hormônio anti-Mulleriano, inibina-B, estradiol e hormônio folículo estimulante no terceiro dia e o status folicular ovariano. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 29, n. 4, p. 186-191, 2007.

Scott RT Jr, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone concentrations and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. **Fertil Steril**, v. 54, n. 2, p. 297-302, 1990.

Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. **Fertil Steril**, v. 67, p. 110-114, 1997.

Seifer DB, Maclaughlin DT. Müllerian Inhibiting Substance in an ovarian growth factor or emerging clinical significance. **Fertil Steril**, v. 88, n. 3, p. 539-546, 2007.

Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. **Fertil Steril**, v. 77, n. 3, p. 468-471, 2002.

Shara FI, Scott RT Jr, Seifer DB. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. **J Obstet Gynecol**, v. 179, n. 3, p. 804-812, 1998.

Sharif, K., Elgendy, M., Lashen, H. and Afnan, M. Age and basal follicle stimulating hormone as predictors of in vitro fertilisation outcome. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1998;105:107-12.

Singer T, Barad DH, Weghofer A. Correlation of antimüllerian hormone and baseline follicle-stimulating hormone levels. **Fertil Sterility**, v. 91, p. 2616-2619, 2009.

Speroff L, Glass RH, Kase NG. O ovário desde a concepção até a senilidade. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Endocrinologia Ginecológica, Clínica e Infertilidade: Manole*, v. 4, p.103-143, São Paulo, 1991.

Syrop CH, Willhoite A, Van Voorhis BJ. Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction. **Fertil Steril**, v. 64, p. 167-171, 1995.

Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti- Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. **Fertil Steril**, v. 89, n. 3, p. 586-591, 2008.

Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. **Hum Reprod**, v. 12, n. 2, p. 220-223, 1997.

Singer T, Barad DH, Weghofer A, Gleicher N. Correlation of antimüllerian hormone and baseline follicle-stimulating hormone levels. **Fertil Steril**, v. 91, n. 6, p. 2616-2619, jun. 2009.

Tufan E, Elter K, Durmusoglu F. Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve tests. **Hum Reprod**, v. 19, n. 11, p. 2484-2489, 2004.

Van Rooij IA, Brookmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Banesi LF, Jong FH. Serum anti-müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. **Hum Reprod**, v. 17, n. 12, p. 3065-3071, 2002.

Vet A, Laven JSE, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BCJM. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. **Fertil Steril**, v. 77, n. 2, p. 357-358, 2002.

Visser JA, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. **Mol Cell Endocrinol**, v. 234, p. 81-86, 2005.

Visser JA. L'ovocyte: avancées fondamentales et Thérapeutiques. Rolê de l'AMH (hormone anti-Müllerienne) dans le recrutement folliculaire initial et cyclique. **J Gynecol Obstet Biol Reprod**, v. 35, n. 2, p. 2530-2534, 2006.

Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. **Hum Reprod**, v. 19, n. 7, p. 1612-1617, 2004.

Weenen C, Laven JS, Von Berg AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and eyelike follicle recruitment. **Hum Reprod**, v. 10, p.77-83, 2004.

---

---

## Anexos

## Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética



**PROTOCOLO CEP/HC/UFG Nº 047/2011**

**Goiânia, 21/06/2011**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** *Dr. Eduardo Camelo de Castro*

**ORIENTADOR:** *Dr. Waldemar Naves do Amaral*

**TÍTULO-** *“Comparação das curvas de decréscimo da reserva ovariana utilizando a dosagem do hormônio foliculo estimulante e a contagem dos folículos antrais ovarianos .”*

**Área Temática:** *Grupo I – Reprodução Humana*

**Instituição Proponente:** *Faculdade de Medicina /UFG – depto. de Ginecologia*


**Local de realização:** *Clinica Fêmeina – Centro de Reprodução Humana*

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa **analisou** e **aprovou** o projeto de pesquisa acima referido, juntamente com os documentos apresentados e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

Informamos que **não há** necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.

