



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

EDUARDO CAMELO DE CASTRO

**CONTAGEM AUTOMÁTICA TRIDIMENSIONAL DOS FOLÍCULOS
OVARIANOS DURANTE O CICLO MENSTRUAL**

Goiânia
2015

EDUARDO CAMELO DE CASTRO

**CONTAGEM AUTOMÁTICA TRIDIMENSIONAL DOS FOLÍCULOS
OVARIANOS DURANTE O CICLO MENSTRUAL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Waldemar Naves do Amaral

**Goiânia
2015**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Camelo de Castro, Eduardo

Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos durante o ciclo menstrual [manuscrito] / Eduardo Camelo de Castro. - 2015. xiii, 109 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina (FM) , Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Reserva Ovariana. 2. Ultrassonografia. 3. Folículo Ovariano. 4. Infertilidade. I. Naves do Amaral, Waldemar, orient. II. Título.

Ata da Defesa de Tese de Doutorado realizada por **Eduardo Camelo de Castro**. Aos **trinta um dias do mês de janeiro do ano de 2015**, às 10:00 horas, reuniu-se na Maternidade Dona Iris a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da defesa de Tese intitulada: **“VARIAÇÃO DA CONTAGEM AUTOMÁTICA TRIDIMENSIONAL DOS FOLÍCULOS OVARIANOS DURANTE O CICLO MENSTRUAL”**, como parte de requisitos necessários à obtenção do **título de Doutor**, área de concentração **Dinâmica do Processo Saúde-Doença** o Presidente da Comissão julgadora, **Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral**, iniciando os trabalhos concedeu a palavra ao candidato, para exposição em até **50** minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir ao candidato durante o prazo máximo de 30 minutos, assegurando-se o mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o candidato aprovado ou reprovado.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral - Presidente
Prof. Dr. Rui Gilberto Ferreira – Membro
Prof. Dr. Juarez Antônio de Souza – Membro
Prof. Dr. Marcelo Braga Viggiano – Membro
Profª. Drª. Rosane Ribeiro Figueiredo Alves – Membro
Profª. Drª. Rosemar Macedo Sousa Rahal – Suplente
Profª. Drª. Zelma Bernardes Costa – Suplente

Aprovado(a)/Reprovado(a)

aprovado
Aprovado
10/01/2015
aprovado
aprovado

Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o candidato **Eduardo Camelo de Castro** Habilitado (X) Não habilitado (). Nada mais havendo a tratar, eu **Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral**, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.

Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral - Presidente
Prof. Dr. Rui Gilberto Ferreira – Membro
Prof. Dr. Juarez Antônio de Souza – Membro
Prof. Dr. Marcelo Braga Viggiano – Membro
Profª. Drª. Rosane Ribeiro Figueiredo Alves – Membro
Profª. Drª. Rosemar Macedo Sousa Rahal – Suplente
Profª. Drª. Zelma Bernardes Costa – Suplente

Assinatura

Waldemar Naves do Amaral
Rui Gilberto Ferreira
Juarez Antonio de Souza
Marcelo Braga Viggiano
Rosane Ribeiro Figueiredo Alves
Rosemar Macedo Sousa Rahal

A banca examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Tese:

CONTAGEM AUTOMÁTICA TRIDIMENSIONAL
DOS FOLÍCULOS OVARIANOS DURANTE O CICLO
MENSTRUAL

Eduardo Camelo de Castro
Eduardo Camelo de Castro

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

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral, admirado em toda a América latina por sua capacidade nos diagnósticos ultrassonográficos. Um exemplo de médico trabalhador e resolutivo. Agradeço por sua dedicação ao ensino da ultrassonografia em nosso país.

Ao Prof. Dr. Nilson Donadio, um dos pioneiros da reprodução humana na América latina e imortal por seu legado. Serei eternamente grato por ter me ensinado o passado, o presente e o futuro da Reprodução Humana.

Ao atual Presidente do Comitê das Entidades Médicas de Goiás, Prof. Dr. Rui Gilberto Ferreira, pelo trabalho de incentivo a prática e a ciência médica no Estado de Goiás.

Ao Prof. Dr. Gercino Monteiro Filho pelo apoio nos cálculos estatísticos, a sua grande especialidade.

Aos colegas e amigos do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás por oferecer tratamento para a população carente do nosso estado.

Ao Prof. Dr. Marco Túlio Garcia Zapata pelos seus ensinamentos sobre como desenvolver trabalhos importantes de revisão sistemática da literatura. Essa metodologia enriqueceu o desenvolvimento desta tese.

A Prof. Dra. Rosane Ribeiro Figueiredo Alves por sua capacidade de ensinar e aprender. Obrigado por sua grande dedicação a pesquisa e a docência.

Aos meus amigos e sócios da Humana Medicina Reprodutiva que colaboraram indiretamente na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Juarez Antônio de Souza que tem incentivado o desenvolvimento da Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia no Estado de Goiás.

Aos 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, ex-diretor da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, por ter orientado meu trabalho do Programa de Iniciação Científica do CNPQ e por ser um dos incentivadores da minha carreira acadêmica. Seu esforço inicial acabou resultando no mestrado e agora no doutorado.

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 Mayra Martins Bastos, por compreender e respeitar os momentos de concentração para a execução desta tese.

A minha grande família, por estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Agradeço especialmente aqueles que compreenderam os momentos de minha ausência no convívio familiar devido à produção deste trabalho.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, me apoiaram na realização deste estudo.

SUMÁRIO

TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS	IX
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	XI
RESUMO.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
Testes da Reserva Ovariana	3
Qualidade da Contagem dos Folículos Antrais.....	5
Reprodutibilidade e Versatilidade da Contagem dos Folículos.....	8
3 OBJETIVOS.....	11
Objetivo Geral.....	11
Objetivos Específicos	11
4 MÉTODOS	12
Desenho do Estudo	12
Critérios de Inclusão	12
Critérios de Exclusão.....	12
Operacionalização e Coleta dos Dados.....	12
Cálculo da Amostra	14
Aspectos Éticos	15
Análise dos Dados.....	15
5 RESULTADOS.....	16
6 DISCUSSÃO	19
7 CONCLUSÕES	23
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	24

REFERÊNCIAS.....	25
APÊNDICES	30
Artigo 1: Variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos durante o ciclo menstrual	31
Artigo 2: Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in in vitro fertilization cycles	52
Artigo 3: A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização in vitro: uma revisão sistemática	69
Artigo 4: Confiabilidade da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional: uma revisão sistemática	76
Artigo 5: Revisão sistemática da variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual	83
ANEXOS	90
Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética	91
Anexo 2: Normas de publicação para a revista Reprodução e Climatério	95
Anexo 3: Normas de publicação da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia ..	98
Anexo 4: Descrição do Aparelho de Ultrassom	108

TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS

Figura 1: Ilustração de ovário humano com distribuição dos folículos antrais e dos folículos que ainda não cresceram (non-growing follicles - NGFs). Em (a) está representado o ovário de uma "jovem" e em (b) o ovário de uma mulher de meia idade reprodutiva ou "mais idosa". NGFs consistem de (c) folículos primordiais, (d) folículos intermediários e (e) folículos primários. Acredita-se a reserva ovariana seja representada por este "pool" de NGFs. (f) Folículos antrais representam um estágio mais avançado de desenvolvimento folicular.5

Figura 2: Correlação entre o 5^o, 25^o, 50^o, 75^o e 95^o percentis da contagem de folículos antrais (CFA) e a idade de pacientes inférteis.7

Figura 3: Contagem dos folículos antrais realizada por ultrassonografia bidimensional (2D). Trata-se de uma paciente com baixa reserva ovariana. Este fato permite a documentação das medidas dos folículos.9

Figura 4: Contagem dos folículos antrais realizada por ultrassonografia tridimensional (USG 3D) com software de automação. A cada folículo está atribuída uma cor específica. Na tela da esquerda os valores dos volumes dos folículos exibidos em ordem decrescente.10

Figura 5: Ultrassom tridimensional com software de automação.14

Tabela 1: Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média, desvio padrão e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a seis milímetros, Goiânia 2014.17

Gráfico 1: Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a seis milímetros, Goiânia 2014. Teste de Friedman; $p=0,001$. Legenda: CFA = Contagem dos Folículos Antrais; (1) = Fase Folicular Precoce; (2) = Fase Folicular Média; (3) Período Periovulatório; (4) = Fase Lútea.18

Tabela 2: Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média, desvio padrão e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a dez milímetros, Goiânia 2014.19

Gráfico 2: Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a dez milímetros, Goiânia 2014. Teste de Friedman; $p=0,001$. Legenda: CFA = Contagem dos Folículos Antrais; (1) = Fase Folicular Precoce; (2) = Fase Folicular Média; (3) Período Periovulatório; (4) = Fase Lútea.19

Figura 6: Nomograma para o cálculo da dose inicial de FSH exógeno com base na idade da paciente, na CFA e no FSH basal. No exemplo, para uma mulher com de 30 anos, CFA de 16 e FSH basal de 4 UI / l, a dose inicial é FSH exógeno seria de 152 UI / dia.23

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

AFC	Antral follicle count
AMH	Anti-Müllerian Hormone
ART	Assisted Reproduction Techniques
BMI	Body Mass Index
CFA	Contagem dos folículos antrais
ESCA	Esterilidade sem causa aparente
FIV	Fertilização in vitro
FM	Follicular Média
FOP	Falência ovariana prematura
FP	Follicular Precoce
FSH	Hormônio folículo estimulante
FSHr	Recombinant follicle-stimulating hormone
HAM	Hormônio anti-Müleriano
IVF	in vitro fertilization
LH	Hormônio Luteinizante
Lilacs	Literature Latin American and Caribbean
LU	Fase Lútea
Medline	Medical Literature Analysis and Retrieval System Online
mm	milímetros
NGFs	Non-growing follicles
OHSS	Ovarian Hyperstimulation Syndrome
ORT	Ovarian Reserve Tests
PO	Fase Periovulatória
PubMed	US National Library of Medicine
SciELO	Scientific Electronic Library Online
SHO	Síndrome do Hiperestímulo Ovariano
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
USG	Ultrassonografia
USG 2D	Ultrassonografia bidimensional
USG 3D	Ultrassonografia tridimensional
UI / L	Unidades internacionais por litro
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

RESUMO

OBJETIVOS: Avaliar a variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm e de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual. Considerando que este exame está padronizado para a fase folicular precoce, verificar se este teste pode ser aplicado durante as outras fases do ciclo ovariano. **METODOLOGIA:** Estudo prospectivo observacional. Foram incluídas todas as pacientes inférteis que fizeram monitorização da ovulação de 20/04/2013 a 30/10/2014, que tinham entre 18 e 35 anos, índice de massa corporal de 18 a 25 kg/m², ciclos menstruais regulares, sem história de cirurgia ovariana e sem alterações hormonais sugestivas de doenças endócrinas como alteração da dosagem do TSH, prolactina, insulina de jejum e glicemia de jejum. Foram excluídas as pacientes que apresentaram cistos ovarianos, as que faltaram em um ou mais dias da monitorização da ovulação e as que não realizaram a monitorização no ultrassom tridimensional (3D) com o pesquisador. A contagem dos folículos antrais (CFA) foi feita pelo modo 3D com software de automação na fase folicular precoce (2^o ao 5^o dia), na fase folicular média (6^o ao 10^o dia), no período periovulatório (12^o - 16^o dia) e na fase lútea (20^o ao 26^o dia). **RESULTADOS:** Quarenta e cinco mulheres foram incluídas. Houve diferença entre as médias das contagens dos folículos que mediram de 2 a 6 mm (p=0,001) e 2 a 10 mm (p=0,003) pelo teste de Friedman que avaliou conjuntamente a CFA das quatro fases do ciclo. Quando se aplicou o teste t-Student pareado, houve um aumento significativo na CFA de 2 a 6 mm quando se comparou a contagem desses folículos na fase folicular média e periovulatória com a contagem da fase lútea. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a contagem destes folículos pequenos nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória. Houve um aumento significativo na CFA de 2 a 10 mm da fase folicular precoce para a fase folicular média quando se aplicou o teste t-Student pareado. **CONCLUSÕES:** A variação da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm, nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória, não mostrou significância estatística. Houve uma variação significativa da contagem automática 3D dos folículos ovarianos de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual. A variabilidade significativa da contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm durante o ciclo não permite que este exame seja realizado fora da fase folicular precoce.

Palavras-chave: Ultrassonografia, Folículo Ovariano, Reserva Ovariana, Infertilidade.

ABSTRACT

OBJECTIVES: To evaluate the variability of three-dimensional automatic counting of follicles measuring between 2 - 6 mm and 2 - 10 mm during the menstrual cycle. Considering that this is a standard exam for the early follicular phase, to check if this test can be applied during other phases of the ovarian cycle. **METHODS:** A Prospective observational study. Serial transvaginal ultrasound scans were performed from 04/20/2013 to 10/30/2014 on infertile patients. Inclusion criteria included age between 18 and 35 years, body mass index 18-25 kg / m², regular menstrual cycles, no history of ovarian surgery and no hormonal changes to TSH, prolactin, fasting insulin and fasting glucose. Those patients with ovarian cysts or who did not complete one or more days of the serial transvaginal ultrasound scans and who did not undergo three-dimensional (3D) scanning with the researcher, were excluded. The antral follicle count was taken in 3D mode with automated software. Visits were scheduled for early follicular (2 to 5 days), mid-follicular (days 6 - 10), periovulatory (days 12 - 16) and luteal (days 20 - 26) phases of the menstrual cycle. **RESULTS:** Forty-five women were included. The Friedman test showed that the total number of antral follicles measuring 2-6 mm varied significantly ($p=0.001$) across the four periods of the menstrual cycle. The Paired Student's t-test showed a significant increase in follicles count 2-6 mm from the mid-follicular and periovulatory to the luteal phase. We found no significant intracycle variation between the small antral follicles (2-6 mm) in the early follicular, mid-follicular and periovulatory phases. The Friedman test showed that the total number of antral follicles measuring 2-10 mm varied significantly ($p=0.003$) across the menstrual cycle. Paired Student's t-test showed a significant increase in count from the early follicular to the mid-follicular phase. **CONCLUSIONS:** The variation of three-dimensional automatic follicles counting 2-6 mm in the early follicular, mid-follicular and periovulatory phases was not statistically significant. There was a significant variation in the 3D automatic count of ovarian follicles measuring 2-10 mm during the menstrual cycle. The significant variability in the counting of antral follicles measuring 2-10 mm across the menstrual cycle does not permit this examination to be carried out of early follicular phase.

Keywords: Ultrasonography, Ovarian Follicle, Ovarian Reserve, Infertility.

1 INTRODUÇÃO

O desejo pela maternidade vem sendo postergado para fases da vida mais tardias nos países desenvolvidos. A busca pela realização profissional e estabilidade econômica vem fazendo com que as mulheres passem a programar a chegada dos filhos para depois dos 35 anos (CASTRO e AMARAL, 2009). Por outro lado, um fato único e que não pode ser desconsiderado é que a parada da função ovariana ocorre antes de outros órgãos durante o processo de envelhecimento. Este fato causa a interrupção da fertilidade e as modificações associadas com a menopausa (WELLONS et al., 2013; SUKUR et al., 2014).

No nascimento há aproximadamente 2.000.000 oócitos nos ovários humanos. Há uma perda mensal destes gametas até seu esgotamento na menopausa. Reserva ovariana é o potencial funcional dos ovários representado pela quantidade e qualidade dos oócitos contidos nessas gônadas (MAHESHWARI et al., 2006). Portanto 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 (BROEKMANS et al., 2006).

A reserva ovariana pode variar de forma significativa entre mulheres da mesma idade (BURGER et al., 2002; HALE e BURGER, 2009) sendo assim a idade não prediz de forma confiável a capacidade reprodutiva de uma mulher (JAIN et al., 2004). Por isso alguns métodos que avaliam essa função têm sido estudados.

Um bom teste da reserva ovariana deve ser preditivo de concepção, mostrar a chance que uma mulher tem de ter um recém-nascido vivo, indicar a dose ideal de estimulação ovariana nos tratamentos para infertilidade, indicar a duração provável da atividade dos ovários (MAHESHWARI et al., 2006), ter boa reprodutibilidade e versatilidade. Atualmente não há exames confiáveis e altamente sensíveis para avaliar todos esses fatores (Al-AZEMI et al., 2011).

Na tentativa de avaliar a reserva ovariana, diversos testes têm sido propostos. Os testes estáticos comumente são realizados na fase folicular precoce do ciclo menstrual. Os principais são a dosagem do FSH basal (CASTRO e AMARAL, 2009), o hormônio anti-Mülleriano (HAM) (LA MARCA et al., 2010) e a contagem dos folículos antrais ovarianos (CFA) (ROSEN et al., 2010).

A maioria dos estudos sobre a validade e a confiabilidade dos vários testes da reserva ovariana é baseada em exames realizados durante a fase folicular precoce do ciclo menstrual. Esta janela de oportunidade relativamente pequena é restritiva tanto para os pacientes quanto para as clínicas que executam os testes. (DEB et al., 2013).

Vários grupos têm sugerido uma boa estabilidade dos níveis do HAM ao longo do ciclo menstrual (LA MARCA et al., 2007; VAN DISSELDORP et al., 2010), enquanto outros têm mostrado a presença de uma variação significativa do HAM no ciclo (WUNDER et al., 2008; HADLOW et al., 2013).

Ainda não há consenso sobre a variabilidade da contagem dos folículos antrais ao longo do ciclo ovariano. Dessa forma, mais estudos são necessários para esclarecer se este exame deve ser feito apenas na fase folicular precoce ou se a CFA pode ser feita em qualquer fase do ciclo menstrual. Novos aparelhos, softwares, métodos e técnicas de ultrassom que tem utilizado o modo tridimensional melhoraram a reprodutibilidade da CFA (LINHARES et al., 2014). Acredita-se que o aumento da reprodutibilidade da contagem dos folículos antrais, decorrente do uso das técnicas tridimensionais automatizadas, possa ter alterado a versatilidade deste teste, permitindo que o exame seja realizado em mais de uma fase do ciclo menstrual.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Testes da Reserva Ovariana

Os principais testes da reserva ovariana são a dosagem do FSH basal, o hormônio anti-Mülleriano (HAM) e a contagem dos folículos antrais ovarianos (CFA).

