

MARIA DO CARMO BORGES DE SOUZA¹
MARCELO MARINHO DE SOUZA²
JOÃO BATISTA ALCÂNTARA OLIVEIRA³
CARLOS ANDRÉ HENRIQUES⁴
FERNANDA FREITAS OLIVEIRA CARDOSO⁵
ANA CRISTINA ALLEMAND MANCEBO⁶
CHRISTINA ALBUQUERQUE DA ROCHA⁷

Utilização da contagem de folículos antrais para predição do padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação controlada com antagonista de GnRH

Use of antral follicle count to predict the response pattern in controlled ovarian hyperstimulation cycles with GnRH antagonist

Artigos originais

Palavras-chave

Folículo ovariano
Indução da ovulação
Hormônio liberador de gonadotropina/
antagonistas & inibidores
Injeções de esperma intracitoplásmicas

Keywords

Ovarian follicle
Ovulation induction
Gonadotropin-releasing hormone/
antagonists & inhibitors
Sperm injections intracytoplasmic

Resumo

OBJETIVO: verificar se existe relação preditiva entre a contagem de folículos antrais (CFA) no segundo dia do ciclo com o padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação ovariana controlada para injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). **MÉTODOS:** estudo prospectivo, desenvolvido de maio de 2004 a maio de 2005, no qual 51 pacientes com idade ≤ 37 anos foram submetidas a reprodução assistida/ICSI, em protocolo de hiperestimulação ovariana com gonadotrofina recombinante e antagonista de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Foi realizada ultra-sonografia transvaginal (USTV) no segundo dia do ciclo, para contagem do número de folículos de 2 a 10 mm, quando do início do estímulo, dados comparados com o número de folículos > 15 mm no dia do desencadeamento da ovulação, número total e em metáfase II de oócitos captados, número de embriões de boa qualidade transferidos e taxa de gestação. A análise estatística foi realizada pelos testes *t* de Student e de Mann-Whitney, com significância estatística de 5% ($p < 0,05$). **RESULTADOS:** o grupo de estudo teve média de idade de 32,4 anos. A CFA média foi de 7,1, com mínimo de 1 e máximo de 16. Considerando a CFA como variável principal, foi observada correlação direta significativa com o número de folículos acima de 15 mm no dia do desencadeamento da ovulação ($p = 0,0001$), o número total ($p = 0,0001$) e em metáfase II ($p = 0,0001$) de oócitos captados. Tal correlação entre a CFA e gravidez não foi observada ($p = 0,43$). Não foi demonstrada uma correlação significativa entre a CFA e o número de embriões de boa qualidade transferidos ($p = 0,081$). **CONCLUSÕES:** a CFA no segundo dia do ciclo estimulado pode ser utilizada na predição da qualidade da estimulação ovariana, do número de oócitos captados e do número de oócitos maduros em ciclos de fertilização *in vitro* utilizando antagonista de GnRH.

Abstract

PURPOSE: to establish whether there is a predictive relationship between the antral follicle count (AFC) on the second day of the cycle and the response pattern in controlled ovarian hyperstimulation cycles for intracytoplasmic sperm injection (ICSI). **METHODS:** a prospective study developed from May 2004 to May 2005, in which 51 patients aged ≤ 37 years old were submitted to assisted reproduction/ICSI in ovarian hyperstimulation protocol with gonadotropin recombinant and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist. A transvaginal ultrasonography was performed on the second day of the cycle, to count the number of follicles measuring 2 to 10 mm, at the beginning of stimulus, data compared with the number of follicles with > 15 mm on the day of ovulation triggering, the total number of oocytes retrieved and in metaphases II, the number of good quality embryos transferred and pregnancy rate. The statistical analysis was performed by the *t*-Student test and the Mann-Whitney test, with statistical significance of 5% ($p < 0.05$). **RESULTS:** the mean age in the study group was 32.4 years. The AFC average was 7.1, minimum of 1 and maximum of 16. Considering AFC as a main variable, a significant direct correlation was observed with the number of follicles > 15 mm on the day of ovulation triggering ($p = 0.0001$), the total number of oocytes retrieved ($p = 0.0001$) and those in metaphases II ($p = 0.0001$). Such correlation between AFC and pregnancy was not observed ($p = 0.43$). There was no significant correlation between AFC and the number of good quality embryos transferred ($p = 0.081$). **CONCLUSIONS:** AFC on the second day of the stimulated cycle can be used to predict the quality of ovarian stimulation, the number of oocytes retrieved and the number of mature oocytes in *in vitro* fertilization cycles using GnRH antagonist.