**O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/HC/UFG, relatórios semestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão (ões) e publicação (ões).**

O CEP/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 196/96 (*Manual Operacional Para Comitês de Ética em Pesquisa – Item 13*).

  
**Farm. José Mário Coelho Moraes**  
**Coordenador do CEP/HC/UFG**

## Anexo 2 – Normas de publicação para a revista Reprodução e Climatério

### Instruções aos autores

A **Revista Reprodução & Climatério** publica artigos originais, artigos de atualização, opiniões, breves comunicações, relatos de caso e cartas ao editor (no máximo 500 palavras), na área de medicina reprodutiva, climatério, ginecologia endócrina e sexualidade. São aceitos artigos em português, espanhol ou inglês.

Os originais devem ser encaminhados para a **SBRH**, aos cuidados do editor, exclusivamente por correio eletrônico, para: [sbrh@sbrh.org.br](mailto:sbrh@sbrh.org.br).

Os originais devem ser escritos em folha A4, com espaço duplo e margens de 3 cm, em páginas numeradas. A fonte a ser utilizada é a Times New Roman, tamanho 12.

Os originais devem ser preparados na seguinte seqüência:

**Página de Rosto:** título do trabalho em português e inglês (o título não deverá ser colocado em negrito ou caixa alta), título conciso (de 2 a 4 palavras, para constar no alto da página), nome completo dos autores (exemplo: Patrick Steptoe), nome da(s) instituição(s) onde o trabalho foi desenvolvido, nome, endereço e e-mail do autor para correspondência.

**Resumo:** Deverá conter no máximo 200 palavras e ser estruturado, contendo Objetivos, Material e Métodos, Resultados, Conclusões e Uniterms. Evitar, no resumo, abreviações e referências bibliográficas. Deverá ser acrescentado um resumo conciso, de 2 ou 3 linhas com as principais conclusões do trabalho, para ser colocado no índice da revista. Para artigos de atualização, comunicações breves, opiniões e relatos de casos, não é necessário que o Resumo seja estruturado.

**Abstract:** Versão pra o inglês do texto do Resumo, acompanhado de Uniterms.

**Texto do trabalho:** Deverá conter Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas. As abreviações devem ser restritas e sempre definidas na primeira aparição no texto. Eventuais tabelas deverão ser numeradas em algarismos arábicos, com título explicativo do conteúdo. Não se colocam traços verticais e limita-se os horizontais a um acima da tabela e um ao final. As figuras, fotos ou desenhos devem ser limitados ao estritamente necessário, e serão numerados em algarismos arábicos, com legenda explicativa. Tabelas, fotos, figuras e desenhos devem ser enviados em páginas separadas. Nas referências bibliográficas, as citações devem obedecer às normas de Vancouver. Maiores esclarecimentos poderão ser obtidos no site: [www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Numere as referências por ordem de entrada no trabalho e use estes números para as citações no texto. Todos os autores devem ser citados, exceto quando houver mais de 6 autores, quando se pode citar os 6 primeiros seguidos pela expressão latina et al. Observe alguns exemplos de citações:

### **Artigos em periódicos:**

1. Nahas EAP, Pontes A, Nahas Neto J, Traiman P, Luca L, Abbade J. Efeitos da atividade física e da tibolona sobre a densidade mineral óssea em mulheres na pós menopausa. *Reprod Clim.* 2001;16:47-52.
2. Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935:40-6.

### **Volume com suplemento:**

3. Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42 Suppl 2:S93-9.

### **Livros:**

4. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2nd ed. New York:Raven Press; 1995. p.465-78.
5. Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people.* New York: Churchill Livingstone; 1996.