Hormônio Folículo Estimulante

O FSH basal reflete o estoque folicular dos ovários. Os níveis basais do FSH se elevam à medida que diminui a reserva de folículos. Por isso o FSH também tem sido utilizado como um marcador de insuficiência ovariana. Os valores considerados normais do FSH sérico basal variam entre 3 e 15 UI/L (CHUANG et al., 2003). Para alguns autores, o FSH basal maior que 10 UI/L pode ser considerado como preditor de baixa resposta ovariana (TOGNOTTI et al., 2008). Estudos mostram uma correlação negativa fraca e estatisticamente significativa entre o FSH basal e a CFA (CASTRO et al., 2011). Um trabalho já mostrou que a contagem dos folículos antrais pequenos e a dosagem do HAM apresentam menor variação no ciclo menstrual quando comparada com o FSH e outros marcadores da reserva ovariana (DEB et al., 2013).

Hormônio Anti-Mülleriano

O HAM é produzido pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e antrais pequenos. A expressão do HAM diminui nos folículos de 6 a 8 mm e é indetectável nos folículos maiores ou iguais a 10 mm e em folículos atresícos (WEENEN et al., 2004).

Um estudo prospectivo avaliou a relação entre a CFA, estratificada de acordo com o tamanho dos folículos, com o HAM. A estratificação dos folículos antrais de acordo com o tamanho foi feita dividindo os folículos em grupos de 2-4 mm, 2-5 mm, 2-8 mm e 2-10 mm. Os resultados desse estudo mostraram que os folículos menores, com 2-3 mm, 3-4 mm, 4-5 mm e 5-6 mm, se correlacionam com os níveis

séricos do HAM e com o número de oócitos maduros recuperados após a estimulação ovariana controlada. Por outro lado, a contagem de folículos antrais maiores, que mediram 6-10 mm, demonstrou fraca correlação com o HAM e com a resposta ovariana (JAYAPRAKASAN et al., 2010).

Já foi demonstrado também que o HAM prediz o grau de envelhecimento ovariano e isso reforça a hipótese de que este hormônio pode ser empregado como preditor da idade do início da menopausa (VAN DISSELDORP et al., 2008).

Uma paciente pode ser classificada como má respondedora quando apresentar 2 dos 3 critérios listados a seguir: idade maior ou igual a 40 anos ou qualquer outro fator de risco para má resposta (ou seja, todas as condições genéticas ou adquiridas possivelmente associadas com uma diminuição da quantidade de folículos); má resposta anterior (coleta de 3 oócitos ou menos após estimulação ovariana pelo protocolo convencional); teste anormal da reserva ovariana (CFA menor que 5 a 7 folículos ou HAM de 0,5 a 1,1 ng/mL) (FERRARETTI et al., 2011). Foi verificado em um estudo que os valores de corte do HAM para prever pacientes com má resposta variaram de 0,1 ng/mL a 1,26 ng/mL (LA MARCA et al., 2009).

A resposta ovariana acima da normal pode ocorrer quando os níveis do HAM estão elevados. Nesse contexto, o HAM aumentado pode ser associado com maior risco de ocorrência da síndrome do hiperestímulo ovariano (SHO) (TUMMON et al., 2005; NELSON et al., 2007; BUSSO et al., 2009). O HAM maior que 3,5 ng/mL pode prever a SHO com sensibilidade de 90,5% e especificidade de 81,3%. Estima-se então o valor de corte do HAM em 3,5 ng/mL (SU et al., 2008).

Contagem dos Folículos Antrais

Os folículos antrais estão distribuídos no parênquima ovariano. A contagem histológica dos folículos antrais do ovário tem correlação com a quantidade de folículos primordiais microscópicos, que ainda não cresceram no ovário (Figura 1). A contagem ultrassonográfica dos folículos antrais pode ser realizada para avaliação clínica da reserva ovariana. Um baixo número de folículos antrais pode indicar uma baixa reserva ovariana (ROSEN et al., 2011; MONNIAUX et al., 2014).

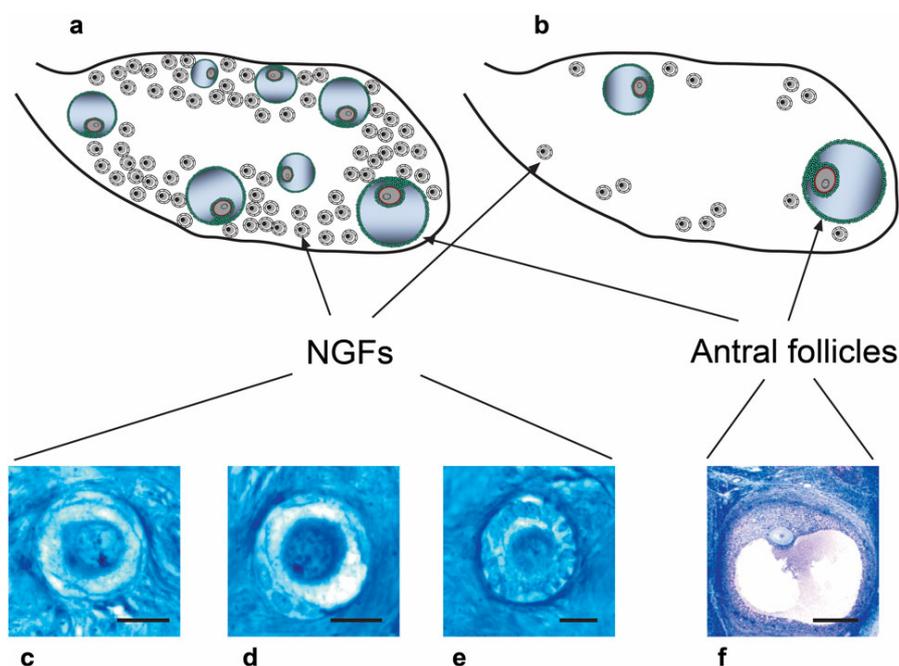


Figura 1: Ilustração de ovário humano com distribuição dos folículos antrais e dos folículos que ainda não cresceram (non-growing follicles - NGFs). Em (a) está representado o ovário de uma "jovem" e em (b) o ovário de uma mulher de meia idade reprodutiva ou "mais idosa". NGFs consistem de (c) folículos primordiais, (d) folículos intermediários e (e) folículos primários. Acredita-se a reserva ovariana seja representada por este "pool" de NGFs. (f) Folículos antrais representam um estágio mais avançado de desenvolvimento folicular.

Fonte: HANSEN et al., 2008.

Qualidade da Contagem dos Folículos Antrais

Um bom teste da reserva ovariana deve ser preditivo de concepção, mostrar a chance que uma mulher tem de ter um recém-nascido vivo, indicar a dose ideal de medicamento que deve ser usado na estimulação ovariana, indicar a duração provável da atividade dos ovários (MAHESHWARI et al., 2006), ter boa reprodutibilidade e versatilidade. Atualmente não há exames confiáveis e altamente sensíveis para avaliar todos esses fatores (Al-AZEMI et al., 2011).

Para muitos autores, a CFA e o HAM parecem ser igualmente preditivos da resposta dos ovários nos tratamentos com reprodução assistida (BROER et al., 2009) e a maioria dos autores concorda que a ambos têm o melhor valor preditivo da reserva ovariana (NARDO et al., 2007), mas as dosagens do HAM ainda são relativamente caras e há uma variação entre os testes laboratoriais deste hormônio (VISSER et al., 2006; LEDGER, 2014). Já a CFA é mais econômica e acessível devido a grande disponibilidade de aparelhos de ultrassom nas clínicas. Por isso a CFA geralmente é o exame mais realizado para a avaliação da reserva de oócitos.

A avaliação da reserva ovariana através da CFA pode ser usada como rastreamento para detectar más respondedoras à estimulação ovariana controlada. A CFA é o marcador que isoladamente tem o melhor valor preditivo do número de oócitos que serão captados nos ciclos de fertilização *in vitro* (SILVEIRA et al., 2013).

Ainda não há um teste para predizer gravidez de forma confiável, mas uma CFA baixa pode ser usada na prática diária como instrumento no aconselhamento de casais quanto à menor probabilidade que têm de alcançar a gravidez (SILVEIRA et al., 2013).

Ainda não foram encontrados dados na literatura que suportem a utilização de um único exame da reserva ovariana para determinar se um casal deve ou não ser submetido a intervenções ou tratamentos para a obtenção de uma gestação. Mesmo que não apresentem grande acurácia, a combinação dos principais testes da reserva ovariana ainda é a conduta mais eficaz e útil para o aconselhamento e triagem de pacientes com infertilidade. A CFA associada ao FSH basal parece ser a abordagem de menor custo na avaliação do casal infértil, mas a CFA associada aos níveis séricos do HAM tem aparentemente o maior poder preditivo nos tratamentos com reprodução assistida (CASTRO e AMARAL, 2009; OLIVEIRA et al., 2012; LA MARCA e SUNKARA, 2014).

Os trabalhos atuais sobre a reserva ovariana mostram a tendência de se aplicar doses individualizadas de gonadotrofinas exógenas nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). Estudos sugerem que a CFA apresenta bom desempenho na individualização das doses para prevenção de respostas inapropriadas. Com isso, essas pesquisas também estão avaliando o potencial da CFA para prevenir a síndrome do hiperestímulo ovariano (CASTRO et al., 2015; SILVEIRA et al., 2013).

Em 2012 foi construído um nomograma que correlacionou a idade de mulheres com diferentes percentis da contagem de folículos antrais ovarianos. Este gráfico apresentou um padrão linear de redução da contagem dos folículos antrais com a idade em todos os percentis (Figura 2). Neste nomograma, a reserva ovariana variou de forma significativa entre mulheres da mesma idade (CASTRO et al., 2012).

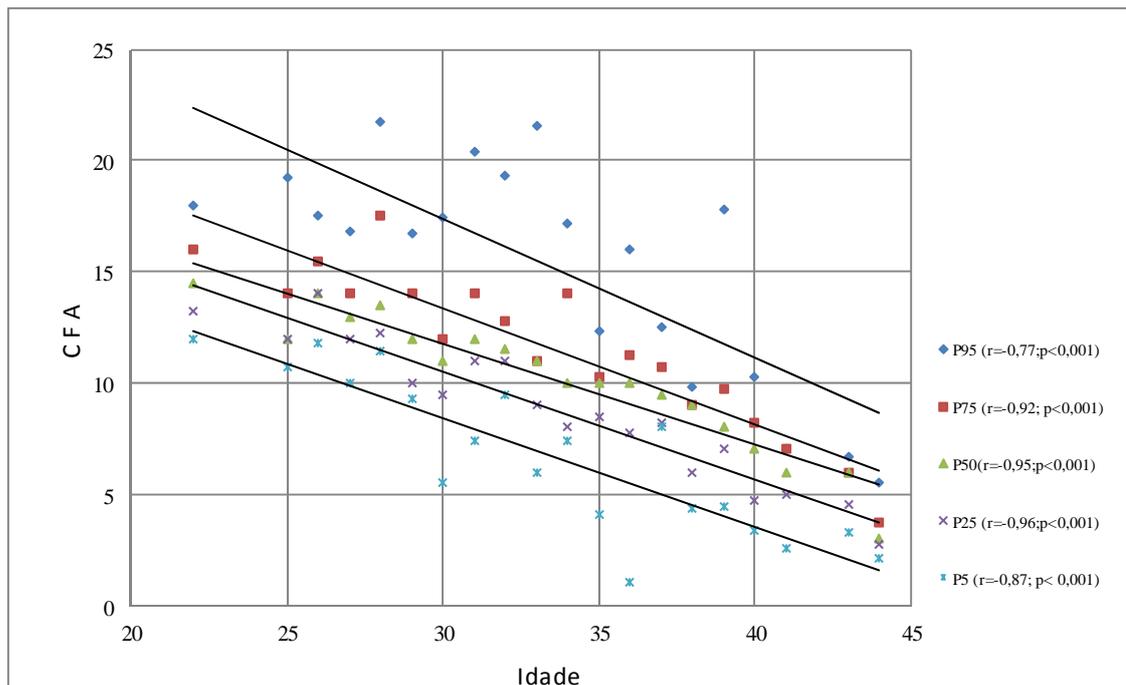


Figura 2: Correlação entre o 5º, 25º, 50º, 75º e 95º percentis da contagem de folículos antrais (CFA) e a idade de pacientes inférteis
 Fonte: CASTRO et al., 2012.

Há algum tempo os estudos vêm demonstrando que a CFA está relacionada com a ocorrência da menopausa e do último filho de uma mulher. Portanto a CFA pode ser considerada como um reflexo do estado reprodutivo. Uma avaliação clínica da capacidade reprodutiva é sugerida se a CFA é baixa para a idade (BROEKMANS et al., 2004). O acompanhamento ginecológico com a percepção de mudança para percentis inferiores, de uma mesma paciente, em duas contagens realizadas, em dois momentos distintos e distantes, também pode ter um significado clínico principalmente quando há suspeita ou história familiar de falência ovariana prematura (CASTRO et al., 2012).

Um estudo mostra que a CFA esta associada de forma independente com a menopausa. Este trabalho sugere que a CFA pode ajudar na previsão do tempo de menopausa natural. O trabalho relata que o risco da instalação de uma menopausa natural nas mulheres com 34 a 49 anos foi quase duas vezes maior quando apresentavam uma CFA menor ou igual a 4 (WELLONS et al., 2013). Por isso a identificação de uma paciente jovem, nos percentis mais inferiores de um nomograma da CFA, com baixa contagem de folículos antrais, deve acender um sinal de alerta para a fertilidade futura de uma mulher (CASTRO et al., 2012; BENTZEN et al., 2013).

Outro estudo indica que a idade da menopausa das mães está relacionada com a taxa de declínio dos marcadores da reserva ovariana das filhas. Foi encontrado um declínio mais pronunciado por ano na concentração sérica do HAM e na CFA para as filhas de mães com menopausa mais precoce (abaixo dos 46 anos) em comparação com as filhas de mães que tiveram a menopausa mais tardia (acima dos 54 anos). Os autores supõem que marcadores como "idade materna na menopausa" em combinação com HAM ou CFA e a idade cronológica poderia representar um quadro mais completo da avaliação da reserva ovariana (BENTZEN et al., 2013).

Reprodutibilidade e Versatilidade da Contagem dos Folículos

As primeiras reuniões para padronização da contagem dos folículos antrais ovarianos foram em 2007. Broekmans et al. publicaram em 2010 essas diretrizes que influenciaram a prática e os estudos desenvolvidos posteriormente (BROEKMANS et al., 2010). Desde então a contagem dos folículos antrais tem sido feita, na maioria dos trabalhos publicados, pelo ultrassom bidimensional (2D).

Nesta padronização de 2010, recomendou-se que as imagens dos folículos fossem captadas por um transdutor transvaginal, em tempo real e em duas dimensões. Para estes autores, a CFA com ultrassom 2D deve ser iniciada com a identificação do primeiro ovário. Em seguida deve ser feita uma varredura ultrassonográfica da gônada, em uma única direção, nos principais eixos, em busca de imagens hipoecogênicas com diâmetro de 2 a 10 mm. Essas imagens hipoecogênicas são contadas como folículos antrais nos dois ovários e, ao serem identificadas, são medidas em suas maiores dimensões (Figura 3). O diâmetro máximo longitudinal e o diâmetro perpendicular são mensurados. A média dessas duas medidas é considerada como o tamanho dos folículos. Os folículos menores ou iguais a 10 mm são contados. Os ovários direito e esquerdo são avaliados e em seguida realiza-se a somatória das duas contagens. O número total dos folículos antrais é utilizado para o laudo. Nessa padronização, as pacientes são examinadas na fase folicular precoce, do 2º ao 5º dia do ciclo menstrual (BROEKMANS et al., 2010; CASTRO et al., 2012).



Figura 3: Contagem dos folículos antrais realizada por ultrassonografia bidimensional (2D). Trata-se de uma paciente com baixa reserva ovariana. Este fato permite a documentação das medidas dos folículos.

Fonte: O Autor, 2014.

Somente com o aperfeiçoamento recente das imagens ultrassonográficas e o desenvolvimento de um software de automação chamado SonoAVC (Sono Automatic Volume Calculation or Count) foi possível a realização da contagem automática tridimensional dos folículos antrais (Figura 4). A medida do tamanho e do volume dos folículos é mais precisa quando avaliada com esta nova tecnologia (ATA et al., 2011).

O SonoAVC identifica e quantifica os folículos de um ovário dentro de um conjunto de dados em três dimensões. O programa fornece estimativa automática das dimensões absolutas, como diâmetro e volume dos folículos. Na tela do ultrassom percebe-se que para cada folículo é atribuída uma cor específica e suas dimensões são medidas automaticamente: o volume dos folículos (de acordo com o volume real de uma esfera) e os três diâmetros deles (x, y e z). Os valores dos volumes dos folículos são exibidos em ordem decrescente na tela. Um número ilimitado de folículos é rastreado e quantificado (RAINE-FENNING et al., 2008).

O folículo é uma estrutura tridimensional e seu volume é a medida mais precisa do seu tamanho. Com a utilização do diâmetro bidimensional como um substituto para o volume, os folículos são erroneamente assumidos como estruturas esféricas. Além disso, não houve ainda uma padronização universal para medir o diâmetro folicular no modo 2D (ATA et al., 2011).

Estudos recentes mostram que o SonoAVC com duplo processamento das imagens proporciona alto grau de confiabilidade ou reprodutibilidade para a contagem dos folículos antrais, sendo superior às técnicas bidimensionais (MENDES et al., 2014).