Correspondência:

Marcelo Marinho de Souza
Rua Luiz Beltrão, 151, apto. 303 – Valqueire
CEP 21321-230 – Rio de Janeiro/RJ
Fones: (21) 2453-4718 (residencial), 9134-4915 (celular),
2430-9060 (trabalho), 2430-9070 (fax)
E-mail: marinhobruno@yahoo.com.br

Recebido

26/10/2007

Aceito com modificações

19/02/2008

Clínica de Reprodução Humana G&O – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

¹ Professora Adjunta de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Diretora da G&O Barra - RJ. Reprodução Humana – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

² Mestre em Medicina pela Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Ginecologista e Ultra-sonografista da G&O Barra - RJ. Reprodução Humana – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³ Ginecologista e Ultra-sonografista do Centro de Reprodução Humana Professor Franco Jr. – CRH – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

⁴ Professor Adjunto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Diretor da G&O Barra - RJ. Reprodução Humana – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁵ Mestre em Medicina pela Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Ginecologista e ultra-sonografista da G&O Barra - RJ. Reprodução Humana – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁶ Mestre em Medicina pela Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Chefe do Laboratório de Reprodução da G&O Barra - RJ. Reprodução Humana – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁷ Bióloga do Laboratório de Reprodução da G&O Barra - RJ. Reprodução Humana – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Introdução

O recrutamento e o desenvolvimento de múltiplos folículos ovarianos em resposta ao estímulo com gonadotrofinas são pontos fundamentais para o tratamento bem sucedido na fertilização *in vitro*. 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, está diretamente 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 gravidez¹.

Isoladamente, a idade não assegura um determinado padrão de resposta. Em número razoável de casos, aquelas com mais de 40 anos de idade ainda possuem reserva folicular suficiente para lhes garantir uma resposta satisfatória. Por outro lado, algumas mulheres mais jovens respondem abaixo do esperado ao tratamento².

Meios para prever o tipo de resposta ovariana têm sido estudados por diversos autores, sendo úteis para o aconselhamento dos casais e para a determinação das doses de gonadotrofinas de forma mais individualizada. Trabalhos nos quais se tentam identificar fatores preditivos de boa resposta ovariana à estimulação empregaram vários métodos, como a concentração basal sérica de hormônio folículo estimulante (FSH) e de estradiol no início do ciclo, antes do emprego das drogas indutoras. Estes parâmetros bioquímicos têm sido usados, representando valor preditivo da resposta ovariana³.

Contudo, os níveis hormonais podem ter considerável variação interciclo e, por este motivo, não são aceitos de forma definitiva na literatura¹. Os valores do FSH, por exemplo, podem variar de 10 a 25 UI/L⁴, o que pode conduzir a dificuldades de interpretação. A despeito de ser usado em muitos centros, parece que a determinação dos níveis séricos de FSH basal se aplica apenas a uma minoria de pacientes com níveis sanguíneos deste hormônio já elevados^{1,4,5}.

A aplicabilidade de outros parâmetros de avaliação da reserva folicular ovariana como forma de determinar o potencial de resposta ao estímulo com gonadotrofina tem sido estudada, como os níveis de inibina B^{6,7} e de hormônio anti-mulleriano^{8,9}.