### **Cartas e Editoriais:**

6. Kremer J. Yardsticks for successful donor insemination [letter]. *Fertil Steril* 1991; 55:1203-4.
7. Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

Os manuscritos serão avaliados pelo Conselho Editorial de Reprodução & Climatério, podendo ser recusados, aceitos sem correções, ou aceitos com sugestões de correções, sendo neste último caso reencaminhados aos autores. Após aceitação definitiva, deverá ser feita carta assinada por todos os autores, fazendo menção que o manuscrito não foi publicado anteriormente e dizendo concordar com a publicação e transferência de copyright para Reprodução & Climatério. Os editores reservam-se o direito de fazer alterações gramaticais e estruturais que julgarem necessárias.



### **Anexo 3 – Normas de publicação da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Rev Bras Ginecol Obstet. ISSN 0100 7203), publicação mensal de divulgação científica da Federação das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (Febrasgo), é dirigida a obstetras, ginecologistas e profissionais de áreas afins, com o propósito de publicar contribuições originais sobre temas relevantes no campo da Ginecologia, Obstetrícia e áreas correlatas. É aberta a contribuições nacionais e internacionais.

O material enviado para análise não pode ter sido submetido simultaneamente à publicação em outras revistas nem publicado anteriormente. Na seleção dos manuscritos para publicação, são avaliadas originalidade, relevância do tema e qualidade da metodologia utilizada, além da adequação às normas editoriais adotadas pela revista. O material referente a artigos recusados não é devolvido.

Todos os manuscritos enviados serão submetidos a uma avaliação prévia. Os trabalhos que estiverem de acordo com as Instruções aos Autores e se enquadrarem na política editorial da revista são enviados para análise. Os originais em desacordo com essas instruções são devolvidos para as adaptações ou definitivamente. O sigilo é garantido durante todo o processo de revisão. A editoria faz todos os esforços para o processo de revisão seja anônimo. Os pareceristas desconhecem os autores e estes não são informados sobre a identidade dos revisores. Cópias dos pareceres dos revisores são enviadas aos autores. Os manuscritos aceitos e os aceitos condicionalmente são enviados para os autores para que sejam efetuadas as modificações e para que os mesmos tomem conhecimento das alterações a serem introduzidas, a fim de que o trabalho seja aceito para publicação. Os autores devem devolver o texto com as modificações solicitadas assim que possível, devendo justificar, na carta de encaminhamento, se for o caso, o motivo do não atendimento às sugestões. Não havendo retorno do trabalho após três meses, presume-se que os autores não têm mais interesse na publicação. Caso haja retorno após esse prazo, será considerada nova submissão, e o trabalho deve ser submetido à nova análise.

Os conceitos e declarações contidos nos trabalhos são de responsabilidade dos autores. O manuscrito enviado para publicação deve ser redigido em português.

A revista publica contribuições nas seguintes categorias:

1. Artigos Originais, trabalhos completos prospectivos, experimentais ou retrospectivos. Manuscritos contendo resultados de pesquisa clínica ou experimental original têm prioridade para publicação;
2. Relatos de Casos, de grande interesse e bem documentados, do ponto de vista clínico e laboratorial. O texto deve ser baseado em revisão bibliográfica atualizada. O número de referências pode ser igual ao dos trabalhos completos;
3. Artigos de Revisão e Atualização, incluindo avaliação crítica e sistematizada da literatura. A seleção dos temas é baseada em planejamento estabelecido pela editoria e editores associados. Todos os autores convidados e os coautores devem ter publicações em periódicos sobre o tema da revisão. O número de autores das revisões pode variar entre um e quatro, dependendo do tipo de texto e da metodologia empregada. Devem ser descritos os métodos e procedimentos

adotados para a realização do trabalho, podendo ser empregadas técnicas para se obter atualizações, metanálises ou revisões sistemáticas. O texto deve ser baseado em revisão atualizada da literatura. Tratando-se de tema ainda sob investigação, a revisão deve discutir todas as tendências e linhas de investigação em curso. Apresentar, além do texto da revisão, resumo, abstract e conclusões. Ver a seção “Preparo do manuscrito” para informações quanto ao texto, página de rosto, resumo e abstract. Contribuições espontâneas podem ser aceitas. Nesse caso, devem ser enviados inicialmente um resumo ou esboço do texto, a lista de autores e respectivas publicações sobre o tema. Se houver interesse da revista, é solicitado o texto definitivo. No caso de contribuições espontâneas, aplicam-se as normas para os autores convidados;