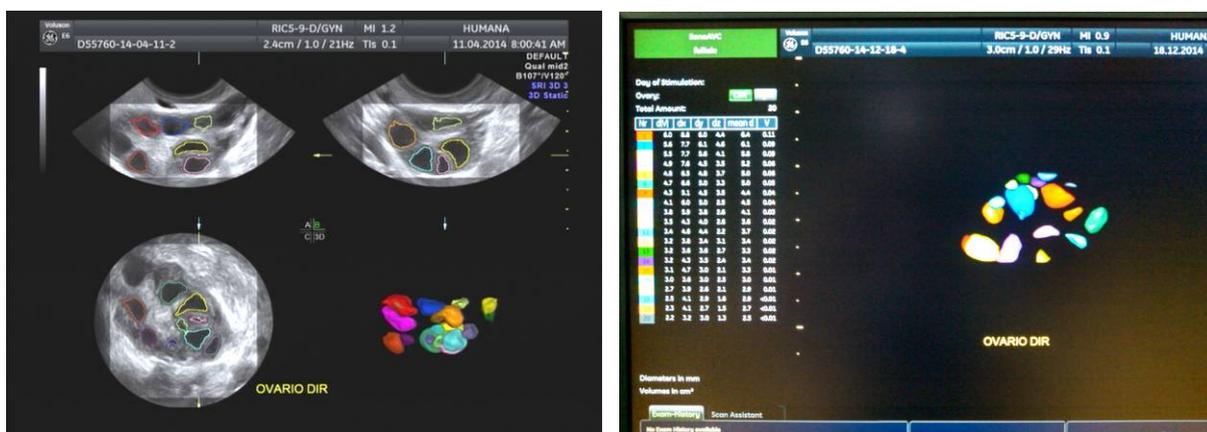


Figura 4: Contagem dos folículos antrais realizada por ultrassonografia tridimensional (USG 3D) com software de automação. A cada folículo está atribuída uma cor específica. Na tela da esquerda os valores dos volumes dos folículos exibidos em ordem decrescente. Fonte: O Autor, 2014.

Ainda não há consenso também sobre quais os folículos devem ser incluídos na CFA. Autores atuais propõem a contagem de folículos de 2 a 6 mm (HAADSMA et al., 2007) ou de 2 a 10 mm de diâmetro (BROEKMANS et al., 2010). Aparentemente a contagem dos folículos antrais menores poderia melhorar o valor preditivo da reserva ovariana (JAYAPRAKASAN et al., 2010).

A contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm é relativamente fácil (BROEKMANS et al., 2010), mas a mensuração manual bidimensional do diâmetro de cada um dos folículos antrais menores é muito trabalhosa. Além disso, existe uma variação conhecida da CFA tanto quando realizada por um mesmo examinador em momentos distintos (intraobservador) quanto quando realizada por examinadores diferentes em uma mesma paciente (interobservador). Esta variação é maior ainda quando os examinadores têm que avaliar o tamanho de cada folículo no momento em que estão realizando a contagem (MENDES et al., 2014).

A tecnologia da ultrassonografia tridimensional deverá ser incorporada na rotina de investigação da reserva ovariana, tanto na vertente da medicina reprodutiva quanto na do climatério. Desta forma a USG 3D avança na ciência da saúde da mulher com validação fortemente positiva.

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a variabilidade da contagem automática tridimensional (3D) dos folículos antrais durante o ciclo menstrual.

Objetivos Específicos

1. Avaliar a variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos antrais de dois a seis milímetros durante o ciclo menstrual.

2. Avaliar a variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos antrais de dois a dez milímetros durante o ciclo menstrual.

3. Considerando que este exame está padronizado para a fase folicular precoce, verificar se este teste pode ser aplicado durante as outras fases do ciclo ovariano.

4 MÉTODOS

Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo e observacional, realizado na Humana Medicina Reprodutiva. Esta clínica é especializada no diagnóstico e tratamento da infertilidade conjugal em todos os níveis de complexidade. Fica localizada em Goiânia que é capital do estado de Goiás. O trabalho foi realizado no período de 20 de abril de 2013 a 30 de outubro de 2014.

Critérios de Inclusão

Foram incluídas neste estudo todas as pacientes inférteis que fizeram monitorização da ovulação para avaliação do casal infértil, que estavam na faixa etária de 18 a 35 anos, tinham índice de massa corporal (IMC) entre 18 e 25 kg/m², ciclos menstruais regulares com um intervalo de 26 a 32 dias, sem história de cirurgia ovariana e sem alterações hormonais sugestivas de doença endócrina como alteração da dosagem do TSH, prolactina, insulina de jejum e glicemia de jejum.

Critérios de Exclusão

Foram excluídas deste estudo, as pacientes que apresentaram cistos ovarianos e as que não compareceram em um ou mais dias da monitorização da ovulação. Também foram excluídas as pacientes que não realizaram a monitorização no ultrassom tridimensional com o pesquisador.

Operacionalização e Coleta dos Dados

Os critérios de inclusão e exclusão foram verificados no momento da realização da monitorização da ovulação, quando foi obtido também o consentimento esclarecido e preenchido o banco de dados da pesquisa.

O primeiro dia do ciclo das pacientes foi contado a partir do primeiro dia da menstruação. As ultrassonografias foram realizadas durante a monitorização da ovulação. Antes de cada exame, a paciente esvaziava a bexiga e deitava na mesa ginecológica com as pernas apoiadas em perneiras para diminuir o desconforto e garantir a livre manipulação do transdutor transvaginal.

A contagem dos folículos foi realizada no início do ciclo menstrual (2º ao 5º dia), na fase folicular media (6º ao 10º dia), no período periovulatório (12º - 16º dia) e na fase lútea (20º ao 26º dia). A avaliação da fase periovulatória teve início no 12º dia do ciclo ovariano. O dia que foi percebido um folículo dominante maior que 16 milímetros foi considerado como o momento periovulatório. A avaliação da fase lútea foi realizada 7 dias após este momento.

As ultrassonografias foram realizadas por examinador experiente. Foi utilizado um ultrassom com modo avançado tridimensional, sistema de alta resolução e ferramenta de automação. As imagens foram captadas com transdutor transvaginal de 5-9 MHz.

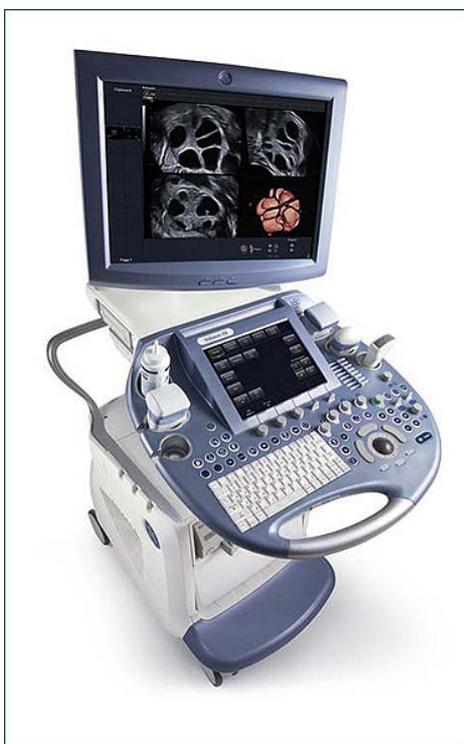


Figura 5: Ultrassom tridimensional com software de automação

A técnica ultrassonográfica empregada para a contagem e medição dos folículos ovarianos foi iniciada com o delineamento do ovário ainda no modo

bidimensional. Esta imagem inicial foi processada para gerar um volume tridimensional que englobou todo o ovário e excluiu as imagens extraovarianas. Uma vez que este conjunto de dados foi corretamente posicionado, o software de automação foi acionado. O modo de varredura lenta do ultrassom foi predefinido para percorrer um feixe com ângulo de 95°. Foi então digitado o botão [SonoAVC Follicles]. Neste momento, o sistema apresentou na tela do ultrassom uma imagem que permitiu nova adequação da região tridimensional para inclusão de todo o ovário. Após a digitação de [Right Ovary Start] para o ovário direito, foi exibida automaticamente, no canto superior da tela do ultrassom, uma lista com a descrição dos volumes e dimensões correspondentes às imagens hipoecogênicas que pertenciam ao ovário e às regiões adjacentes. O contorno de cada folículo aparecia desenhado por cores diferentes. Todos os folículos detectados foram listados de acordo com o tamanho e a cor de cada um deles.

Após o processamento inicial das imagens, explicitado acima, realizou-se um segundo processamento manual que consistiu na identificação e delimitação dos folículos que não foram contados e medidos automaticamente. Com o segundo processamento também foi possível a exclusão de áreas hipoecogênicas adjacentes ao ovário que a imagem ultrassonográfica indicava que não eram pertencentes a este órgão. Essa verificação posterior foi realizada para assegurar que todos os folículos tinham sido contados e medidos corretamente.

Para o ovário esquerdo foi realizado a mesma sequência. Porém, após a segunda seleção da região tridimensional de interesse realizava-se a digitação de [Left Ovary Start] e em seguida iniciava-se o segundo processamento.

O diâmetro médio de cada folículo dos dois ovários foi gravado e utilizado para análise posterior dos dados.

Cálculo da Amostra

Para o cálculo do tamanho da amostra deste estudo foi utilizado um nível de significância de 5,0%, poder de teste de 80% e margem de erro de 2,9. A amostra de 45 pacientes foi baseada nos resultados do trabalho de Deb et al. (2013).

Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (parecer 335.058 de 15/07/2013). Este trabalho está de acordo com as diretrizes éticas internacionais sobre pesquisas envolvendo seres humanos.

Análise dos Dados

O Statistical Package for Social Sciences (versão 17.0; SPSS, EUA) foi utilizado para a análise estatística. O teste de Friedman foi aplicado para avaliar se havia uma variação significativa da contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos nas quatro fases do ciclo menstrual analisadas. O Teste t-Student pareado foi utilizado para realizar a comparação entre duas fases do ciclo ovariano. Valores de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

5 RESULTADOS

Quarenta e cinco mulheres realizaram a monitorização da ovulação no período do estudo. A USG 3D com software de automação foi empregada em trezentos e sessenta ocasiões uma vez que dois ovários foram examinados em quatro fases do ciclo menstrual.

A média da idade das pacientes foi de 30,08 anos com desvio padrão de 3,88 e a média do IMC foi 22,65 com desvio padrão de 2,99 kg/m².

A média, o desvio padrão e o intervalo de confiança das contagens dos folículos ovarianos, que mediram de dois a seis milímetros, nas quatro fases do ciclo menstrual, são mostrados na tabela 1. Nos primeiros cálculos, verificou-se que a média das contagens da fase folicular precoce foi de 16,36; da fase folicular média de 16,47; da fase periovulatória de 16,33 e da fase lútea de 18,60. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens após aplicação do teste de Friedman ($p=0,001$) que avaliou conjuntamente a contagem dos folículos das quatro fases do ciclo ovariano (Gráfico 1).

Uma segunda análise realizou o pareamento das médias das contagens dos folículos de 2 a 6 mm nas quatro fases do ciclo. Constatou-se que a média das contagens da fase lútea foi diferente da média das contagens do período periovulatório. Diferença semelhante foi verificada quando a média das contagens da fase lútea foi comparada com a da fase folicular média. O teste t-Student pareado mostrou que estas diferenças foram estatisticamente significantes. Por outro lado, quando foi realizado o pareamento entre as outras demais fases do ciclo menstrual, não houve diferença estatística, ou seja, este teste não mostrou diferença entre as fases folicular precoce, média e periovulatória (Tabela 1).

Tabela 1 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média, desvio padrão e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a seis milímetros, Goiânia 2014.

Fase do Ciclo Menstrual	Média	Desvio Padrão	IC (95%)	
			Inferior	Superior
Folicular Precoce (2 ^o ao 5 ^o dia) ^A	16,36	10,72	13,13	19,58
Folicular Média (6 ^o ao 10 ^o dia) ^B	16,47	10,29	13,38	19,56
Periovulatória (12 ^o - 16 ^o dia) ^C	16,33	10,15	13,28	19,38
Lútea (20 ^o ao 26 ^o dia) ^{D; B; C}	18,60	11,53	15,14	22,06

Teste: Friedman; $p = 0,001$. As letras iguais indicam que há diferença significativa entre as médias das duas fases do ciclo menstrual pelo Teste t-Student pareado. Legenda: IC= Intervalo de Confiança.

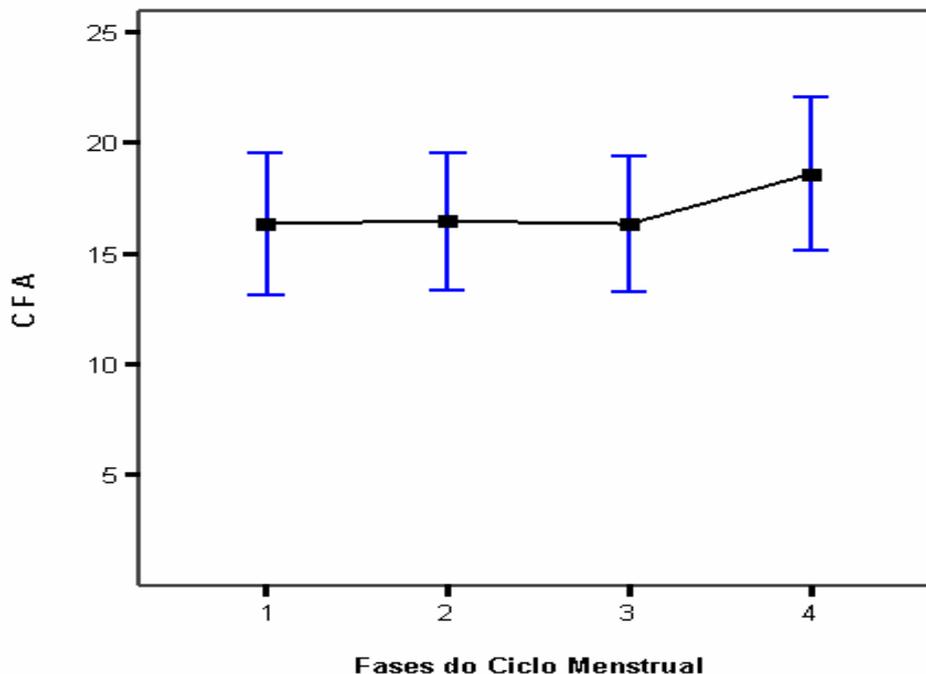


Gráfico 1 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a seis milímetros, Goiânia 2014. Teste de Friedman; $p=0,001$. Legenda: CFA = Contagem dos Folículos Antrais; (1) = Fase Folicular Precoce; (2) = Fase Folicular Média; (3) Período Periovulatório; (4) = Fase Lútea.

A média, o desvio padrão e o intervalo de confiança das contagens automáticas dos folículos, que mediram de dois a dez milímetros, nas quatro fases do ciclo ovariano, podem ser visualizados na tabela 2. Nesta terceira análise dos dados, foi verificada que a média das contagens da fase folicular precoce foi de 20,18; da fase folicular média foi de 22,00; da fase periovulatória foi de 21,71 e da fase lútea foi de 22,18. Foi possível perceber que houve diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens dos folículos, quando foram avaliadas conjuntamente as quatro fases do ciclo ovulatório pelo teste de Friedman ($p=0,003$) (Gráfico 2).

Por último foi realizado o pareamento das médias da contagem dos folículos de 2 a 10 mm nas quatro fases do ciclo ovulatório. Nesta análise foi possível perceber, pelo teste t-Student pareado, que a média das contagens da fase folicular precoce apresentou diferença estatisticamente significativa com este mesmo dado calculado na fase folicular média (Tabela 2).

Tabela 2 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média, desvio padrão e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a dez milímetros, Goiânia 2014.

Fase do Ciclo Menstrual	Média	Desvio Padrão	IC (95%)	
			Inferior	Superior
Folicular Precoce (2º ao 5º dia) ^A	20,18	11,55	16,71	23,65
Folicular Média (6º ao 10º dia) ^{B,A}	22,00	11,86	18,44	25,56
Periovulatória (12º - 16º dia) ^C	21,71	12,21	18,04	25,38
Lútea (20º ao 26º dia) ^D	22,18	12,76	18,34	26,01

Teste: Friedman; $p = 0,003$. As letras iguais indicam que há diferença significativa entre as médias das duas fases do ciclo menstrual pelo Teste t-Student pareado. Legenda: IC= Intervalo de Confiança.

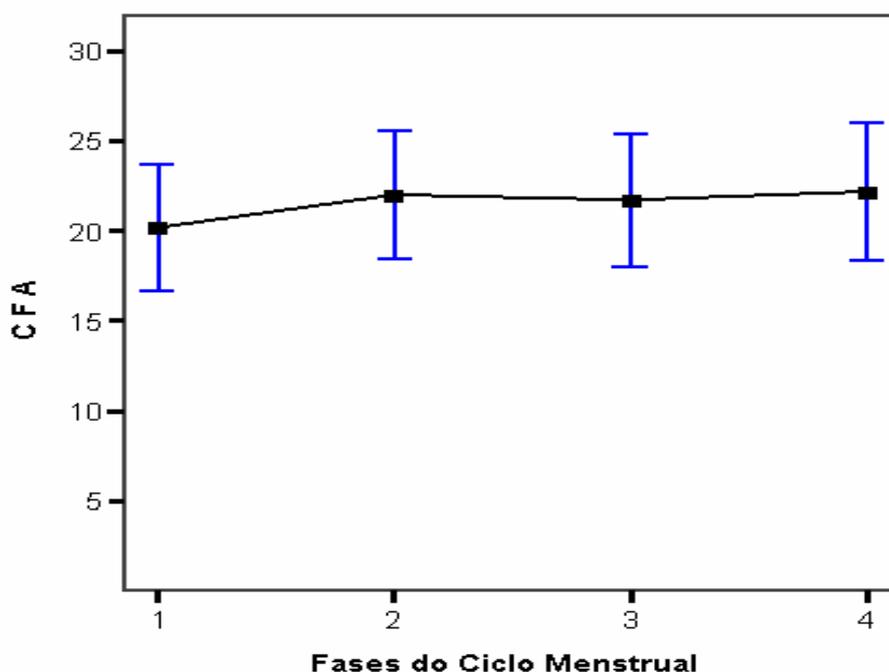


Gráfico 2 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a dez milímetros, Goiânia 2014. Teste de Friedman; $p=0,001$. Legenda: CFA = Contagem dos Folículos Antrais; (1) = Fase Folicular Precoce; (2) = Fase Folicular Média; (3) Período Periovulatório; (4) = Fase Lútea.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, todas as contagens foliculares foram feitas pelo mesmo observador para descartar a possibilidade da variação que pode acontecer nos laudos emitidos por observadores diferentes. Esta pesquisa não encontrou diferença na contagem automática tridimensional, dos folículos de 2 a 6 mm, realizada na fase folicular precoce, folicular média e periovulatória. Entretanto, houve aumento no número destes folículos quando os mesmos foram contados na fase lútea do ciclo. Houve variabilidade significativa da contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm nas diferentes fases do ciclo.