A avaliação ultra-sonográfica da morfologia ovariana trouxe importante avanço na área da reprodução assistida. Em todo o mundo, marcadores ultra-sonográficos têm sido avaliados como preditores de resposta individualizada nos tratamentos de indução da ovulação. Assim, a observação

do volume ovariano¹⁰, da contagem total dos folículos antrais^{1,11-13} e do fluxo sanguíneo do estroma ovariano¹⁴⁻¹⁷ têm sido, aparentemente, úteis neste sentido.

Na última década, a evolução tecnológica dos aparelhos de ultra-sonografia, com marcante melhora na resolução de pequenas imagens, propiciou maior acurácia na visualização de folículos com mais de 2 mm de diâmetro. Alguns trabalhos demonstram, até o momento, aparente correlação entre este parâmetro ultra-sonográfico e o estado funcional dos ovários.

A contagem de folículos antrais (CFA) como parâmetro ultra-sonográfico parece refletir o número de folículos primordiais remanescentes¹⁸, podendo ter confiável grau de correlação não apenas com as más respondedoras e suas chances maiores de cancelamento de ciclo, como também com sua relação com o número de oócitos aspirados¹.

Uma CFA de ambos os ovários inferior a 10 pode estar associada a um risco aumentado de cancelamento de ciclo, podendo representar importante parâmetro de avaliação preditiva de resposta ovariana¹¹.

Por outro lado, esta capacidade da CFA em prever as chances de cancelamento de ciclo não está representada claramente na literatura. Para alguns autores, as pacientes com resposta insatisfatória podem ser melhor identificadas por exames bioquímicos, como o teste desafio com citrato de clomifeno e os níveis basais de FSH¹⁹.

A CFA tem sido avaliada quanto à sua aparente capacidade em prever tanto as chances de gravidez como também a de resposta insatisfatória. Assim, ela poderia ser utilizada no prévio aconselhamento dos casais de forma isolada ou, para alguns, conjuntamente com marcadores hormonais, fornecendo informações importantes para definição das doses das gonadotrofinas a serem empregadas^{11,20-22}.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de identificar uma possível relação preditiva da CFA, avaliada à ultra-sonografia transvaginal (USTV), e o padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação ovariana controlada para injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI).

Métodos

Estudo prospectivo desenvolvido no período de maio de 2004 a maio de 2005, no qual foram selecionadas 51 pacientes do programa de fertilização *in vitro* da Clínica de Reprodução Humana G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra da Tijuca, no Rio de Janeiro. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Médico Barra Shopping. Todas as pacientes foram informadas da possibilidade de utilização de seus dados clínicos em estudos científicos, sem qualquer identificação ou prejuízo pessoal. Foi obtida assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido inerente ao tratamento de fertilização *in vitro*.

Foram incluídas mulheres com idade igual ou menor que 37 anos com indicação de fertilização *in vitro*, em primeiro ciclo de tratamento e com dosagem de FSH inferior a 10 mUI/mL no segundo dia do ciclo. Foram excluídas as pacientes com passado de cirurgias ovarianas, assim como as que apresentavam endometriose e ovários policísticos, que poderiam interferir de alguma forma no processo de crescimento folicular.

Todas foram submetidas a tratamento de hiperestimulação ovariana controlada em protocolo com antagonista de GnRH (cetrotrelax, Cetrotide®, Serono) na dose de 0,25 µg/dia por via subcutânea. O estímulo foi feito com gonadotrofina recombinante (r-FSH, Gonal F®, Serono), sendo a dose dependente da faixa etária. Assim, pacientes com idade inferior a 30 anos receberam dose diária de 150 UI por via subcutânea e as com idade entre 31 e 37 anos, 225 UI.