4. Comentários Editoriais, sob solicitação do editor;

5. Resumos de Teses apresentadas e aprovadas nos últimos 12 meses, contados da data de envio do resumo. Devem conter, aproximadamente, 250 palavras e seguir as normas da revista quanto à estruturação, à forma e ao conteúdo. Incluir título em português e inglês e, no mínimo, três palavras ou expressões-chave. O resumo deve ser enviado em disquete, CD ou DVD com uma cópia impressa. Em arquivo separado, informar: nome completo do autor e do orientador; membros da banca; data de apresentação e a identificação do serviço ou departamento onde a tese foi desenvolvida e apresentada. A editoria não faz modificações no texto dos resumos das teses. Portanto é necessário que, na redação do mesmo, as normas sejam obedecidas.

6. Cartas dos leitores para o editor, versando sobre matéria editorial ou não, mas com apresentação de informações relevantes para o leitor. As cartas podem ser resumidas pela editoria, mas com manutenção dos pontos principais. No caso de críticas a trabalhos publicados, a carta é enviada aos autores para que sua resposta possa ser publicada simultaneamente.

#### Informações gerais

1. A revista não aceita material editorial com objetivos comerciais.

2. Conflito de interesses: devem ser mencionadas as situações que podem influenciar de forma inadequada o desenvolvimento ou as conclusões do trabalho. Entre essas situações, menciona-se a participação societária nas empresas produtoras das drogas ou equipamentos citados ou utilizados no trabalho, assim como em concorrentes da mesma. São também consideradas fontes de conflito os auxílios recebidos, as relações de subordinação no trabalho, consultorias etc.

3. No texto, deve ser mencionada a aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição onde foi realizado o trabalho.

4. Artigo que trate de pesquisa clínica com seres humanos deve incluir a declaração de que os participantes assinaram o termo de consentimento livre e informado.

5. A partir de agosto de 2007, os periódicos indexados nas bases de dados Lilacs e SciELO passaram a exigir que os ensaios controlados aleatórios (randomized controlled trials) e ensaios clínicos (clinical trials) submetidos à publicação tivessem o registro em uma base de dados de ensaios clínicos. Essa decisão foi

decorrente da orientação da Plataforma Internacional para Registros de Ensaio Clínicos (ICTRP) da Organização Mundial da Saúde (OMS), do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). As instruções para o registro estão disponíveis no endereço eletrônico do ICMJE ([http://www.icmje.org/clin\\_trialup.htm](http://www.icmje.org/clin_trialup.htm)) e o registro pode ser feito na base de dados de ensaios clínicos da National Library of Medicine disponível em <http://clinicaltrials.gov/ct/gui>.