Foram encontrados, até o momento, poucos estudos sobre a variabilidade da CFA no ciclo menstrual (LINHARES et al., 2014). Desde o final da década passada, os autores já acreditavam que a maior variabilidade da contagem bidimensional dos folículos era decorrente de uma menor reprodutibilidade deste método (BROEKMANS et al., 2010). Achava-se que a diferença intraobservador e interobservador da CFA poderia aumentar a diferença que havia nas medições realizadas nas diferentes fases do ciclo, comprometendo a versatilidade deste exame (VAN DISSELDORP et al., 2010).

Em dezembro de 2007, especialistas em medicina reprodutiva se reuniram para realizar uma revisão sistemática sobre folículos antrais. O objetivo da reunião foi padronizar a medição e a contagem de folículos na prática clínica. Os autores desta padronização acreditavam que, durante a fase folicular precoce, os folículos antrais saudáveis mediam aproximadamente 4 a 6 mm de diâmetro. Acreditava-se que a contagem exclusiva desses folículos menores evitasse a inclusão de folículos atrésicos e a contagem superestimada de folículos antrais. Naquele momento, um estudo mostrava que a contagem de folículos antrais pequenos (2-6 mm) tinha forte correlação com a contagem de folículos antrais maiores (2-10 mm) (HAADSMA et al., 2007). Ainda em 2009, autores indicavam que pesquisas deveriam ser realizadas com a intenção de melhorar a reprodutibilidade da contagem dos folículos, deixando este exame menos dependente do examinador (Deb et al., 2009).

Em janeiro de 2010, um trabalho pioneiro analisou a variação da contagem dos folículos, no ciclo menstrual, usando o ultrassom no modo 2D. Os pesquisadores realizaram um estudo prospectivo com quarenta e quatro mulheres. Estes autores foram os primeiros que estratificaram a contagem dos folículos em tamanhos diferentes. O grupo achava que a diferença das contagens nas diversas fases do ciclo não era grandes mesmo usando o modo manual 2D do ultrassom. Consideraram que as flutuações das contagens, que ocorriam no ciclo, tinham pouca importância e que poderiam ser consideradas como achados fortuitos ou causadas por viés de mensuração. Segundo estes autores, a CFA de 2 a 5 mm mostrou maior variabilidade ao longo do ciclo ovulatório do que a CFA de 2 a 10 mm. Recomendaram então a contagem destes folículos maiores para a avaliação da reserva ovariana (VAN DISSELDORP et al., 2010).

Os resultados deste estudo, realizado em Goiânia, estão discordantes dos achados de van Disseldorp et al. (2010) já que mostrou menor variabilidade dos folículos pequenos em comparação com os folículos totais (2 a 10 mm). Quanto à contagem dos folículos pequenos, somente a média da fase lútea foi estatisticamente diferente das outras três fases do ciclo menstrual. A diferença fundamental entre os dois trabalhos é que nesta tese foi utilizado um ultrassom tridimensional automático para a contagem dos folículos. Já foi demonstrado que este novo método aumenta a reprodutibilidade da contagem dos folículos antrais (MENDES et al., 2014). Estudos também já mostraram que o modo 2D e outros métodos manuais podem superestimar o tamanho dos folículos (DEB et al., 2009; DEB et al., 2010).

Em 2010 foi publicada uma padronização da contagem dos folículos antrais no ultrassom 2D. Foi recomendada a contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm de diâmetro para evitar o processo moroso de medição de cada folículo. Acreditava-se que este seria um método mais prático para a avaliação da CFA na clínica. Preconizava-se também que a CFA deveria ser realizada na fase folicular precoce para minimizar a flutuação das medidas que poderia ocorrer durante o ciclo menstrual e reduzir a probabilidade de incluir incorretamente cistos ovarianos ou corpos lúteos coexistentes na CFA (BROEKMANS et al., 2010).

Uma grande questão, que ainda não foi respondida, é se a nova USG 3D com software de automação melhorou a versatilidade da contagem dos folículos antrais após o conhecido aumento da reprodutibilidade que este exame proporcionou. Outro

ponto que vem se tornando importante é que a necessidade da contagem de folículos antrais menores aumenta muito a dificuldade do exame no modo 2D, principalmente nas mulheres que apresentam maior reserva ovariana com grande quantidade de folículos.

O único estudo encontrado na literatura, que avaliou os folículos pelo ultrassom, utilizando a técnica automática 3D, foi o de DEB et al. em 2013. Foram incluídas trinta e quatro mulheres na pesquisa com média de idade de 28,12 anos. Os resultados sugeriram uma variação não significativa no número de folículos pequenos (2 a 6 mm) e uma excelente correlação entre as diferentes fases do ciclo menstrual. Os autores encontraram ainda que a contagem dos folículos de 2 a 10 mm variou significativamente ao longo do ciclo. Essa variação ocorreu predominantemente devido a uma alteração no número folículos maiores que 6 mm. Estes autores concluíram que a reserva ovariana avaliada pela contagem dos folículos pequenos mostrava menor variação no ciclo menstrual do que o volume ovariano, o FSH, o LH e o estradiol (DEB et al., 2013).

Os resultados do presente estudo, que também utilizou o SonoAVC, estão parcialmente de acordo com os resultados de Deb et al. (2013) já que os dados também mostraram que não há uma variação significativa no número de folículos de 2 a 6 mm nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória. Entretanto houve um aumento no número destes folículos quando os mesmos foram contados na fase lútea do ciclo. Concordando também com os resultados de Deb et al. (2013), foi constatada uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens dos folículos de 2 a 10 mm na avaliação das quatro fases do ciclo ovulatório. Poucos dados diferiram entre os dois estudos comparados neste parágrafo. No estudo de Deb et al. (2013), a amostra foi composta por mulheres voluntárias sadias enquanto que no presente estudo a amostra foi de pacientes inférteis. Este fato pode explicar a pequena diferença na média das idades entre os dois grupos mas não justificaria a pequena diferença encontrada nos resultados.

As diferenças dos resultados entre os trabalhos que utilizaram a USG 2D e os estudos que estão utilizando a USG 3D com automação está na melhor reprodutibilidade desta nova metodologia. A melhor confiabilidade do novo método já foi bem documentada por Mendes et al. em 2014. Assim observa-se que o aumento da reprodutibilidade da CFA, que ocorreu com o advento da contagem automática tridimensional, melhorou a versatilidade deste exame, ou seja, a contagem dos

folículos de 2 a 6 mm que só podia ser avaliada na fase folicular precoce agora pode ser realizada também na fase folicular média e periovulatória. Por outro lado, como não há padronização para a CFA de 2 a 6 mm, esse método ainda não deve ser usado para a classificação do perfil de resposta das pacientes.

Os estudos encontrados na literatura se baseiam na contagem dos folículos de 2 a 10 mm para estabelecer as doses de gonadotrofinas exógenas que devem ser aplicadas nos ciclos de fertilização in vitro (MENDES et al., 2014). Sugere-se então que a individualização das doses seja feita na fase folicular precoce com base na contagem automática dos folículos de 2 a 10 mm.

Tanto a associação de outros marcadores ultrassonográficos como o Doppler, a idade da paciente, o índice de massa corpórea e marcadores hormonais (BORGES et al., 2015) como a contagem dos folículos antrais devem ser aperfeiçoadas para a correta individualização da dose de gonadotrofinas exógenas que deve ser realizada nos ciclos de fertilização in vitro (figura 6).

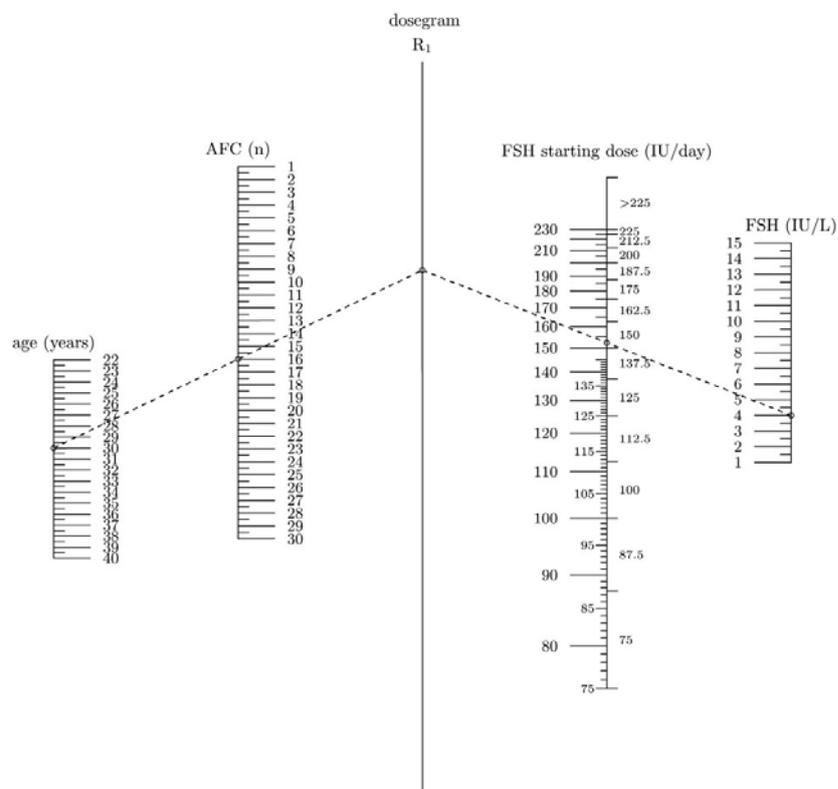


Figura 6: Nomograma para o cálculo da dose inicial de FSH exógeno com base na idade da paciente, na CFA e no FSH basal. No exemplo, para uma mulher com de 30 anos, CFA de 16 e FSH basal de 4 UI / l, a dose inicial de FSH exógeno seria de 152 UI / dia

Fonte: LA MARCA e SUNKARA, 2014.

7 CONCLUSÕES

A variação da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm, nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória, não mostrou significância estatística.

Houve uma variação significativa da contagem automática 3D dos folículos ovarianos de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual.

A variabilidade significativa da contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm durante o ciclo não permite que este exame seja realizado fora da fase folicular precoce.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Recomenda-se a realização de mais estudos de validação da contagem automática tridimensional de folículos antrais de 2 a 6 mm.

A maior reprodutibilidade da contagem automática 3D dos folículos antrais melhorou a versatilidade do exame realizado com folículos de 2 a 6 mm. Este fato poderá beneficiar as pacientes, as clínicas e a prática clínica dos médicos, aumentando a utilidade deste exame.

Acredita-se que uma avaliação prática dos folículos antrais pequenos através da contagem automática tridimensional seja uma contribuição importante para melhor avaliação da reserva ovariana das pacientes.

Recomenda-se a utilização da tecnologia tridimensional como metodologia de qualidade na investigação da reserva ovariana.

REFERÊNCIAS

Al-Azemi, M.; Killick, S.R.; Duffy, S.; Pye, C.; Refaat, B.; Hill, N.; et al. Multi-marker assessment of ovarian reserve predicts oocyte yield after ovulation induction. **Hum Reprod**, v. 26, n. 2, p. 414-422, Feb 2011.

Ata, B.; Seyhan, A.; Reinblatt, S.L.; Shalom-Paz, E.; Krishnamurthy, S.; Tan, S. L. Comparison of automated and manual follicle monitoring in an unrestricted population of 100 women undergoing controlled ovarian stimulation for IVF. **Hum Reprod**, v. 26, n. 1, p. 127-133, 2011.

Bentzen, J.G.; Forman, J.L.; Larsen, E.C.; Pinborg, A.; Johannsen, T.H.; Schmidt, L. Maternal menopause as a predictor of anti-Mullerian hormone level and antral follicle count in daughters during reproductive age. **Hum Reprod**, v. 28, n. 1, p. 247-255, 2013.

Borges, A.L.F.; Rezende, K.N.; Amaral, W.N.; Castro, E.C.; Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in *in vitro* fertilization cycles. **Reprod Clim** . v. in press, 2015.

Broekmans, F.J.; de Ziegler, D.; Howles, C.M.; 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.

Broekmans, F.J.; Faddy, M.J.; Scheffer, G.; te Velde, E.R. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. **Menopause**, v. 11, n. 6, p. 607-614, 2004.

Broekmans, F.J.; Kwee, J.; Hendriks, D.J.; Mol, B.W.; Lambalk, C.B. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. **Hum Reprod Update**, v. 12, n. 6, p. 685-718, 2006.

Broer, S.L.; Mol, B.W.; Hendriks, D.; Broekmans, F.J. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. **Fertil Steril**, v. 91, n. 3, p. 705-714, 2009.

Burger, H.G.; Dudley, E.C.; Robertson, D.M.; Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. **Recent Prog Horm Res**, v. 57, p. 257-275, 2002.

Busso, C.E.; Garcia-Velasco, J.; Gomez, R.; Alvarez, C.; Simon, C.; Pellicer, A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. Prevention of OHSS - dopamine agonists. **Reprod Biomed Online**, v. 19, n. 1, p. 43-51, Jul 2009.

Castro, Eduardo Camelo. Efeito da idade da mulher na dosagem sérica do FSH basal e na contagem dos folículos antrais ovarianos.71f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2011.

Castro, E.C.; Amaral, W.N. Avaliação da Reserva Ovariana. **Reprod Clim**, v. 24, p. 1-8, 2009.

Castro, E.C.; Florencio, R.S.; Monteiro Filho, G.; Amaral, W.N. Nomograma correlacionando a idade com a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 34, n. 4, p. 184-188, Apr 2012.

Castro, E.C.; Florêncio, R.S.; Monteiro Filho, G.; Amaral, W.N. Folículos antrais como marcadores da reserva ovariana. **Reprod Clim**, v. 26, n. 1, p. 7-11, 2011.

Deb, S.; Campbell, B.K.; Clewes, J.S.; Pincott-Allen, C.; Raine-Fenning, N.J. Intracycle variation in number of antral follicles stratified by size and in endocrine markers of ovarian reserve in women with normal ovulatory menstrual cycles. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 41, n. 2, p. 216-222, Feb 2013.

Deb, S.; Campbell, B.K.; Clewes, J.S.; Raine-Fenning, N.J. Quantitative analysis of antral follicle number and size: a comparison of two-dimensional and automated three-dimensional ultrasound techniques. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 35, n. 3, p. 354-360, Mar 2010.

Deb, S.; Jayaprakasan, K.; Campbell, B.K.; Clewes, J.S.; Johnson, I.R.; Raine-Fenning, N.J. Intraobserver and interobserver reliability of automated antral follicle counts made using three-dimensional ultrasound and SonoAVC. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 33, n. 4, p. 477-483, Apr 2009.

Ferraretti, A.P.; La Marca, A.; Fauser, B.C.; Tarlatzis, B.; Nargund, G.; Gianaroli, L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. **Hum Reprod**, v. 26, n. 7, p. 1616-1624, Jul 2011.

Haadsma, M.L.; Bukman, A.; Groen, H.; Roelffzen, E.M.; Groenewoud, E.R.; Heineman, M.J.; 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, Jul 2007.

Hadlow, N.; Longhurst, K.; McClements, A.; Natalwala, J.; Brown, S.J.; Matson, P.L. Variation in antimüllerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. **Fertil Steril**, v. 99, p. 1791-1797, Feb 2013.

Hale, G.E.; Burger, H.G. Hormonal changes and biomarkers in late reproductive age, menopausal transition and menopause. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, v. 23, n. 1, p. 7-23, Feb 2009.

Hansen, K.R.; Knowlton, N.S.; Thyer, A.C.; Charleston, J.S.; Soules, M.R.; Klein, N.A. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. **Hum Reprod**, v. 23, n. 3, p. 699-708, Mar 2008.

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

Jayaprakasan, K.; Deb, S.; Batcha, M.; Hopkisson, J.; Johnson, I.; Campbell, B.; et al. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Mullerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. **Fertil Steril**, v. 94, n. 5, p. 1775-1781, Oct 2010.

La Marca, A.; Giulini, S.; Tirelli, A.; Bertucci, E.; Marsella, T.; Xella, S.; et al. Anti-Mullerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. **Hum Reprod**, v. 22, n. 3, p. 766-771, Mar 2007.

La Marca, A.; Marzotti, S.; Brozzetti, A.; Stabile, G.; Arsenio, A.C.; Bini, V.; et al. Primary ovarian insufficiency due to steroidogenic cell autoimmunity is associated with a preserved pool of functioning follicles. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 10, p. 3816-3823, Oct 2009.

La Marca, A.; Sunkara, S.K. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. **Hum Reprod Update**, v. 20, n. 1, p. 124-140, Jan-Feb 2014.

Ledger, W.L. Measurement of antimullerian hormone: not as straightforward as it seems. **Fertil Steril**, v. 101, n. 2, p. 339, Feb 2014.

Linhares, A.D.; Chaves, F.S.; Amaral, W.N.; Castro, E.C. Revisão sistemática da variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual. **Reprod Clim**, v. 29, n. 1, p. 21-26, Ago 2014.

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, Nov 2006.

Mendes, A.I.G.; Silva, M.S.; Amaral, W.N.; Castro E.C. Confiabilidade da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional: uma revisão sistemática. **Reprod Clim**, v. 29, n. 2, p. 48-53, Ago 2014.