No segundo dia do ciclo, as pacientes foram submetidas à avaliação ultra-sonográfica por via transvaginal, quando foi feita a contagem do número de folículos com diâmetro de 2 a 10 mm. A cavidade antral, com líquido folicular em seu interior, é representada à ultra-sonografia como pequenas imagens anecóicas arredondadas, sendo o seu registro obtido medindo-se o maior diâmetro de cada folículo. O aparelho utilizado foi um GE Logic 400 Pró-Series, com transdutor de uso intravaginal na frequência de 6,0 MHz, sendo todos os exames realizados pelo mesmo pesquisador (MMS).

Neste mesmo dia, foi colhida amostra de sangue para as dosagens de FSH, sempre antes do início do estímulo, ainda como critério extra para inclusão ou exclusão, quando se iniciou o estímulo, até que, no sexto dia do ciclo, foram novamente submetidas à USTV para avaliação da resposta inicial. Quando preciso, procedeu-se ao ajuste de dose necessário ou o ciclo foi cancelado, na ausência de resposta adequada (menos de três folículos em crescimento no sexto dia do ciclo). A partir daí, o controle ultra-sonográfico foi realizado com frequência individualizada para cada caso.

Uma vez presente ao menos um folículo com diâmetro maior que 14 mm ou mais, foi acrescentado o antagonista de GnRH, diariamente, com a finalidade de se evitar elevação prematura e abrupta de hormônio luteinizante endógeno, com conseqüente rotura folicular.

Foram, assim, acompanhadas até o dia em que estavam presentes ao menos um folículo com maior diâmetro ≥ 18 mm e dois folículos com maior diâmetro ≥ 16 mm. Neste dia, foi aplicada a gonadotrofina coriônica humana recombinante (r-hCG) para marcar a rotura folicular e agendar a captação dos oócitos, 34 a 36 horas após. Neste dia, era anotado o número total de folículos ≥ 15 mm, para correlação com a CFA.

A captação dos oócitos foi realizada por via vaginal, com as pacientes submetidas a anestesia geral venosa,

procedimento guiado pela USTV, usando-se agulha própria para aspiração (agulha de Wallace oocyte recovery needle 17 G – Sims Portex Ltda.).

Paralelamente, os parceiros realizaram as coletas do sêmen, em sua grande maioria por masturbação. Quando não possível, realizou-se punção testicular. O esperma foi armazenado em meio de cultura sperm rinse (Vitrolife).

A microinjeção dos espermatozoides nos oócitos em metáfase II (MII) foi realizada utilizando-se agulha de injeção ICSI Micropipets, Humagen mic 50-30, com os oócitos posicionados com o corpúsculo polar na posição de 6 ou 12 horas usando-se agulha de ICSI Micropipets Holding, Humagen MPH, med, 30. Após 48 e 72 horas da aspiração dos oócitos, avaliou-se o desenvolvimento inicial dos embriões. Considerou-se com desenvolvimento adequado o embrião com duas a quatro células após 48 horas, assim como com seis a oito células após 72 horas da ICSI.

No terceiro dia após a captação dos oócitos, eram realizadas as transferências dos embriões, sempre pelo mesmo pesquisador (MCBS), em procedimento guiado por ultra-sonografia abdominal, utilizando-se cateter de Wallace Embryo Replacement Catheter (Smiths Medical Int Ltd.). Para a classificação da qualidade dos embriões, foram utilizados os seguintes critérios: clivagem precoce (24 a 26 horas após a ICSI), presença e tipo de fragmentação, aspecto e número de blastômeros. Os seguintes critérios foram adotados: o endométrio deveria ter espessura mínima de 7 mm e a distância entre a ponta do cateter e o limite da cavidade endometrial deveria ser de 15 a 20 mm.

O número de embriões transferidos variou de 0 a 4 e os excedentes foram congelados segundo o protocolo lento, com o kit Embryo Freeze Media, Irvine Scientific.