6. O número de autores de cada manuscrito é limitado a sete. Trabalhos de autoria coletiva (institucionais) devem ter os responsáveis especificados. Trabalhos e estudos multicêntricos podem ter número de autores compatível com o número de centros (cada situação é avaliada pela editoria e pelos revisores). Os investigadores responsáveis pelos protocolos aplicados devem ser especificados no fim do artigo. O conceito de coautoria é baseado na contribuição intelectual substancial de cada um, seja para a concepção e planejamento do trabalho, análise e interpretação dos dados, ou para a redação ou revisão crítica do texto. A inclusão de nomes cuja contribuição não se enquadre nos critérios citados não é justificável. Todos os autores devem aprovar a versão final a ser publicada.
7. Junto com os originais, deve ser enviada carta de encaminhamento assinada por todos os autores. Podem ser enviadas cartas separadas. Na carta, deve ficar explícita a concordância com as normas editoriais, com o processo de revisão e com a transferência de copyright para a revista. Se o trabalho é enviado pela Submissão on line SciELO, a carta de encaminhamento é dispensada.
8. O material publicado passa a ser propriedade da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia e da Febrasgo, só podendo ser reproduzido, total ou parcialmente, com a anuência dessas entidades.
9. Para manuscritos originais, não ultrapassar 25 páginas de texto digitado. Limitar o número de tabelas e figuras ao necessário para apresentação dos resultados que são discutidos (como norma geral, limitar a cinco). Para manuscritos do tipo Relato de Caso, não ultrapassar 20 páginas, reduzindo também o número de figuras e/ou tabelas (ver “Preparo do manuscrito”, “Resultados”).
10. Enviar CD ou DVD devidamente identificado com o arquivo contendo texto, tabelas, gráficos e as legendas de outras figuras (fotos). Encaminhar também três cópias impressas do manuscrito. O trabalho pode ser enviado para a revista pelo sistema de submissão on-line no portal SciELO. O endereço eletrônico para correspondência com a revista é: [rbgo@fmrp.usp.br](mailto:rbgo@fmrp.usp.br). Preparo do manuscrito

As normas que seguem foram baseadas no formato proposto pelo ICMJE e publicado no artigo Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals, atualizado em outubro de 2008 e disponível no endereço eletrônico <http://www.icmje.org/>.

#### Apresentação do texto

1. Os trabalhos devem ser digitados em espaço 2 em todas as seções, da página de rosto às referências bibliográficas, tabelas e legendas. Cada página deve conter aproximadamente 25 linhas em uma coluna. Usar preferencialmente o processador de texto Microsoft Word. Não dar destaque a trechos do texto: não sublinhar ou usar negrito. Numerar todas as páginas, iniciando pela página de rosto.
2. Não usar maiúsculas nos nomes próprios (a não ser a primeira letra) no texto ou nas referências bibliográficas. Não utilizar pontos nas siglas (DPP em vez de

D.P.P.). Quando usar siglas ou abreviaturas, descrevê-las por extenso na primeira vez que forem mencionadas no texto.

3. Para impressão, utilizar folhas de papel branco, deixando espaço mínimo de 2,5 cm em cada margem. Iniciar as seguintes seções em uma nova página: página de rosto; resumo e palavras ou expressões-chave; abstract e keywords; texto; referências; tabelas individuais e legendas das figuras não digitalizadas.

#### Página de rosto

Apresentar o título do trabalho em português e em inglês; nomes completos dos autores sem omissões e abreviaturas; nome da instituição onde o trabalho foi desenvolvido; funções dos autores na(s) instituição (ções) onde o estudo foi desenvolvido. Indicar em “Correspondência” o nome, endereço, telefone, fax e e-mail do autor para o qual a correspondência deve ser enviada. Para publicação, é obrigatório o endereço da instituição onde o trabalho foi desenvolvido. O autor deve indicar se e quais informações pessoais podem ser publicadas. Apresentar as informações sobre auxílios recebidos sob forma de bolsas de estudo, financiamento, fornecimento de equipamentos, insumos ou drogas. Estas informações poderão ser alocadas para outros pontos na diagramação final para publicação.

#### Resumo

O resumo do trabalho deve aparecer na segunda página. Para trabalhos completos, redigir um resumo estruturado, que deve ser dividido em seções identificadas: objetivo, métodos, resultados e conclusões. Deve ter aproximadamente 300 palavras. O resumo deve conter as informações relevantes, permitindo que o leitor tenha uma ideia geral do trabalho. Deve incluir descrição resumida de todos os métodos empregados e da análise estatística efetuada. Expor os resultados numéricos mais relevantes, não apenas indicação de significância estatística. As conclusões devem ser baseadas nos resultados do trabalho e não da literatura. Evitar o uso de abreviações e símbolos. Não citar referências bibliográficas no resumo. Abaixo do resumo, indicar o número de registro e/ou identificação para os ensaios controlados aleatórios e ensaios clínicos.