Monniaux, D.; Clement, F.; Dalbies-Tran, R.; Estienne, A.; Fabre, S.; Mansanet, C.; et al. The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? **Biol Reprod**, v. 90, n. 4, p. 85, Apr 2014.

Nardo, L.G.; Christodoulou, D.; Gould, D.; Roberts, S.A.; Fitzgerald, C.T.; Laing, I. Anti-Mullerian hormone levels and antral follicle count in women enrolled in in vitro fertilization cycles: relationship to lifestyle factors, chronological age and reproductive history. **Gynecol Endocrinol**, v. 23, n. 8, p. 486-493, 2007.

Nelson, S.M.; Yates, R.W.; Fleming, R. Serum anti-Mullerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles - implications for individualization of therapy. **Hum Reprod**, v. 22, n. 9, p. 2414-2421, Sep 2007.

Oliveira, J.B.; Baruffi, R.L.; Petersen, C.G.; Mauri, A.L.; Nascimento, A.M.; Vagnini, L.; et al. A new ovarian response prediction index (ORPI): implications for individualised controlled ovarian stimulation. **Reprod Biol Endocrinol**, v. 10, p. 94, 2012.

Raine-Fenning, N.; Jayaprakasan, K.; Clewes, J.; Joergner, I.; Bonaki, S.D.; Chamberlain, S.; et al. SonoAVC: a novel method of automatic volume calculation. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 31, n. 6, p. 691-696, Jun 2008.

Rosen, M.P.; Johnstone, E.; Addauan-Andersen, C.; Cedars, M.I. A lower antral follicle count is associated with infertility. **Fertil Steril**, v. 95, n. 6, p. 1950-1954, May 2011.

Rosen, M. P., Sternfeld, B., Schuh-Huerta, S. M., Reijo Pera, R. A., McCulloch, C. E., Cedars, M. I. Antral follicle count: absence of significant midlife decline. **Fertil Steril**, v. 94, n. 6, p. 2182-2185, Nov 2010.

Silveira, C.F.; Coutinho, L.M.A.; Amaral, W.N.; Castro, E.C. A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização in vitro: uma revisão sistemática. **Reprod Clim**, v. 28, n. 2, p. 68-73, Out 2013.

Su, H.I.; Sammel, M.D.; Freeman, E.W.; Lin, H.; DeBlasis, T.; Gracia, C.R. Body size affects measures of ovarian reserve in late reproductive age women. **Menopause**, v. 15, n. 5, p. 857-861, Sep-Oct 2008.

Sukur, Y.E.; Kivancli, I.B.; Ozmen, B. Ovarian aging and premature ovarian failure. **J Turk Ger Gynecol Assoc**, v. 15, n. 3, p. 190-196, 2014.

Tognotti, E.; Cavagna, M.; Dzik, A.; Pereira, D.H.M.; Albuquerque, L.E.T.; Diniz, L.E.V. Más-Respondedoras. In **2º Consenso Brasileiro de Indução da Ovulação**, p. 61-68, 2008.

Tummon, I.; Gavrilova-Jordan, L.; Allemand, M.C.; Session, D. Polycystic ovaries and ovarian hyperstimulation syndrome: a systematic review*. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 84, n. 7, p. 611-616, Jul 2005.

Van Disseldorp, J.; Faddy, M.J.; Themmen, A.P.; de Jong, F.H.; Peeters, P.H.; van der Schouw et al. Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 6, p. 2129-2134, Jun 2008.

Van Disseldorp, J.; Lambalk, C.B.; Kwee, J.; Looman, C.W.; Eijkemans, M.J.; Fauser, B.C.; et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. **Hum Reprod**, v. 25, n. 1, p. 221-227, Jan 2010.

Visser, J.A. ovarian function. **Reproduction**, v. 131, n. 1, p. 1-9, Jan 2006.

Weenen, C.; Laven, J.S.; Von Bergh, A.R.; Cranfield, M.; Groome, N.P.; Visser, J.A.; et al. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. **Mol Hum Reprod**, v. 10, n. 2, p. 77-83, Feb 2004.

Wellons, M.F.; Bates, G.W.; Schreiner, P.J.; Siscovick, D.S.; Sternfeld, B.; Lewis, C.E. Antral follicle count predicts natural menopause in a population-based sample: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Women's Study. **Menopause**, v. 20, n. 8, p. 825-830, Aug 2013.

Wunder, D.M.; Bersinger, N.A.; Yared, M; Kretschmer, R.; Birkhauser, M.H. Statistically significant changes of antimullerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. **Fertil Steril**, v. 89, n. 4, p. 927-933, Apr 2008.

APÊNDICES

ARTIGO 1

Variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos durante o ciclo menstrual

Submetido para a Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia

**VARIABILIDADE DA CONTAGEM AUTOMÁTICA TRIDIMENSIONAL DOS
FOLÍCULOS OVARIANOS DURANTE O CICLO MENSTRUAL**

VARIABILITY OF THREE-DIMENSIONAL AUTOMATIC OVARIAN FOLLICLE
COUNT IN MENSTRUAL CYCLE

Autores:

Eduardo Camelo de Castro¹; Gercino Monteiro Filho², Waldemar Naves do Amaral³

1. Eduardo Camelo de Castro: Professor Efetivo do Curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Diretor Associado da Humana Medicina Reprodutiva.

2. Gercino Monteiro Filho: Professor Adjunto de Estatística da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás.

3. Waldemar Naves do Amaral: Professor Adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás.

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS – UFG

*Endereço para correspondência:

Rua 1.129, nº 751, Setor Marista - CEP:74175-140

Goiânia-GO

Telefone: 62-3281-1101 / 3093-8073

e-mail: dr.eduardodecastro@gmail.com

RESUMO

OBJETIVOS: Avaliar a variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm e de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual. Considerando que este exame está padronizado para a fase folicular precoce, verificar se este teste pode ser aplicado durante as outras fases do ciclo ovariano. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo observacional. Foram incluídas todas as pacientes inférteis que fizeram monitorização da ovulação de 20/04/2013 a 30/10/2014, com 18 a 35 anos, índice de massa corporal de 18 a 25 kg/m², ciclos menstruais regulares, sem história de cirurgia ovariana e sem alterações nas dosagens do TSH, prolactina, insulina e glicemia. Foram excluídas as pacientes que apresentaram cistos ovarianos e as que faltaram algum dia da monitorização. A contagem dos folículos antrais (CFA) foi feita pelo modo 3D com software de automação na fase folicular precoce, folicular média, periovulatória e lútea do ciclo. **RESULTADOS:** Quarenta e cinco mulheres foram incluídas. Houve diferença entre as médias das contagens dos folículos que mediram de 2 a 6 mm ($p=0,001$) e 2 a 10 mm ($p=0,003$) pelo teste de Friedman que avaliou conjuntamente a CFA das quatro fases do ciclo. Quando se aplicou o teste t-Student pareado, houve um aumento significativo na CFA de 2 a 6 mm quando se comparou a contagem desses folículos na fase folicular média e periovulatória com a contagem da fase lútea. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a contagem destes folículos pequenos nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória. Houve um aumento significativo na CFA de 2 a 10 mm da fase folicular precoce para a fase folicular média quando se aplicou o teste t-Student pareado. **CONCLUSÕES:** A variação da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm, nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória, não mostrou significância estatística. Houve uma variação significativa da contagem automática 3D dos folículos ovarianos de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual. A variabilidade significativa da contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm durante o ciclo não permite que este exame seja realizado fora da fase folicular precoce.

Palavras-chave: Ultrassonografia, Folículo Ovariano, Reserva Ovariana, Infertilidade.

ABSTRACT

OBJECTIVES: To evaluate variability of three-dimensional automatic follicles count of 2 to 6 mm and 2 to 10 mm during menstrual cycle. Considering that this exam standard to early follicular phase, check if this test can be applied during other phases of the ovarian cycle.

METHODS: Prospective observational study. Serial transvaginal ultrasound scans were performed from 04/20/2013 to 10/30/2014 for infertile patients. Inclusion criteria included age between 18 and 35 years, body mass index 18-25 kg / m², regular menstrual cycles, no history of ovarian surgery and no hormonal changes to TSH, prolactin, fasting insulin and fasting glucose. Exclusion criteria were ovarian cysts, missed one or more days of serial transvaginal ultrasound scans and did not undergo scanning in three-dimensional ultrasound (3D) by a single investigator. The antral follicle count was taken by 3D mode with automation software. Visits were scheduled for early follicular (2 to 5 days), mid-follicular (days 6 - 10), periovulatory (days 12 - 16) and luteal (days 20 - 26) phases of the menstrual cycle. **RESULTS:** Forty-five women were included. Friedman test showed that the total number of antral follicles measuring 2-6 mm varied significantly ($P=0.001$) across the menstrual cycle. Paired Student's t-test showed a significant increase in follicles count 2-6 mm from the mid-follicular and periovulatory phase to the luteal phase. We found no significant intracycle variation in the small antral follicles (2-6 mm) from early follicular to mid-follicular and periovulatory phases. Friedman test showed that the total number of antral follicles measuring 2-10 mm varied significantly ($P=0.003$) across the menstrual cycle. Paired Student's t-test showed a significant increase in count from the early follicular to the mid-follicular phase. **CONCLUSIONS:** The variation of three-dimensional automatic follicles counting 2-6 mm in the early follicular, mid-follicular and periovulatory phases was not statistically significant. There was a significant variation in the 3D automatic ovarian follicles counting 2-10 mm during menstrual cycle. The significant variability of antral follicles counting 2-10 mm across the menstrual cycle does not allow this examination carried out of early follicular phase.

Keywords: Ultrasonography, Ovarian Follicle, Ovarian Reserve, Infertility.

VARIABILIDADE DA CONTAGEM AUTOMÁTICA TRIDIMENSIONAL DOS FOLÍCULOS ANTRAIS DURANTE O CICLO MENSTRUAL

VARIABILITY OF THREE-DIMENSIONAL AUTOMATIC OVARIAN FOLLICLE COUNT IN MENSTRUAL CYCLE

INTRODUÇÃO:

O desejo pela maternidade vem sendo postergado para fases da vida mais tardias (1). Um fato que não pode ser desconsiderado é que a parada da função ovariana ocorre antes dos outros órgãos durante o processo de envelhecimento. Este fato causa infertilidade e menopausa na mulher (2, 3). A reserva ovariana é o potencial funcional dos ovários representado pela quantidade e qualidade dos oócitos contidos nessas gônadas (4). A idade não prediz de forma confiável esta reserva. Por isso alguns exames que avaliam essa função têm sido estudados.

Um bom teste da reserva ovariana deve ser preditivo de concepção, mostrar a chance que uma mulher tem de ter um recém-nascido vivo, indicar a dose ideal de estimulação ovariana nos tratamentos para infertilidade, indicar a duração provável da atividade dos ovários (4), ter boa reprodutibilidade e versatilidade (5).

Ainda não há um exame ou marcador ideal da reserva ovariana que conseguiu prever a possibilidade de gravidez de forma confiável, mas uma baixa contagem dos folículos antrais (CFA) pode ser usada na prática diária para o aconselhamento de casais quanto à menor probabilidade que eles têm de alcançar a gravidez (6). Ainda não há consenso sobre quais os folículos devem ser incluídos na CFA. Os autores estão propondo atualmente a contagem de folículos de 2 a 6 mm (7) mas a padronização de 2010 considera

que deve-se contar os folículos de 2 a 10 mm de diâmetro para o laudo da CFA (8). De acordo com pesquisas recentes, a contagem dos folículos antrais menores poderia melhorar o valor preditivo da CFA (9).

A combinação dos principais testes existentes ainda é a melhor conduta para o aconselhamento e triagem de pacientes inférteis. A CFA associada ao FSH basal parece ser a abordagem de menor custo na avaliação do casal infértil, mas a CFA associada aos níveis séricos do hormônio anti-Mülleriano (HAM) tem aparentemente maior poder preditivo nos tratamentos com reprodução assistida (1, 10, 11). As dosagens do HAM ainda são relativamente dispendiosas e há uma variação entre os testes laboratoriais (12, 13).

Os trabalhos atuais sobre reserva ovariana mostram a tendência de se aplicar doses individualizadas de gonadotrofinas exógenas nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). Estudos sugerem que a CFA apresenta bom desempenho na individualização das doses para prevenção de respostas inapropriadas. Com isso, essas pesquisas também estão avaliando o potencial da CFA para prevenir a síndrome do hiperestímulo ovariano (6, 14).

Estudos mostram que o risco da instalação da menopausa nas mulheres com 34 a 49 anos foi quase duas vezes maior quando as pacientes apresentavam uma CFA menor ou igual a 4 (2). Portanto, a identificação de uma jovem, com baixa contagem de folículos antrais, deve acender um sinal de alerta para a fertilidade futura de uma mulher (15, 16).

Há algum tempo, os estudos vêm demonstrando que a CFA está relacionada com a ocorrência da menopausa e do último filho. Portanto a CFA pode ser considerada como um reflexo do estado reprodutivo (17).

Outro estudo indica que a idade da menopausa da mãe está relacionada com a taxa de declínio dos marcadores da reserva ovariana das filhas. Foi encontrado um declínio mais pronunciado por ano na CFA para as filhas de mães com menopausa abaixo dos 46 anos em comparação com as filhas de mães que tiveram a menopausa acima dos 54 anos (16). Uma

queda abrupta da contagem folicular, ou seja, a mudança para percentis inferiores, de uma mesma paciente, em duas contagens realizadas em dois momentos distintos e distantes, pode ter significado clínico principalmente quando há suspeita ou história familiar de falência ovariana prematura (15).

A primeira padronização da contagem dos folículos antrais foi publicada em 2010. Essas diretrizes influenciaram a prática e os estudos desenvolvidos posteriormente. A padronização preconizava a contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm que é relativamente fácil (8). Os autores reconheciam que a mensuração manual do diâmetro de cada um dos folículos antrais menores no modo 2D era muito trabalhosa. Além disso, já era conhecida uma variação da CFA tanto quando realizada por um mesmo examinador em momentos distintos (intraobservador) como quando realizada por examinadores diferentes em uma mesma paciente (interobservador). Esta variação era maior ainda quando os examinadores tinham que avaliar o tamanho de cada folículo no momento em que estavam realizando a contagem (18).

Somente com o aperfeiçoamento recente das imagens ultrassonográficas e o desenvolvimento do software chamado SonoAVC (Sono Automatic Volume Calculation or Count) foi possível a realização da contagem automática tridimensional dos folículos antrais. A medida do tamanho e do volume dos folículos é mais precisa quando avaliada por um ultrassom tridimensional (19). Estudos recentes mostram que o sonoAVC com duplo processamento das imagens proporciona alto grau de reprodutibilidade para a contagem dos folículos antrais, sendo superior às técnicas bidimensionais (18).

A maioria dos estudos sobre a confiabilidade e a validade dos vários testes da reserva ovariana é baseada em exames realizados durante a fase folicular precoce do ciclo menstrual. Esta janela de oportunidade relativamente pequena é restritiva tanto para os pacientes quanto para as clínicas que executam os testes (20).

Vários grupos têm sugerido uma boa estabilidade dos níveis do HAM ao longo do ciclo menstrual (21, 22), enquanto outros têm mostrado a presença de uma variação significativa do HAM no ciclo (23, 24).

Ainda não há consenso sobre a variabilidade da CFA ao longo do ciclo ovariano. Dessa forma, mais estudos são necessários para esclarecer se a CFA deve ser feita apenas na fase folicular precoce ou se pode ser feita em qualquer fase do ciclo menstrual. Novos aparelhos, softwares, métodos e técnicas de ultrassom que têm utilizado o modo tridimensional aumentaram a reprodutibilidade da CFA (25).

O objetivo deste estudo foi avaliar a variabilidade da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm e de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual. Considerando que este exame está padronizado para a fase folicular precoce, verificar se este teste pode ser aplicado durante as outras fases do ciclo ovariano.

METODOLOGIA:

Foi realizado um estudo prospectivo observacional no período de 20 de abril de 2013 a 30 de outubro de 2014, em uma clínica de Reprodução Assistida, a Humana Medicina Reprodutiva. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

Foram incluídas neste estudo, todas as pacientes que fizeram monitorização da ovulação para avaliação do casal infértil, que estavam na faixa etária de 18 a 35 anos, tinham índice de massa corporal (IMC) entre 18 e 25 kg/m², ciclos menstruais regulares com um intervalo de 26 a 32 dias, sem história de cirurgia ovariana e sem alterações hormonais sugestivas de doença endócrina como alteração da dosagem do TSH, prolactina, insulina de jejum e glicemia de jejum.

Foram excluídas deste estudo, as pacientes que apresentaram cistos ovarianos e as que não compareceram em um ou mais dias da monitorização da ovulação. Também foram excluídas as pacientes que não realizaram a monitorização no ultrassom tridimensional com o pesquisador.

O primeiro dia do ciclo das pacientes foi contado a partir do primeiro dia da menstruação. A contagem dos folículos foi realizada no início do ciclo menstrual (2º ao 5º dia), na fase folicular media (6º ao 10º dia), no período periovulatório (12º - 16º dia) e na fase lútea (20º ao 26º dia). A avaliação da fase periovulatória teve início no 12º dia do ciclo ovariano. O dia que foi percebido um folículo dominante maior que 16 milímetros foi considerado como o momento periovulatório. A avaliação da fase lútea foi realizada 7 dias após este momento.

As ultrassonografias foram realizadas por examinador experiente. Foi utilizado um ultrassom Voluson® E6 no modo tridimensional, sistema de alta resolução e ferramenta de automação (SonoAVC). As imagens foram captadas com transdutor transvaginal de 5-9 MHz.