A análise estatística para comparação de variáveis numéricas entre dois grupos foi feita utilizando-se o teste *t* de Student (paramétrico) para amostras independentes de distribuição Gaussiana ou o teste de Mann-Whitney (não paramétrico) para amostras de distribuição assimétrica. Para medir o grau de associação entre variáveis numéricas assimétricas (folículos antrais, folículos no dia do hCG, oócitos na captação e oócitos em MII), foi usado o coeficiente de correlação de Spearman (cs), que varia de -1 a 1. Quanto mais próximo destes extremos, mais forte é a associação; quanto mais próximo de zero, mais fraca. O coeficiente negativo expressa uma relação inversa, enquanto o positivo, ao contrário, uma relação direta. Este teste é um método não paramétrico, sendo utilizado pois algumas variáveis não apresentaram distribuição normal (distribuição Gaussiana) devido à dispersão dos dados e/ou à falta de simetria da distribuição. O critério de determinação de significância (p valor) adotado foi o nível de 5%.

Resultados

Das 51 pacientes, houve quatro cancelamentos de pacientes que não apresentaram crescimento de folículos até o sexto dia do ciclo (quatro dias de estímulo). Nesta amostra, observou-se que 18 (35,3%) mulheres engravidaram (taxa de gestação por ciclo iniciado). Considerando-se que quatro ciclos foram cancelados e em dois outros houve falha de fertilização, tivemos 40% de gestação por transferência. Das que engravidaram, seis (33,3%) não tiveram saco gestacional e quatro abortaram (22%), o que representa taxa de gravidez clínica de 26,6%. Foram 11 gestações únicas (61,1%) e uma dupla (5,6%). Não houve caso de gestação ectópica.

A média de idade foi de 32,4%. A média de folículos no segundo dia foi de 7,1, com mínimo de 1 e máximo de 16. A Tabela 1 fornece a média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo das variáveis observadas.

Considerando a CFA como variável principal, foi observada uma correlação significativa com o número de folículos ≥ 15 mm no dia do uso do hCG ($cs=0,5$; $p=0,0001$), com o número total de oócitos na captação ($cs=0,6$; $p=0,0001$) e com o número de oócitos em MII ($cs=0,5$; $p=0,0001$), conforme a Tabela 2. Isto significa que quanto maior o número de folículos antrais, maior o número esperado de folículos com mais de 15 mm, o número total de oócitos e de oócitos em MII aspirados.

Comparando-se o grupo das mulheres que engravidaram com o das que não engravidaram, observou-se que não houve diferença significativa quanto à idade ($p=0,82$), ao número de folículos antrais ($p=0,43$), ao número de folículos com mais de 15 mm no dia do desencadeamento da ovulação ($p=0,91$) e ao número de embriões G1/G2 transferidos ($p=0,21$), de acordo com a Tabela 3. Na Tabela 3, verificam-se a média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo das variáveis segundo a condição gravidez (positivo e negativo), assim como o correspondente nível descritivo do teste estatístico (p). A análise estatística foi realizada com o teste t de Student para amostras independentes (idade) e pelo teste de Mann-Whitney (demais variáveis).

Nesta amostra, não se estabeleceu um valor preditivo da CFA com relação às chances de ocorrência de gravidez. Entretanto, foi proposto um ponto de corte de seis para a CFA, tomando como base a mediana das mulheres que engravidaram.

Dicotomizando pelo número de folículos antrais em seis ou mais e menos que seis, observamos que o subgrupo das mulheres com seis ou mais folículos apresentou número de folículos > 15 mm ($p=0,0004$), de oócitos na captação ($p=0,0001$) e de oócitos em metáfase II ($p=0,001$) significativamente maiores do que o subgrupo com menos de seis folículos no segundo dia, conforme ilustra a Tabela 4, na qual foram utilizados o teste t de Student para amostras independentes (idade) e o teste de Mann-Whitney (demais variáveis).