Na mesma página do resumo, citar pelo menos cinco palavras ou expressões-chave que serão empregadas para compor o índice anual da revista. Devem ser baseadas no Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) publicado pela Bireme, que é uma tradução do Medical Subject Headings (MeSH) da National Library of Medicine e está disponível no endereço eletrônico <http://decs.bvs.br>.

Em outra página, deve ser impresso o abstract como versão fiel do texto do resumo estruturado (purpose, methods, results, conclusions). Deve ser também acompanhado da versão para o inglês das palavras ou expressões-chave (keywords). O resumo e o abstract dos Relatos de Casos e Artigos de Revisão e de Atualização não devem ser estruturados e são limitados a 150 palavras.

#### Introdução

Repetir, na primeira página da introdução, o título completo em português e inglês. Nessa seção, mostre a situação atual dos conhecimentos sobre o tópico em estudo, divergências e lacunas que possam eventualmente justificar o desenvolvimento do trabalho, mas sem revisão extensa da literatura. Para Relatos de Casos, apresentar um resumo dos casos já publicados, epidemiologia da condição relatada e uma justificativa para a apresentação como caso isolado. Expor claramente os objetivos do trabalho.

#### Métodos

Iniciar essa seção indicando o planejamento do trabalho: se prospectivo ou retrospectivo; ensaio clínico ou experimental; se a distribuição dos casos foi aleatória

ou não etc. Descrever os critérios para seleção das pacientes ou grupo experimental, inclusive dos controles. Identificar os equipamentos e reagentes empregados. Se a metodologia aplicada já tiver sido empregada, indicar as referências, além da descrição resumida do método. Descrever também os métodos estatísticos empregados e as comparações para as quais cada teste foi empregado.

Os trabalhos que apresentam como objetivo a avaliação da eficácia ou tolerabilidade de tratamento ou droga devem, necessariamente, incluir grupo controle adequado. Para informações adicionais sobre o desenho de trabalhos desse tipo, consultar ICH Harmonized Tripartite Guideline – Choice of Control Group and Related Issues in Clinical Trials ([http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt/e10\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt/e10_e.html)). Ver também item 4 das “Informações gerais”.

#### Resultados

Apresentar os resultados em sequência lógica, com texto, tabelas e figuras. Expor os resultados relevantes para o objetivo do trabalho e que são discutidos. Não repetir no texto dessa seção todos os dados das tabelas e figuras, mas descrever e enfatizar os mais importantes, sem interpretação dos mesmos (ver também tabelas). Nos Relatos de Casos, as seções “métodos” e “resultados” são substituídas pela descrição do caso, mantendo-se as demais.

#### Discussão

Devem ser realçadas as informações novas e originais obtidas na investigação. Não repetir dados e informações já mencionadas nas seções “introdução” e “resultados”. Evitar citação de tabelas e figuras. Ressaltar a adequação dos métodos empregados na investigação. Comparar e relacionar as suas observações com as de outros autores, comentando e explicando as diferenças. Explicar as implicações dos achados, suas limitações e fazer as recomendações decorrentes. Para Relatos de Casos, basear a discussão em ampla e atualizada revisão da literatura. Recomenda-se tabular informações sobre os casos já publicados para comparação.

#### Agradecimentos

Dirigidos a pessoas que tenham colaborado intelectualmente, mas cuja contribuição não justifica coautoria, ou para aquelas que tenham dado apoio material.

#### Referências

Todos os autores e trabalhos citados no texto devem constar dessa seção e vice-versa. Numerar as referências bibliográficas por ordem de entrada no trabalho e usar esses números para as citações no texto. Evitar número excessivo de referências, selecionando as mais relevantes para cada afirmação e dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregar citações de difícil acesso, como resumos de trabalhos apresentados em congressos ou publicações de circulação restrita. Não empregar referências do tipo “observações não publicadas” e “comunicação pessoal”. Para textos escritos originalmente em português, a referência também deve ser feita em português. Artigos aceitos para publicação podem ser citados acompanhados da expressão: “aceito e aguardando publicação”, ou “in press”, indicando-se o periódico, volume e ano. Trabalhos aceitos por periódicos que estejam disponíveis on-line, mas sem indicação de fascículos e páginas, devem ser citados como “ahead of print”.