A técnica ultrassonográfica empregada para a contagem e medição dos folículos ovarianos foi iniciada com o delineamento do ovário ainda no modo bidimensional. Esta imagem inicial foi processada para gerar um volume tridimensional que englobou todo o ovário e excluiu as imagens extraovarianas. Uma vez que este conjunto de dados foi corretamente posicionado, o software de automação foi acionado. O modo de varredura lenta do ultrassom foi predefinido para percorrer um feixe com ângulo de 95°. Foi então digitado o botão [SonoAVC Follicles]. Neste momento, o sistema apresentou na tela do ultrassom uma imagem que permitiu nova adequação da região tridimensional para inclusão de todo o ovário. Após a digitação de [Right Ovary Start] para o ovário direito, foi exibida automaticamente, no canto superior da tela do ultrassom, uma lista com a descrição dos volumes e dimensões correspondentes às imagens hipocogênicas que pertenciam ao ovário e às regiões adjacentes.

O contorno de cada folículo aparecia desenhado por cores diferentes. Todos os folículos detectados foram listados de acordo com o tamanho e a cor de cada um deles.

Após o processamento inicial das imagens, explicitado acima, realizou-se um segundo processamento manual que consistiu na identificação e delimitação dos folículos que não foram contados e medidos automaticamente. Com o segundo processamento também foi possível a exclusão de áreas hipocogênicas adjacentes ao ovário que a imagem ultrassonográfica indicava que não eram pertencentes a este órgão. Essa verificação posterior foi realizada para assegurar que todos os folículos tinham sido contados e medidos corretamente.

Para o ovário esquerdo foi realizado a mesma sequência. Porém, após a segunda seleção da região tridimensional de interesse, realizava-se a digitação de [Left Ovary Start] e em seguida iniciava-se o segundo processamento.

O diâmetro médio de cada folículo dos dois ovários foi gravado e utilizado para análise posterior dos dados.

O Statistical Package for Social Sciences (versão 17.0; SPSS, EUA) foi utilizado para a análise estatística. O teste de Friedman foi aplicado para avaliar se havia uma variação significativa da contagem automática dos folículos antrais ovarianos nas quatro fases do ciclo menstrual analisadas. O Teste t-Student pareado foi utilizado para realizar a comparação entre duas fases do ciclo.

RESULTADOS:

Quarenta e cinco mulheres realizaram a monitorização da ovulação no período do estudo. A USG 3D com software de automação foi empregada em trezentos e sessenta ocasiões uma vez que dois ovários foram examinados em quatro fases do ciclo menstrual.

A média da idade das pacientes foi de 30,08 anos com desvio padrão de 3,88 e a média do IMC foi 22,65 com desvio padrão de 2,99 kg/m².

A média, o desvio padrão e o intervalo de confiança das contagens dos folículos ovarianos, que mediram de dois a seis milímetros, nas quatro fases do ciclo menstrual, são mostrados na tabela 1. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens após aplicação do teste de Friedman ($p=0,001$) que avaliou conjuntamente a contagem dos folículos das quatro fases do ciclo ovariano (Gráfico 1).

Uma segunda análise realizou o pareamento das médias das contagens dos folículos de 2 a 6 mm nas quatro fases do ciclo. Constatou-se que a média das contagens da fase lútea foi diferente da média das contagens do período periovulatório. Diferença semelhante foi verificada quando a média das contagens da fase lútea foi comparada com a da fase folicular média. O teste t-Student pareado mostrou que estas diferenças foram estatisticamente significantes. Por outro lado, quando foi realizado o pareamento entre as outras demais fases do ciclo menstrual, não houve diferença estatística, ou seja, este teste não mostrou diferença entre as fases folicular precoce, média e periovulatória (Tabela 1).

A média, o desvio padrão e o intervalo de confiança das contagens automáticas dos folículos, que mediram de 2 a 10 mm, nas quatro fases do ciclo ovariano, podem ser visualizados na tabela 2. Nesta terceira análise dos dados foi possível perceber que houve diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens dos folículos, quando foram avaliadas conjuntamente as quatro fases do ciclo ovulatório pelo teste de Friedman ($p=0,003$) (Gráfico 2).

Por último, foi realizado o pareamento das médias da contagem dos folículos de 2 a 10 mm nas quatro fases do ciclo ovulatório. Nesta análise foi possível perceber, pelo teste t-Student pareado, que a média das contagens da fase folicular precoce apresentou diferença estatisticamente significativa com este mesmo dado calculado na fase folicular média (Tabela 2).

DISCUSSÃO:

Neste estudo, todas as contagens foliculares foram feitas por um examinador único e experiente para descartar a possibilidade da variação que pode acontecer nos laudos emitidos por observadores diferentes. Esta pesquisa não encontrou diferença na contagem automática tridimensional, dos folículos de 2 a 6 mm, realizada na fase folicular precoce, folicular média e periovulatória. Entretanto, houve aumento no número destes folículos quando os mesmos foram contados na fase lútea do ciclo. Houve variabilidade significativa da contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm nas diferentes fases do ciclo.

Foram encontrados, até o momento, poucos estudos sobre a variabilidade da CFA no ciclo menstrual (25). Desde o final da década passada, os autores já acreditavam que a maior variabilidade da contagem bidimensional dos folículos era decorrente de uma menor reprodutibilidade ou confiabilidade deste método (8).

Achava-se que a diferença intraobservador e interobservador da CFA poderia aumentar a diferença que havia nas medições realizadas nas diferentes fases do ciclo, comprometendo a versatilidade deste exame (22).

Em dezembro de 2007, especialistas em medicina reprodutiva se reuniram para realizar uma revisão sistemática sobre folículos antrais. O objetivo da reunião foi padronizar a medição e a contagem de folículos na prática clínica. Os autores desta padronização acreditavam que, durante a fase folicular precoce, os folículos antrais saudáveis mediam aproximadamente 4 a 6 mm de diâmetro. Acreditava-se que a contagem exclusiva desses folículos menores evitasse a inclusão de folículos atrésicos e a contagem superestimada de folículos antrais. Naquele momento, um estudo mostrava que a contagem de folículos antrais pequenos (2-6 mm) tinha forte correlação com a contagem de folículos antrais maiores (2-10 mm) (7). Ainda em 2009, autores indicavam que pesquisas deveriam ser realizadas com a

intenção de melhorar a reprodutibilidade da contagem dos folículos deixando este exame menos dependente do examinador (26).

Em janeiro de 2010, um trabalho pioneiro analisou a variação da contagem dos folículos no ciclo menstrual, usando o ultrassom no modo 2D. Os pesquisadores realizaram um estudo prospectivo com quarenta e quatro mulheres. Estes autores foram os primeiros que estratificaram a contagem dos folículos em tamanhos diferentes. O grupo achava que a diferença das contagens nas diversas fases do ciclo não eram grandes mesmo usando o modo manual 2D do ultrassom. Consideraram que as flutuações das contagens, que ocorriam no ciclo, tinham pouca importância e que poderiam ser consideradas como achados fortuitos ou causadas por viés de mensuração. Segundo estes autores, a CFA de 2 a 5 mm mostrou maior variabilidade ao longo do ciclo ovulatório do que a CFA de 2 a 10 mm. Recomendaram então a contagem destes folículos maiores para a avaliação da reserva ovariana (22).

Os resultados do presente estudo estão discordantes dos achados de van Disseldorp et al. (2010) já que mostrou menor variabilidade dos folículos pequenos em comparação com os folículos totais (2 a 10 mm). Quanto à contagem dos folículos pequenos, somente a média da fase lútea foi estatisticamente diferente das outras três fases do ciclo menstrual. A diferença fundamental entre os dois trabalhos é que nesta tese foi utilizado um ultrassom tridimensional automático para a contagem dos folículos. Já foi demonstrado que este novo método aumenta a reprodutibilidade da contagem dos folículos antrais (18). Estudos também já mostraram que o modo 2D e outros métodos manuais podem superestimar o tamanho dos folículos (26, 27).

Em agosto de 2010 foi publicada uma padronização da contagem dos folículos antrais no ultrassom 2D. Foi recomendada a contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm de diâmetro para evitar o processo moroso de medição de cada folículo. Acreditava-se que este seria um método mais prático para a avaliação da CFA na clínica. Preconizava-se também que a CFA deveria ser realizada na fase folicular precoce para minimizar a flutuação das medidas

que poderia ocorrer durante o ciclo menstrual e reduzir a probabilidade de incluir incorretamente cistos ovarianos ou corpos lúteos coexistentes na CFA (8).

Uma grande questão, que ainda não foi respondida, é se a nova USG 3D com software de automação melhorou a versatilidade da contagem dos folículos antrais após o conhecido aumento da confiabilidade ou reprodutibilidade que este exame proporcionou. Outro ponto que vem se tornando importante é que a necessidade da contagem de folículos antrais menores aumenta muito a dificuldade do exame no modo 2D, principalmente nas mulheres que apresentam maior reserva ovariana com grande quantidade de folículos.

O único estudo encontrado na literatura, que avaliou os folículos pelo ultrassom, utilizando a técnica automática 3D, foi o de DEB et al. em 2013. Foram incluídas trinta e quatro mulheres na pesquisa. Os resultados sugeriram uma variação não significativa no número de folículos pequenos (2 a 6 mm) e uma excelente correlação entre as diferentes fases do ciclo menstrual. Os autores encontraram ainda que a contagem dos folículos de 2 a 10 mm variou significativamente ao longo do ciclo. Os resultados mostraram que essa variação havia ocorrido predominantemente devido a uma alteração no número folículos maiores que 6 mm. Estes autores concluíram que a reserva ovariana avaliada pela contagem dos folículos pequenos mostrava menor variação no ciclo menstrual do que o volume ovariano, o FSH, o LH e o estradiol (20).

Os resultados do presente estudo, que também utilizou o SonoAVC, estão parcialmente de acordo com os resultados de Deb et al. (2013) já que os dados também mostraram que não há uma variação significativa no número de folículos de 2 a 6 mm nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória. Entretanto houve um aumento no número destes folículos quando os mesmos foram contados na fase lútea do ciclo. Concordando também com os resultados de Deb et al. (2013), foi constatada uma diferença estatisticamente significante entre as médias das contagens dos folículos de 2 a 10 mm na avaliação das quatro fases do ciclo ovulatório.

As diferenças dos resultados entre os trabalhos que utilizaram a USG 2D e os estudos que estão utilizando a USG 3D com automação está na melhor reprodutibilidade desta nova metodologia. A melhor confiabilidade do novo método já foi bem documentada por Mendes et al. em 2014. Assim observa-se que o aumento da reprodutibilidade da CFA, que ocorreu com o advento da contagem automática tridimensional, melhorou a versatilidade deste exame, ou seja, a contagem dos folículos de 2 a 6 mm que só podia ser avaliada na fase folicular precoce agora pode ser realizada também na fase folicular média e periovulatória. Por outro lado, como não há padronização para a CFA de 2 a 6 mm, esse método ainda não deve ser usado para a classificação do perfil de resposta das pacientes.

Os estudos encontrados na literatura se baseiam na contagem dos folículos de 2 a 10 mm para estabelecer as doses de gonadotrofinas exógenas que devem ser aplicadas nos ciclos de fertilização in vitro (18). Sugere-se então que a individualização das doses seja feita na fase folicular precoce com base na contagem automática dos folículos de 2 a 10 mm.

Tanto a associação de outros marcadores ultrassonográficos como o Doppler, a idade da paciente, o índice de massa corpórea e marcadores hormonais (14) como a contagem dos folículos antrais devem ser aperfeiçoadas para a correta individualização da dose de gonadotrofinas exógenas que deve ser realizada nos ciclos de fertilização in vitro.

CONCLUSÃO:

A variação da contagem automática tridimensional dos folículos de 2 a 6 mm, nas fases folicular precoce, folicular média e periovulatória, não mostrou significância estatística.

Houve uma variação significativa da contagem automática 3D dos folículos ovarianos de 2 a 10 mm durante o ciclo menstrual.

A variabilidade significativa da contagem dos folículos antrais de 2 a 10 mm durante o ciclo não permite que este exame seja realizado fora da fase folicular precoce.

REFERÊNCIAS:

1. Castro EC, Amaral WN. Avaliação da Reserva Ovariana. *Reprod Clim.* 2009;24:1-8.
2. Wellons MF, Bates GW, Schreiner PJ, Siscovick DS, Sternfeld B, Lewis CE. Antral follicle count predicts natural menopause in a population-based sample: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Women's Study. *Menopause.* 2013 Aug;20(8):825-30.
3. Sukur YE, Kivancli IB, Ozmen B. Ovarian aging and premature ovarian failure. *Journal of the Turkish German Gynecological Association.* 2014;15(3):190-6.
4. Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve--should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod.* 2006 Nov;21(11):2729-35.
5. Al-Azemi M, Killick SR, Duffy S, Pye C, Refaat B, Hill N, et al. Multi-marker assessment of ovarian reserve predicts oocyte yield after ovulation induction. *Hum Reprod.* 2011 Feb;26(2):414-22.
6. Silveira CF, Coutinho LMA, Amaral WN, Castro EC. A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização in vitro: uma revisão sistemática. *Reprod Clim.* 2013;28(2):68-73.
7. Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EM, 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 Jul;22(7):1925-31.

8. 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 Aug;94(3):1044-51.
9. Jayaprakasan K, Deb S, Batcha M, Hopkisson J, Johnson I, Campbell B, et al. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Mullerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010 Oct;94(5):1775-81.
10. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update*. 2014 Jan-Feb;20(1):124-40.
11. Oliveira JB, Baruffi RL, Petersen CG, Mauri AL, Nascimento AM, Vagnini L, et al. A new ovarian response prediction index (ORPI): implications for individualised controlled ovarian stimulation. *Reproductive biology and endocrinology* : 2012;10:94.
12. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*. 2006 Jan;131(1):1-9.
13. Ledger WL. Measurement of antimullerian hormone: not as straightforward as it seems. *Fertil Steril*. 2014 Feb;101(2):339.
14. Castro EC, Borges ALF, Rezende KN, Amaral WN. Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in in vitro fertilization cycles. *Reprod Clim* 2015; in press.
15. Castro EC, Florencio Rde S, Monteiro Filho G, Amaral WN. Nomograma correlacionando a idade com a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*. 2012 Apr;34(4):184-8.

16. Bentzen JG, Forman JL, Larsen EC, Pinborg A, Johannsen TH, Schmidt L, et al. Maternal menopause as a predictor of anti-Mullerian hormone level and antral follicle count in daughters during reproductive age. *Hum Reprod.* 2013 Jan;28(1):247-55.
17. 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.* 2004 Nov-Dec;11(6 Pt 1):607-14.
18. Mendes AIG, Silva MS, Castro EC, Amaral WN. Confiabilidade da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional: uma revisão sistemática. *Reprod Clim* 2014;29 (2):48–53.
19. Ata B, Seyhan A, Reinblatt SL, Shalom-Paz E, Krishnamurthy S, Tan SL. Comparison of automated and manual follicle monitoring in an unrestricted population of 100 women undergoing controlled ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod.* 2011 Jan;26(1):127-33.
20. Deb S, Campbell BK, Clewes JS, Pincott-Allen C, Raine-Fenning NJ. Intracycle variation in number of antral follicles stratified by size and in endocrine markers of ovarian reserve in women with normal ovulatory menstrual cycles. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* 2013 Feb;41(2):216-22.
21. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, et al. Anti-Mullerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Human reproduction.* 2007 Mar;22(3):766-71.
22. Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CW, Eijkemans MJ, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod.* 2010 Jan;25(1):221-7.

23. Hadlow N, Longhurst K, McClements A, Natalwala J, Brown SJ, Matson PL. Variation in antimullerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. *Fertility and sterility*. 2013 Feb 21.
24. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhauser MH. Statistically significant changes of antimullerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertility and sterility*. 2008 Apr;89(4):927-33.
25. Linhares AD, Chaves FS, Amaral WN, Castro EC. Revisão sistemática da variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual. *Reprod Clim*. 2014;29(1):21–6.
26. Deb S, Jayaprakasan K, Campbell BK, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Intraobserver and interobserver reliability of automated antral follicle counts made using three-dimensional ultrasound and SonoAVC. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2009 Apr;33(4):477-83.
27. Deb S, Campbell BK, Clewes JS, Raine-Fenning NJ. Quantitative analysis of antral follicle number and size: a comparison of two-dimensional and automated three-dimensional ultrasound techniques. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2010 Mar;35(3):354-60.

Tabela 1 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média, desvio padrão e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a seis milímetros, Goiânia 2014.

Fase do Ciclo Menstrual	Média	Desvio Padrão	IC (95%)	
			Inferior	Superior
Folicular Precoce (2º ao 5º dia) ^A	16,36	10,72	13,13	19,58
Folicular Média (6º ao 10º dia) ^B	16,47	10,29	13,38	19,56
Periovulatória (12º - 16º dia) ^C	16,33	10,15	13,28	19,38
Lútea (20º ao 26º dia) ^{D; B; C}	18,60	11,53	15,14	22,06

Teste: Friedman; $p = 0,001$. As letras iguais indicam que há diferença significativa entre as médias das duas fases do ciclo menstrual pelo Teste t-Student pareado. Legenda: IC= Intervalo de Confiança.

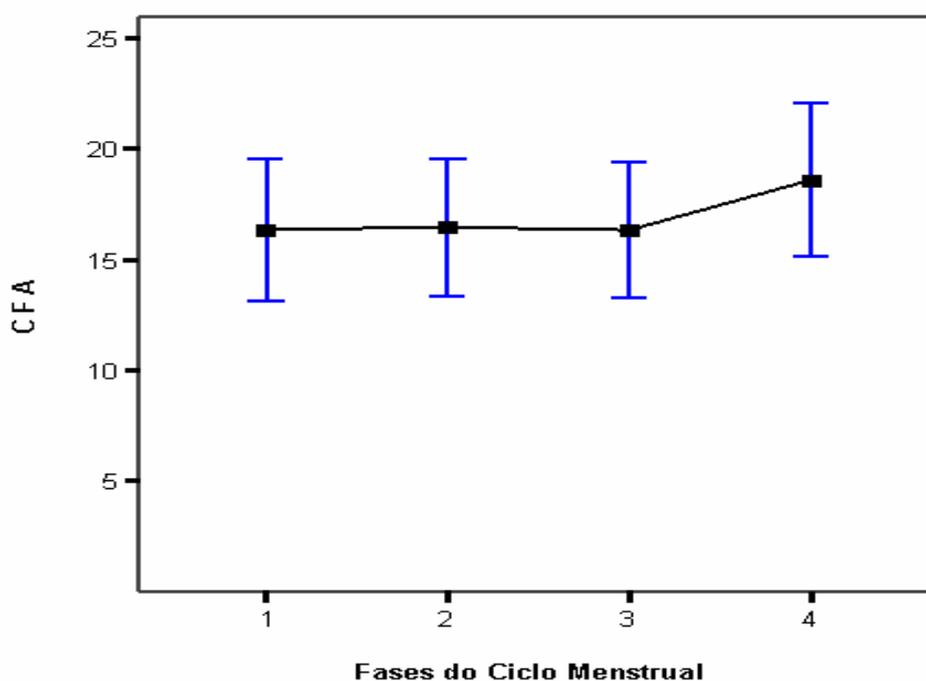


Gráfico 1 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a seis milímetros, Goiânia 2014. Teste de Friedman; $p=0,001$. Legenda: CFA = Contagem dos Folículos Antrais; (1) = Fase Folicular Precoce; (2) = Fase Folicular Média; (3) Período Periovulatório; (4) = Fase Lútea.