Tabela 1 - Apresentação das variáveis incluídas na análise dos desfechos de 51 pacientes submetidas a ciclo de reprodução assistida com protocolo utilizando antagonista de hormônio liberador de gonadotrofinas.

Variável	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade	32,4	3,4	33	21	37
Contagem de folículos antrais	7,1	4	8	1	16
Folículos > 15 mm	8,5	5,1	8	0	26
Oócitos na captação	9,1	5,7	9	0	24
Oócitos em metáfase II	6,4	4,6	6	0	18
Total de embriões	4,9	3,6	5	0	18
Embriões graus 1 e 2 transferidos	1,6	1,2	2	0	4

Dp=desvio padrão.

Tabela 2 - Correlação das variáveis idade, folículos com diâmetro maior que 15 mm, oócitos na captação, oócitos em metáfase II e embriões graus 1 e 2 transferidos com a variável principal contagem de folículos antrais (CFA).

Variável	CFA	
Idade	-0,1	cs
	0,177	p
Folículos > 15 mm	0,5	cs
	0,0001	p
Oócitos na captação	0,608	cs
	0,0001	p
Oócitos em metáfase II	0,5	cs
	0,0002	p
Embriões graus 1 e 2 transferidos	0,2	cs
	0,081	p

cs=coeficiente de Spearman; p=nível de significância.

Tabela 3 - Correlação das variáveis analisadas com os resultados gravidez versus não gravidez (média, desvio padrão e nível de significância).

Variável	gravidez (n=18)	não gravidez (n=33)	p
Idade	32,2 \pm 3,8	32,5 \pm 3,3	0,82
Folículos no segundo dia	6,5 \pm 4,1	7,4 \pm 4,0	0,43
Folículos > 15 mm	8,7 \pm 5,2	8,5 \pm 5,2	0,91
Oócitos na captação	9,5 \pm 6,2	8,8 \pm 5,5	0,71
Oócitos em metáfase II	7,1 \pm 5,0	6,0 \pm 4,3	0,48
Embriões graus 1 e 2 transferidos	1,9 \pm 1,3	1,5 \pm 1,1	0,21

p=nível de significância.

Tabela 4 - Correlação entre as variáveis analisadas em relação à contagem de folículos antrais (grupo de CFA ≥ 6 com o grupo de CFA < 6 – média, desvio padrão e nível de significância).

Variável	≥ 6	< 6	p
Idade	31,8 \pm 3,6	33,3 \pm 3,1	0,14
Folículos ≥ 15 mm	10,5 \pm 4,7	5,6 \pm 4,3	0,0004
Oócitos na captação	11,5 \pm 4,8	5,4 \pm 5,0	0,0001
Oócitos em metáfase II	7,9 \pm 4,3	4,1 \pm 4,1	0,001
Embriões graus 1 e 2 transferidos	1,8 \pm 1,2	1,4 \pm 1,2	0,23
Grávidas	9	9	

Discussão

A questão da aplicação clínica da CFA tem sido levada em consideração devido ao alto grau de complexidade e custo do tratamento, além do estado natural de ansiedade, comum a muitos casais. Não existe consenso a respeito do melhor preditor do recrutamento

folicular pelas gonadotrofinas exógenas. A avaliação ultra-sonográfica da CFA, em particular, tem sido investigada como uma medida biofísica de avaliação da reserva ovariana. Alguns trabalhos favorecem o entendimento de que as relações hormonais, como os níveis de inibina B, hormônio anti-mulleriano e FSH, podem se somar, mas não suplantam a CFA, que parece ter maior valor para avaliação da reserva folicular^{1,11,23}.

Hoje, há uma variedade de regimes de hiperestimulação ovariana controlada, mas a individualização da conduta é essencial e depende de uma criteriosa avaliação da reserva ovariana. Identificar, pois, as possíveis boas e más respondedoras constitui um desafio, no campo da medicina reprodutiva. A dose ideal de gonadotrofina a ser programada é importante para se conseguirem os melhores resultados e minimizar as possibilidades de complicações, como a síndrome de hiperestimulação ovariana (SHO), assim como a otimização dos custos.