No caso de citações de outras publicações dos autores (autocitação), incluir entre as referências bibliográficas apenas trabalhos originais (não citar capítulos ou revisões), impressos em periódicos regulares e relacionados ao tema.

O número de referências bibliográficas deve ser aproximadamente 30. Para Notas Prévias, no máximo dez. Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências bibliográficas.

Para todas as referências, citar os autores até o sexto. Se houver mais de seis autores, citar os seis primeiros, seguidos da expressão et al., conforme os seguintes modelos:

#### Formato impresso

- Artigos em revistas

- Moran CA, Suster S, Silva EG. Low-grade serous carcinoma of the ovary metastatic to the anterior mediastinum simulating multilocular thymic cysts: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 3 cases. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(4):496-9.

- Parpinelli MA, Faúndes A, Cecatti JG, Surita FG, Pereira BG, Passini Junior R, et al. Subnotificação da mortalidade materna em Campinas: 1992 a 1994. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2000;22(1):27-32.

- Miyatake T, Ueda Y, Yoshino K, Shroyer KR, Kanao H, Sun H, et al. Clonality analysis and human papillomavirus infection in squamous metaplasia and atypical immature metaplasia of uterine cervix: is atypical immature metaplasia a precursor to cervical intraepithelial neoplasia 3? *Int J Gynecol Pathol*. 2007;26(2):180-7.

- Livro

- Baggish MS, Karram MM. Atlas of pelvic anatomy and gynecologic surgery. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2006.

- Capítulos de livro

- Daher S, Mattar R, Sass N. Doença hipertensiva específica da gravidez: aspectos imunológicos. In: Sass N, Camano L, Moron AF, editores. Hipertensão arterial e nefropatias na gravidez. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 45-56.

#### Formato eletrônico

Apenas para informações estatísticas oficiais e citação de referências de periódicos não impressos. Para estatísticas oficiais, indicar a entidade responsável, o endereço eletrônico, o nome do arquivo ou entrada. Incluir o número de telas, data e hora do acesso. Termos como “serial”, “periódico”, “homepage” e “monography”, por exemplo, não são mais utilizados. Todos os documentos devem ser indicados apenas como [Internet]. Para documentos eletrônicos com o identificador DOI (Digital Object Identifier), mencionar no final da referência, além das informações que seguem:

- Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS [Internet]. Informações de Saúde. Estatísticas vitais. Mortalidade e nascidos vivos: nascidos vivos desde 1994. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2008. [citado 2007 Fev 7]. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinasc/cnv/nvuf.def> >

- Monografia na internet ou livro eletrônico

- Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <<http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>>

#### Tabelas

As tabelas devem estar separadas do texto e em páginas separadas. Usar espaço duplo. A numeração deve ser sequencial, em algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. Todas as tabelas devem ter título e todas as colunas da tabela devem ser identificadas com um cabeçalho. A legenda deve conter informações que permitam ao leitor entender o conteúdo das tabelas e figuras, mesmo sem a leitura do texto do trabalho. As linhas horizontais devem ser simples e limitadas a duas no topo e uma no final da tabela. Não empregar linhas verticais. Não usar funções de criação de tabelas, comandos de justificação, tabulações

decimais ou centralizadas. Utilizar comandos de tabulação (tab) e não o espaçador para separar as colunas e, para nova linha, a tecla enter. No rodapé da tabela, deve constar nota com explicações sobre abreviaturas, siglas e testes estatísticos utilizados.