Tabela 2 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média, desvio padrão e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a dez milímetros, Goiânia 2014.

Fase do Ciclo Menstrual	Média	Desvio Padrão	IC (95%)	
			Inferior	Superior
Folicular Precoce (2° ao 5° dia) ^A	20,18	11,55	16,71	23,65
Folicular Média (6° ao 10° dia) ^{B:A}	22,00	11,86	18,44	25,56
Periovulatória (12° - 16° dia) ^C	21,71	12,21	18,04	25,38
Lútea (20° ao 26° dia) ^D	22,18	12,76	18,34	26,01

Teste: Friedman; $p = 0,003$. As letras iguais indicam que há diferença significativa entre as médias das duas fases do ciclo menstrual pelo Teste t-Student pareado. Legenda: IC= Intervalo de Confiança.

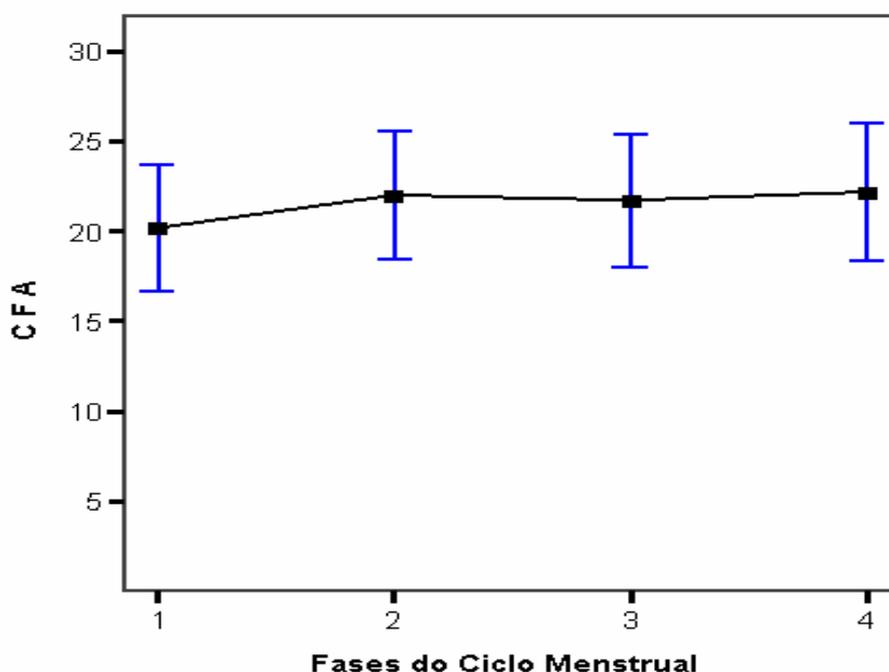


Gráfico 2 – Contagem automática tridimensional dos folículos ovarianos de quarenta e cinco mulheres nas quatro fases do ciclo menstrual. Média e intervalo de confiança do número de folículos que mediram de dois a dez milímetros, Goiânia 2014. Teste de Friedman; $p=0,001$. Legenda: CFA = Contagem dos Folículos Antrais; (1) = Fase Folicular Precoce; (2) = Fase Folicular Média; (3) Período Periovulatório; (4) = Fase Lútea.

ARTIGO 2

Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in in vitro fertilization cycles

Submetido, aceito e em impressão na Revista
Reprodução e Climatério da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

Antral follicle count in predicting appropriate dose of gonadotropin in *in vitro* fertilization cycles

Eduardo Camelo de Castro^{ab*}; Alda Linhares de Freitas Borges^a; Karise Naves de Rezende^a;

Waldemar Naves do Amaral^{cd}

^a Infertility Clinic, Faculty of Medicine, Pontifical Catholic University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

^b Humana Reproductive Medicine, Goiânia, Goiás, Brazil

^c Department of Obstetrics and Gynecology, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

^d Brazilian Society of Ultrasound, São Paulo, SP, Brazil

Abstract

Introduction: Controlled ovarian stimulation is an essential part of *in vitro* fertilization (IVF) cycles. The aim of this process is to permit follicular aspiration of approximately 8-10 oocytes. Individual women have different ovarian responses based on their ovarian reserves. Low doses of exogenous follicle-stimulating hormone (FSH) may lead to cancellation of an IVF cycle as a result of insufficient response, and high doses may also lead to cancellation due to the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. Knowing the patient's ovarian response permits the use of individually tailored doses of gonadotropin, resulting in decreased occurrence of inappropriate ovarian responses. **Objective:** Conduct a systematic review of AFC performance in adjusting the dose of gonadotrophins to prevent inadequate responses in IVF cycles. **Methods:** A systematic review was conducted of studies published in the last 13 years that appraised AFC performance in adjusting the dose of gonadotrophins to prevent inadequate responses in IVF cycles. The databases consulted were Medline, Lilacs, SciELO and Pubmed. Search descriptors were "antral follicle count" and "ovarian hyperstimulation syndrome". **Results:** 131 articles were found. Five articles published between 2000 and 2013

were selected. **Conclusion:** AFC appears to perform well in adjusting the dose of exogenous gonadotropins to prevent inappropriate responses in IVF cycles.

Key words: in vitro fertilization, antral follicle count, individualization, ovarian hyperstimulation syndrome.

*Eduardo Camelo de Castro

Rua 1.129, nº 751, Setor Marista - CEP:74175-140 - Goiânia-GO

Telefone: 62-3281-1101 / 3093-8073 / e-mail: dr.eduardodecastro@gmail.com

Introduction

Controlled ovarian stimulation is an essential part of in vitro fertilization (IVF) cycles; the objective of this procedure is to obtain a reasonable number of oocytes that can be fertilized. In clinical practice, specialist physicians generally rely on their experience to select the initial dose of gonadotropins to be used in the cycle. There is no consensus in the literature about the optimal dose of follicle-stimulating hormone (FSH) in follicular stimulation to retrieve an acceptable number of oocytes. Reports in the literature have considered the recovery of 8 to 10 oocytes (range: 5–14) per cycle of stimulation¹⁻³ to be adequate.

Women differ markedly in their ovarian reserves, and consequently present different responses to pharmaceutical stimulation of the ovaries. The occurrence of a low response to gonadotropins may result in cancellation of the cycle. Administration of higher doses of exogenous FSH may also lead to cancellation of the cycle due to the risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS).^{1,4}

Cytokines and high levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) released by the corpus luteum in the stimulated follicles lead to an increase in vascular permeability which is characteristic of OHSS.⁵⁻⁹ This disorder is usually self-limiting but may extend over

a long period, mainly in cycles with conception.⁶ Its incidence has increased with the expansion of assisted reproduction techniques.⁷ Mild and moderate OHSS forms occurs in 20-33% and 3-6% of all ovarian stimulation cycles, respectively, while the severe form of the syndrome may occur in 0.1– 2% of IVF cycles.⁴

An estimate of ovarian response is possible by ovarian reserve tests (ORT). Among the various ORT available, the oldest is dosage of basal FSH. Antral follicle count (AFC) and serum levels of anti-Müllerian hormone (AMH) were introduced more recently.⁴

AFC can be used as a screening test to detect probable poor responders, normal responders, or hyper responders, and has the best predictive value for the number of oocytes that will be retrieved in IVF cycles.¹⁰⁻¹³

With knowledge about the patient's ovarian response, individually tailored doses of gonadotropin can be used, resulting in reduced occurrence of inappropriate ovarian responses, fewer canceled cycles, reduced occurrence of OHSS, performance of fewer cycles with little chance of success, and improvements in pregnancy rates and the overall cost-effectiveness ratio for IVF programs.⁴

Objective

The objective of this study is to review the performance of antral follicle counting in adjusting the dose of gonadotropins to prevent inappropriate responses in IVF cycles.

Methods

A systematic review was conducted of studies published from January 2000 to December 2013 in English, Portuguese and Spanish. The following databases were consulted: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Literature Latin

American and Caribbean (Lilacs), Scientific Electronic Library Online (SciELO), and US National Library of Medicine (PubMed). The descriptors used were: "antral follicle count" and "ovarian hyperstimulation syndrome".

Among the studies identified, prospective studies, systematic reviews, meta-analyses and retrospective studies that addressed AFC as a predictor of ovarian response and individualized optimal dose of FSH to reduce inappropriate responses in an IVF cycle were selected. Inclusion criteria were studies with a sample composed of women under 40 years of age with regular menstrual cycles, without ovarian anatomical changes and with causes of infertility treated by assisted reproduction techniques (ART).

The studies were selected independently and blindly by two authors according to the inclusion and exclusion criteria. Where there was disagreement between the two authors, the opinion of a third author was employed.

One hundred thirty-one published articles were identified from the descriptors and filters used. Ninety-nine articles were excluded by the title, by reading the abstracts, or because of repetition in the databases, and 32 articles were selected that related AFC as a predictor of ovarian response to individualized optimal dose of FSH to reduce inappropriate responses. From these 32 articles, three that respected the inclusion criteria defined for this study were selected. The reference lists of the selected articles were analyzed to investigate the existence of new articles addressing the topic that could be incorporated. Two more articles fitting the proposed inclusion criteria were included, making a total of five articles analyzed in this study. Figure 1 shows the flowchart summarizing the strategy adopted to identify and include the studies.

Because this study used only data published in the literature, approval by an institutional review board was not required.

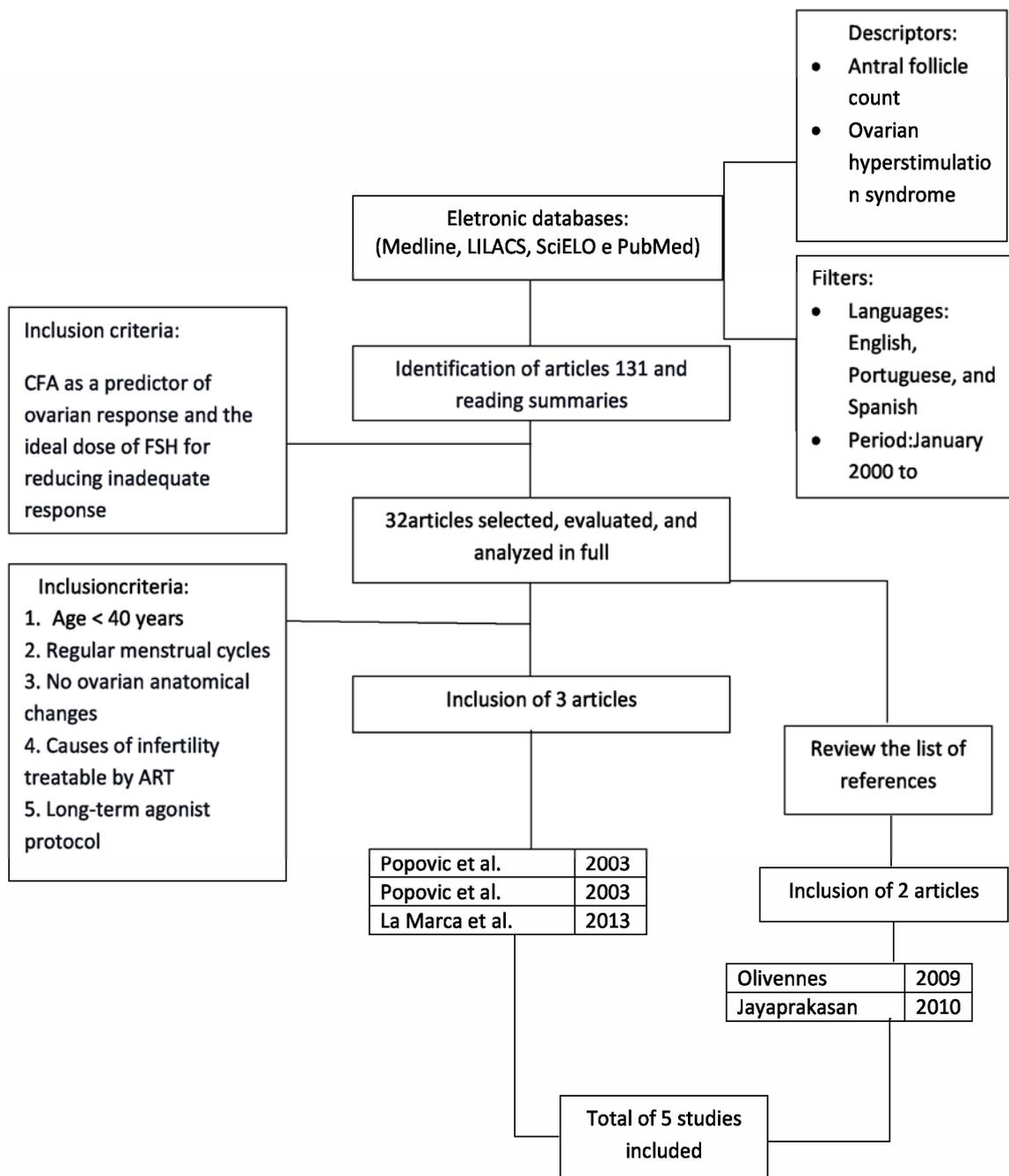


Figure 1. Flowchart of the methodology employed in the systematic review.

Results

Using the data from the articles, Table 1 was constructed for comparative analysis. Four of the five articles analyzed were prospective studies dealing with clinical trials, and one was a case-control study with retrospective design.

The earliest study was published in 2003 by Popovic-Todorovic et al. in Europe, while the most recent was published by La Marca et al. in 2013; this study was conducted in Italy, and has the largest sample, with 505 patients. The smaller study, with 131 women, was conducted in the UK by Jayaprakasan et al. in 2010.

Combining the populations studied in all the articles, 1220 patients were analyzed; of these, 407 underwent controlled ovarian stimulation with a fixed dose of recombinant follicle-stimulating hormone (FSHr), an exogenous FSH, and 813 received individualized doses of FSHr.

Table 1 Summary of data found in the systematic review.

Author	Year	Place	Type of study	N	Dose of FSH (IU)	Mean of retrieved oocytes	Pregnance rate (%)	Severe OHSS	Insufficient response	Predictive variables of ovarian response
Popovic-Todorovic et al.	2003	Denmark	Clinical trial (Prospective)	145	150	9.50	28.30	3.00 (4.3%)	Not informed	AFC, ovarian volume, Power Doppler grade, age, smoking
Popovic-Todorovic et al.	2003	Denmark	Clinical trial (Prospective)	267	150 / individualized base on nomogram	10.1/11.3	35.90 / 45.00	4.00 (5.2%) / 1.00 (1.3%)	14.00 (10.7%) / 2.00 (1.5%)	AFC, ovarian volume, Power Doppler grade, age, smoking
Olivennes et al.	2009	Multicentric (Latin America, Europe and Asia)	Clinical trial (Prospective)	172	Nomogram	9.00	34.20	2.00 (3.4%)	23.00 (13.3%)	Age, BMI, basal FSH, AFC
Japrayakasan et al.	2010	United Kingdom	Clinical trial (Prospective)	131	300 / 225	8.20 / 9.00	31.00 / 41.00	zero (0%) / 1.00 (1.5%)	zero (0%) / 4.00 (6.1%)	AFC
La Marca et al.	2013	Italy	Case control (Retrospective)	505	Nomogram	9.20	Not informed	zero (0%)	16.00 (3.2%)	AFC, age, serum FSH

Legend: AFC – Antral Follicle count; BMI – Body Mass Index; FSH – Follicle-Stimulating Hormone; OHSS – Ovarian Hyperstimulation Syndrome

Discussion

The main goal of individualized treatment in IVF cycles is to provide every patient with therapy based on their unique characteristics, thereby permitting a greater chance of success with lower risks from ovarian stimulation.¹⁴ Although basal FSH has been used for decades, the criteria for selecting the appropriate initial dose of exogenous FSH have not been fully defined. The initial dose of exogenous FSH is usually chosen according to the patient history and clinical criteria, most important of which is the result of a prior IVF cycle. When there is no previous cycle, in other words, when performing the first cycle in a particular patient, age, body mass index (BMI), and markers of ovarian reserve are the principal variables used to determine dosage.¹⁵

Older studies were not based on ovarian reserve to assist in selecting the dose of gonadotropin used for ovarian stimulation in an IVF cycle¹⁶⁻¹⁹. Measurement of serum basal FSH in women who would undergo an IVF cycle was one of the earliest markers of ovarian reserve to be used.²⁰ Since the concept of ovarian reserve was introduced, studies using AFC began to appear. The initial studies we encountered that used AFC and nomograms, relating the idea of FSH dose individualization for ovarian stimulation, were the studies by Popovic-Todorovic et al. in 2003.^{2,3}