A CFA mostrou ter o melhor valor preditivo em estudo prospectivo, quando comparado com o FSH basal, índice de massa corpórea (IMC) e idade²¹, achado este confirmado em outros estudos^{11,13,15}. Por outro lado, Kwee et al.¹⁹, em um estudo no qual foram incluídas 110 mulheres entre 18 e 39 anos, concluíram que os melhores preditores de resposta insatisfatória foram o teste desafio com citrato de clomifeno e os níveis séricos de FSH.

No presente estudo, foram avaliadas mulheres com idade inferior a 37 anos, de casais inférteis, com o objetivo de analisar de forma específica a CFA e sua correlação com a reserva ovariana e o padrão de resposta ao estímulo ovariano controlado para ICSI. A média de idade das pacientes foi de 32,4 anos. A associação inversa da idade da mulher com a CFA, demonstrada em outros trabalhos^{16,22} que não restringiram seus grupos por limite de idade, incluindo portanto mulheres no final da vida reprodutiva, não teve confirmação nesta casuística (Tabela 2). A utilização de protocolo único de estimulação ovariana controlada, com antagonista de GnRH e gonadotrofina FSH recombinante, uniformizou a comparação entre as variáveis resultantes da resposta ovariana.

Houve correlação positiva significativa entre a CFA e o número de folículos com diâmetro menor que 15 mm, no dia do hCG. Este resultado está de acordo com os dados publicados por Ng et al.², que utilizaram um número maior de casos (128 pacientes).

O mesmo ocorreu com o número de oócitos obtidos na captação e com o número de oócitos em MII, confirmando os dados publicados por outros autores^{1,24,25}, que acreditaram neste fator preditivo da CFA. Esta relação preditiva direta entre a CFA e o padrão de resposta ao tratamento foi demonstrada nitidamente no presente estudo. Confirma, inclusive, a observação de que algumas pacientes mais velhas podem apresentar resposta

satisfatória, quando com CFA adequada, ao passo que algumas mais jovens podem contrariar as expectativas com respostas frustradas.

O baixo índice de cancelamentos por má resposta (quatro casos, 7,8%) correspondeu a pacientes com CFA de 1, 1, 6 e 6, enquanto os ciclos em que não houve transferência tiveram CFA de 1 (dois casos).

Em relação aos embriões resultantes nos ciclos relacionados à CFA, não houve diferença significativa, nesta amostra, entre este parâmetro e a obtenção de um número de embriões de boa qualidade (de 0 a 4) no momento da transferência (Tabela 2).

Não houve diferença significativa na idade, na CFA, nos folículos acima de 15 mm no dia do desencadeamento da ovulação ou no número de embriões transferidos de boa qualidade, quando se buscou o resultado de gravidez positivo ou negativo. Com relação à CFA, esta abordagem ficou inconsistente, pois a relação entre a CFA e a gravidez foi inversa, ou seja, as mulheres que engravidaram apresentaram CFA média menor, o que não está de acordo com a literatura, tendo como explicação provável o tamanho amostral reduzido.

Buscando maior sensibilidade para o parâmetro CFA, a partir da mediana obtida no grupo de grávidas, propusemos um ponto de corte de seis folículos antrais para estimar o comportamento das demais variáveis. Assim, o subgrupo das mulheres com mais de seis folículos antrais apresentou, com diferença significativa, maior número de folículos com mais de 15 mm, de oócitos totais e em MII do que o subgrupo com menos de seis folículos.