#### Figuras (gráficos, fotografias)

As figuras devem ser impressas em folhas separadas e numeradas sequencialmente, em algarismos arábicos, conforme a ordem de aparecimento no texto. Todas as figuras devem ter qualidade adequada para impressão. Devem vir acompanhadas de título e legenda. No disquete, CD ou DVD devem ser enviadas em arquivo eletrônico separado do texto (a imagem aplicada no processador de texto não significa que o original está copiado). Para evitar problemas que comprometam o padrão da revista, o processo de digitalização de imagens (scan) deve obedecer aos seguintes parâmetros: para gráficos ou esquemas usar 800 dpi/bitmap para traço; para ilustrações e fotos (preto e branco) usar 300 dpi/RGB ou grayscale. Em todos os casos, os arquivos devem ter extensão .tif e/ou .jpg. No caso de não ser possível a entrega do arquivo eletrônico das figuras, os originais devem ser enviados em impressão a laser (gráficos e esquemas) ou papel fotográfico (preto e branco) para que possam ser devidamente digitalizadas. Também são aceitos arquivos com extensão .xls (Excel), .cdr (CorelDraw<sup>®</sup>), .eps, .wmf para ilustrações em curva (gráficos, desenhos, esquemas). São aceitas, no máximo, cinco figuras. Se as figuras já tiverem sido publicadas, devem vir acompanhadas de autorização por escrito do autor/editor e constando a fonte na legenda da ilustração.

#### Legendas

Imprimir as legendas usando espaço duplo, acompanhando as respectivas figuras (gráficos, fotografias e ilustrações) e tabelas. Cada legenda deve ser numerada em algarismos arábicos, correspondendo a cada figura e tabela, e na ordem que foram citadas no trabalho.

#### Abreviaturas e siglas

Devem ser precedidas do nome completo quando citadas pela primeira vez no texto. Nas legendas das tabelas e figuras, devem ser acompanhadas de seu nome por extenso. As abreviaturas e siglas não devem ser usadas no título dos artigos e nem no resumo.

#### Envio do manuscrito

Os documentos devem ser enviados para:

Jurandyr Moreira de Andrade

Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia – Editoria

Avenida Bandeirantes, 3.900, 8º andar – Campus Universitário

CEP 14049-900 – Ribeirão Preto/SP

Fone: (16) 3602-2803/Fax: (16) 3633-0946

E-mail: [rbgo@fmrp.usp.br](mailto:rbgo@fmrp.usp.br)

A submissão pode ser efetuada por meio do sistema de “Submissão on-line” da SciELO. Para correspondência, pode ser empregado o e-mail [rbgo@fmrp.usp.br](mailto:rbgo@fmrp.usp.br).

#### Itens para conferência do manuscrito

Antes de enviar o manuscrito, conferir se as Instruções aos Autores foram seguidas e verificar o atendimento dos itens listados abaixo. Os itens 1 e 7 não são necessários para trabalhos enviados via “Submissão on-line” no site SciELO.

1. Carta de encaminhamento assinada por todos os autores;

2. Citação da aprovação do projeto do trabalho por Comissão de Ética em Pesquisa (na seção “Métodos”) e referência ao termo de consentimento livre e informado quando indicado;
3. Conflito de interesses: se, quando aplicável, foi mencionado, sem omissão de informações relevantes;
4. Página de rosto com todas as informações solicitadas;
5. Resumo e abstract estruturados e compatíveis com o texto do trabalho;
6. Cinco ou mais palavras-chave relacionadas ao texto e respectivas keywords;
7. Mídia (CD ou DVD) contendo arquivo com o texto integral, tabelas e gráficos, corretamente identificado;
8. Verificar se todas as tabelas e figuras estão corretamente citadas no texto e numeradas, e se as legendas permitem o entendimento das mesmas;
9. Fotos devidamente identificadas e anexadas à correspondência;
10. Referências bibliográficas: numeradas na ordem de aparecimento e corretamente digitadas. Verificar se todos os trabalhos citados estão na lista de referências e se todos os listados estão citados no texto.