Este número é o mesmo proposto por Ng et al.², que identificaram maior probabilidade de cancelamento de ciclo quando presentes menos de seis folículos. Para estes autores, o risco de ocorrência da SHO é maior quando presentes mais de nove folículos antrais, o que aumentou a indicação de congelamento de embriões. Esta informação não foi confirmada por nossos resultados, já que não tivemos nenhum caso de congelamento direto para prevenção de SHO ou qualquer episódio de SHO, mesmo com 19 casos de CFA ≥ 9 .

Em outro trabalho de nosso grupo, propusemos um ponto de corte de cinco folículos. Neste estudo, as pacientes com CFA ≥ 5 tiveram resposta claramente melhor tanto com relação ao número total quanto em MII de oócitos recuperados. Por outro lado, este ponto de corte de seis é diferente do proposto em estudo semelhante¹¹, no qual se associou maior risco de fracasso do tratamento quando a CFA era menor de 10.

Como dado adicional, observamos que o grupo de gestação positiva (18 pacientes) teve 37 embriões excedentes congelados (sendo 33 de boa qualidade), enquanto o grupo de gestação negativa (33 pacientes) teve 33 embriões congelados (28 de boa qualidade).

Logo, as pacientes que engravidaram tiveram taxa de congelamento maior. Se considerarmos que a transferência de embriões em ciclos posteriores pode levar a testes positivos, que estes são acrescidos à taxa de sucesso no primeiro ciclo, que isto será mais freqüente nas pacientes com maior CFA, esta diferença pode tornar-se mais clara e, assim, também o dado CFA x gestação ser diferente.

Deste modo, o presente trabalho demonstrou que a CFA no segundo dia do ciclo menstrual pode ser utilizada como fator preditivo da qualidade da estimulação ovariana e do número total e em metáfase II de oócitos captados em ciclos de hiperestimulação ovariana controlada utilizando antagonista de GnRH. Esta associação permaneceu clara após a dicotomização da CFA em ≥ 6 e < 6 , o que sugere este número como ponto de corte para este parâmetro de avaliação.

Referências

1. Tomas C, Nuojuu-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1997;12(2):220-3.
2. Ng EH, Tang OS, Ho PC. The significance of the number of antral follicles prior to stimulation in predicting ovarian responses in an IVF programme. *Hum Reprod.* 2000;15(9):1937-42.
3. Sharif K, Elgendy M, Lashen H, Afnan M. Age and basal follicle stimulating hormone as predictors of in vitro fertilisation outcome. *Br J Obstet Gynaecol.* 1998;105(1):107-12.
4. Sharara 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.
5. Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril.* 2005;83(2):291-301.
6. Corson SL, Gutmann J, Batzer FR, Wallace H, Klein N, Soules MR. Inhibin-B as a test of ovarian reserve for infertile women. *Hum Reprod.* 1999;14(11):2818-21.
7. 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.
8. Scheffer JAB. Hormônio anti-mulleriano: marcador da reserva ovariana. *J Bras Reprod Assist.* 2007;11(1):20-5.
9. Sheffer JB, Méndez Lozano DH, Frydman R, Fanchin R. Marcador da resposta folicular ao hormônio foliculo estimulante pelo hormônio anti-mülleriano em mulheres ovulatórias. *J Bras Reprod Assist.* 2007;11(2):9-13.
10. 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.
11. 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.
12. Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Antral follicle counting in predicting the retrieved oocyte number after ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet.* 2001;18(6):320-4.
13. 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.
14. 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.
15. Kupesic S, Kurjak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum Reprod.* 2002;17(4):950-5.
16. Kupesic S, Kurjak A, Bjelos D, Vujisic S. Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age. *Fertil Steril.* 2003;79(1):190-7.
17. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsbo 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.
18. 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.
19. Kwee JJ, Elting MM, Schats RR, McDonnell JJ, Lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007;5:9.
20. 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.
21. 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(10):2169-74.
22. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG.* 2005;112(10):1384-90.
23. Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. *Hum Reprod.* 2003;18(1):35-44.
24. Broekmans FJ, Kwee JJ, 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.
25. 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.