One of the studies proposed a nomogram for clinical use to determine the optimal dose of FSH in an IVF cycle. This study used a sample of women under 40 years of age, without ovarian changes, with regular menstrual cycles, and normal serum basal FSH levels. Using a starting dose of 150 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (FSHr), it was possible to define the variables which could predict ovarian response. The number of oocytes retrieved could be predicted by AFC, total Doppler score, smoking, and level of serum testosterone. However, the most significant variables in this study for predicting the number of oocytes retrieved were AFC and ovarian volume. The study proposed a nomogram based on ovarian

ultrasound parameters (AFC, ovarian volume and Power Doppler score) and clinical data (age and smoking). The proposed optimal dose of FSHr to achieve an adequate yield of oocytes was 150 IU in 30-35 year old non-smoking women, with an average number of antral follicles (15 – 25), average ovarian volume (9 a 13 ml), and normal Doppler score. The optimal dose of FSHr proposed in the study was 100 IU in a non-smoking woman under 30 years of age with large ovaries (> 13 ml), many antral follicles (> 25), and a high Doppler score. A dose of 250 IU was more appropriate in the study for a smoking woman over 35 years of age with few antral follicles (< 15), small ovaries (< 9 ml), and a low Doppler score. During assembly of the nomogram, 3 cases of OHSS were observed when the initial dose of 150 IU of FSHr was used. The study did not report any cases of cancellation of the IVF cycle as a result of poor ovarian response (less than 5 oocytes retrieved).³

In 2003, Popovic-Todorovic et al. used the nomogram in a randomized, double-blind prospective clinical trial to evaluate the results of using a dose of FSH of between 100 and 250 IU/day. The sample was divided into a control group or standard dose (150 IU) and an experimental group or individualized dose. There was a significant difference in outcome between the groups: in the experimental group, 77.1% of women had an adequate response to ovarian stimulation (defined as 5–14 oocytes retrieved) compared with 65.6% in the control group. Furthermore, the study showed that lower doses of FSH in patients with low ovarian reserve generated inappropriate responses, increasing rates of IVF cancellation. In the group receiving the individualized dose of FSHr, 1.5% of the cases were canceled due to insufficient ovarian response; in the fixed-dose group, cancellation was noted in 10.7% of cases. It was also observed that patients undergoing individualized doses of FSHr did not require gonadotropin dosage adjustments, and also presented fewer cases of OHSS, suggesting that each patient has an optimal dose.²

In 2009 a more marked tendency to individualize doses of exogenous FSH began to appear. The CONSORT study applied the CONSORT algorithm for individualized dosing of exogenous FSHr in normo-ovulatory women aged 18 to 34 years. The algorithm considered four parameters from the literature: age, BMI, basal FSH, and AFC, assigning increments of 37.5 IU of FSHr according to these characteristics. This study supported studies showing that hormonal assessments such as the levels of inhibin B, anti-Müllerian hormone (AMH), and FSH may add to but not replace AFC, which seems to be more valuable for evaluating follicular reserve. This study suggested that low doses of gonadotropins are associated with higher incidence of cancelled IVF cycles and consequent failure to retrieve oocytes. The study presented fewer cases of OHSS when compared with studies in which fixed-doses of FSHr are used, as seen in the study by Popovic-Todorovic et al. (2003). The results corroborate the importance of individualizing the dose of exogenous FSH used in assisted reproduction.^{3, 21}

In 2010, Jayaprakasan et al. used AFC as a predictor of ovarian response to compare fixed doses of gonadotropins (225 and 300 IU) and did not observe a significant difference in the number of oocytes retrieved in women undergoing these doses during an IVF cycle, corroborating the studies of Henk et al., and the Latin-America and Puregon IVF Study Group report that compared the influence of fixed doses of 150 IU and 250 IU of FSHr in the number of retrieved oocytes. These studies also did not show a significant difference in the number of oocytes retrieved when comparing doses of 150 IU and 250 IU. These doses did not exhibit significant differences in the number of OHSS cases reported. In the study by Jayaprakasan et al., 6.1% of cycles were canceled because of insufficient response in the group that received 225 IU of FSHr, while no cancellation was observed in the group receiving 300 IU of FSHr.^{3, 16, 17, 21, 22}

In 2013, the retrospective study by La Marca et al. aimed to develop a nomogram based on age and markers of ovarian reserve to calculate the appropriate starting dose of

exogenous FSH to be applied in IVF cycles in order to reduce the extremes of ovarian response. The analysis showed that the number of oocytes retrieved was predicted by age, BMI, smoking status, serum basal FSH, and AFC, but statistical significance was achieved only by age, basal FSH, and AFC. These predictors were used to construct the nomogram which can be easily used in clinical practice. The study confirmed that ovarian response to FSH dose depends primarily on ovarian reserve. Moreover, it shows that individualizing the dose of gonadotropin used in ovarian stimulation reduces the number of cases of inadequate ovarian response. No cases of OHSS were reported in the study, and it was observed that only 3.2% of cases were canceled due to insufficient ovarian response.¹⁵ It was seen that in the studies using individualized doses of exogenous FSH, rates of cycle cancellation as a result of insufficient response are lower.

In addition to the study by La Marca et al., the studies by Popovic-Todorovic et al., CONSORT, and Ocal et al. demonstrate the significance of AFC as a predictor of ovarian response.²³⁻²⁵ The same concept is supported by the OPTIMIST 2012 study proposal. The objective of this study is to perform two tests, one with poor responders and one with hyper-responders, sorted by AFC. The expectation of this proposal is an increase of 30% to 41% in the rate of live births after adjusting the dose of FSH; the study will also integrate the results into a decision model to compare the cost-effectiveness of three strategies for adjusting the dose of exogenous FSH.^{1-4, 15, 22, 25}

Conclusion

This review highlights the fact that AFC appears to perform well in adjusting the dose of exogenous gonadotropins to prevent inappropriate responses in IVF cycles. Initial studies tended to use a standard dose of exogenous FSH. Current studies about ovarian reserve and AFC show a tendency to apply individualized doses of exogenous gonadotropins. The use of

nomograms containing AFC may assist in clinical practice. Further studies are now being conducted to evaluate the potential of AFC in preventing hyperstimulation syndrome and inadequate responses in in vitro fertilization cycles.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Olivennes F, Howies CM, Borini A, Germond M, Trew G, Wikland M, et al. Individualizing FSH dose for assisted reproduction using a novel algorithm: the CONSORT study. *Reproductive biomedicine online*. 2011;22 Suppl 1:S73-82.
2. 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 nomogram. *Human reproduction*. 2003;18(4):781-7.
3. Popovic-Todorovic B, Loft A, Bredkjær HE, Bangsbøll S, Nielsen IK, Andersen AN. A prospective randomized clinical trial comparing an individual dose of recombinant FSH based on predictive factors versus a 'standard' dose of 150 IU/day in 'standard' patients undergoing IVF/ICSI treatment. *Human Reproduction*. 2003;18(11):2275±82.
4. Theodora C van Tilborg MJE, Joop SE Laven, Carolien AM Koks, Jan Peter de Bruin,, Gabrielle J Scheffer RJvG, Kathrin Fleischer, Annemieke Hoek, Annemiek W Nap,, Walter KH Kuchenbecker PAM, Egbert A Brinkhuis, Arne M van Heusden, Alexander V Sluijmer,,

Arie Verhoeff MHvH, Jaap Friederich, Jesper MJ Smeenk, Janet Kwee, Harold R Verhoeve,, Cornelis B Lambalk FMH, Fulco van der Veen, Ben Willem J Mol, Helen L Torrance, BroekmansFJ. The OPTIMIST study: optimisation of cost effectiveness through individualised FSH stimulation dosages for IVF treatment. A randomised controlled trial. BMC Women's Health. 2012;12:29.

5. Chen C-D, Chen S-U, Yang Y-S. Prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2012;26:817–27.

6. Practice Committee of American Society for Reproductive M. Ovarian hyperstimulation syndrome. Fertility and sterility. 2008;90(5 Suppl):S188-93.

7. Melo ALB. Efeitos da bromocriptina na prevenção da síndrome do hiperestímulo ovariano precoce em mulheres de alto risco submetidas a fertilização in vitro. Dissertação mestrado - Faculdade de Medicina de São Paulo Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, 2009.

8. d'Alva CB. Aspectos clínicos e genótipo do receptor do FSH na síndrome de hiperestímulo ovariano induzida por hCG. Tese doutorado - Faculdade de Medicina de São Paulo Departamento de Clínica Médica, 2006.

9. Damario MA. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention strategies: oral contraceptive pills-dual gonadotropin-releasing hormone agonist suppression with step-down gonadotropin protocols. Seminars in reproductive medicine. 2010;28(6):468-74.

10. Silveira CF, Coutinho LMA, do Amaral WN, Castro EC. A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização in vitro: uma revisão sistemática. Reprodução & Climatério. 2013;28(2):68-73.

11. Linhares AD, Chaves FS, Amaral WN, Castro EC. Revisão sistemática da variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual. *Reprodução & Climatério*. 2014;29(1):21-6.
12. Checa MA, Prat M, Carreras R. Antral follicle count as a predictor of hyperresponse in controlled ovarian hyperstimulation/intrauterine insemination in unexplained sterility. *Fertility and sterility*. 2010;94(3):1105-7.
13. Broer SL, Dolleman M, van Disseldorp J, Broeze KA, Opmeer BC, Bossuyt PM, et al. Prediction of an excessive response in in vitro fertilization from patient characteristics and ovarian reserve tests and comparison in subgroups: an individual patient data meta-analysis. *Fertility and sterility*. 2013;100(2):420-9 e7.
14. Yovich J, Stanger J, Hinchliffe P. Targeted gonadotrophin stimulation using the PIVET algorithm markedly reduces the risk of OHSS. *Reproductive biomedicine online*. 2012;24(3):281-92.
15. La Marca A, Grisendi V, Giulini S, Argento C, Tirelli A, Dondi G, et al. Individualization of the FSH starting dose in IVF/ICSI cycles using the antral follicle count. *Journal of ovarian research*. 2013;6(1):11.
16. Group TL-APIS. A double-blind clinical trial comparing a fixed daily dose of 150 and 250 IU of recombinant follicle-stimulating hormone in women undergoing in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 2001;76.
17. Out HJ, David I, Ron-El R, Friedler S, Shalev E, Geslevich J, et al. A randomized, double-blind clinical trial using fixed daily doses of 100 or 200 IU of recombinant FSH in ICSI cycles. *Human Reproduction*. 2001;16:1104–9.

18. Yong PYK, Brett S, Baird DT, Thong KJ. A prospective randomized clinical trial comparing 150 IU and 225 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal-F*) in a fixed-dose regimen for controlled ovarian stimulation in in vitro fertilization treatment. *Fertility and sterility*. 2003;79.
19. Out HJ, Braat DDM, Lintsen BME, Gurgan T, Bukulmez O, Gökmen O, et al. Increasing the daily dose of recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon®) does not compensate for the age-related decline in retrievable oocytes after ovarian stimulation. *Human Reproduction*. 2000;15:29-35.
20. Harrison RF, Jacob S, Spillane H, Mallon E, Hennelly B. A prospective randomized clinical trial of differing starter doses of recombinant follicle-stimulating hormone (follitropin-beta) for first time in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment cycles. *Fertility and sterility*. 2001;75.
21. Olivennes F, Howies CM, Borini A, Germond M, Trew G, Wikland M, et al. Individualizing FSH dose for assisted reproduction using a novel algorithm: the CONSORT study. *Reproductive BioMedicine Online*. 2011;22:S73-S82.
22. Jayaprakasan K, Hopkisson J, Campbell B, Johnson I, Thornton J, Raine-Fenning N. A randomised controlled trial of 300 versus 225 IU recombinant FSH for ovarian stimulation in predicted normal responders by antral follicle count. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2010;117(7):853-62.
23. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human reproduction update*. 2010;16(2):113-30.

24. Broer SL, Dolleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJ. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Human reproduction update*. 2011;17(1):46-54.

25. Ocal P, Sahmay S, Cetin M, Irez T, Guralp O, Cepni I. Serum anti-Mullerian hormone and antral follicle count as predictive markers of OHSS in ART cycles. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2011;28(12):1197-203.

ARTIGO 3

A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização
in vitro: uma revisão sistemática

Publicado na Revista Reprodução e Climatério da Sociedade Brasileira de
Reprodução Humana



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo de revisão

A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização *in vitro*: uma revisão sistemática[☆]

Camila Filardi Silveira^{a,*}, Lara Meireles de Azeredo Coutinho^a,
Waldemar Nunes do Amaral^{b,c} e Eduardo Camelo de Castro^{a,d}

^a Ambulatório de Infertilidade da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

^b Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

^c Sociedade Brasileira de Ultrassom, São Paulo, SP, Brasil

^d Sociedade de Ginecologia e Obstetrícia de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 29 de julho de 2013

Aceito em 27 de agosto de 2013

On-line em 19 de outubro de 2013

Keywords:

Antral follicle count

Ovarian functional tests

Ovarian follicle

In vitro fertilization

R E S U M O

Objetivo: Revisar a capacidade da contagem dos folículos antrais de prever resultados nos ciclos de fertilização *in vitro*.

Método: Foi feita revisão sistemática de trabalhos publicados nos últimos 13 anos que tiveram como objetivo determinar a capacidade da contagem dos folículos antrais de prever resultados nos ciclos de fertilização *in vitro*. Esses estudos estavam disponíveis nas bases de dados científicas Medline, Lilacs e Scielo. Os descritores de busca foram contagem de folículos antrais, reserva ovariana e fertilização *in vitro*.

Resultados: Verificou-se a existência de 975 artigos publicados. Foram selecionados 16 deles publicados de 2000 a 2013 que mostraram a importância de a contagem dos folículos antrais prever resultados nos ciclos de fertilização *in vitro* em pacientes em idade fértil, sem história prévia de cirurgia ovariana, não fumantes e submetidas ao primeiro ciclo de fertilização *in vitro*.

Conclusão: Grande parte dos estudos mostrou que a contagem de poucos folículos antrais está associada com a ocorrência de má resposta ovariana e maior chance de cancelamento dos ciclos de fertilização *in vitro*, assim como com uma baixa quantidade de óocitos aspirados. Ainda não há um método ideal para prever gravidez de forma confiável.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho realizado no Ambulatório de Infertilidade da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: camil_filardi@hotmail.com (C.F. Silveira).

1413-2087/\$ – see front matter © 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2013.08.003>

Antral follicle count in the prediction of in vitro fertilization cycles results: A systematic review

A B S T R A C T

Palavras-chave:

Contagem de folículos antrais
Testes de função ovariana
Folículo ovariano
Fertilização *in vitro*

Objective: To review the ability of the antral follicle count in the prediction of *in vitro* fertilization cycles outcomes.

Method: A systematic review of studies published in the last 13 years that aimed to determine the ability of the antral follicle count to predict outcome in IVF cycles was done. These studies were available in the scientific databases MEDLINE, LILACS and Scielo. The keywords were the antral follicle count, ovarian reserve and *in vitro* fertilization.

Results: During the search it was found that there were 975 published articles. We selected 16 articles published between the years of 2000 to 2013 that showed the importance of the antral follicle count to predict *in vitro* fertilization cycles outcomes in patients of childbearing age, with no history of ovarian surgery, non-smokers and undergoing the first *in vitro* fertilization cycle.

Conclusion: Most studies show that few antral follicle counts is associated with the occurrence of poor ovarian response and greater chance of canceling cycles of *in vitro* fertilization cycles, as well as a low amount of collected oocytes. There is still no ideal method for predicting pregnancy reliably.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

O aumento da escolaridade da população feminina e a participação ativa da mulher na força de trabalho das sociedades ocidentais trouxeram um evidente aumento na média da idade em que as mulheres engravidam do primeiro filho.¹ Sabe-se que a fertilidade natural começa a declinar após os 30 anos e, nessa idade, a reserva ovariana já está diminuindo progressivamente.^{2,3}

A idade isoladamente não assegura um determinado padrão de resposta ovariana à indução de ovulação na fertilização *in vitro* (FIV). Segundo estudos, algumas mulheres com mais de 40 anos ainda têm reserva folicular suficiente para lhes garantir uma resposta satisfatória, enquanto outras, mais jovens, podem responder abaixo do esperado no tratamento.⁴ Além disso, esse parâmetro tem valor limitado, porque mulheres da mesma idade podem estar em diferentes fases do processo de depleção folicular e o estabelecimento de uma gravidez é influenciado por mais fatores, muitos deles desconhecidos.^{5,6}

A reserva ovariana é resultante da qualidade e da quantidade de oócitos.⁷ Nas últimas décadas, vários exames foram introduzidos com a finalidade de determinar a reserva de oócitos, os chamados testes de reserva ovariana. Cada teste tem uma acurácia diferente para prever os resultados dos ciclos de FIV em termos de ocorrência de gravidez.

Os testes disponíveis na atualidade são dosagem sérica do FSH, estradiol, inibina B, hormônio anti-Mülleriano (HAM), contagem de folículos antrais (CFA), volume ovariano e fluxo sanguíneo do ovário. Além desses, há os testes do citrato de clomifeno, do FSH exógeno e o de estimulação com agonista do GnRH.

Apesar de a medida direta do pool de folículos primordiais não ser possível, demonstrou-se que o número de folículos antrais nos ovários está proporcionalmente relacionado com

o tamanho do estoque de folículos primordiais a partir do qual eles foram recrutados.⁸ Acredita-se que a CFA feita por meio da ultrassonografia endovaginal represente um parâmetro quantitativo do envelhecimento ovariano.⁹ No entanto, apesar do seu uso generalizado, ainda não foi bem estabelecido que os folículos visualizados representam aqueles potencialmente saudáveis com oócitos competentes.¹⁰

Aparentemente, existe uma relação direta entre a CFA e a quantidade de oócitos captados, o número de embriões disponíveis para seleção na FIV, a transferência, o congelamento e a maior ou menor chance de engravidar.¹¹ Uma CFA de ambos os ovários inferior a 10 pode estar associada com um risco aumentado de cancelamento do ciclo, podendo representar importante parâmetro de avaliação preditiva da resposta ovariana.¹²

Segundo os critérios do Consenso de Bologna,¹³ uma paciente pode ser classificada como pobre respondedora (*poor ovarian response* - POR) quando apresentar dois dos três critérios listados a seguir: idade materna avançada (≥ 40 anos) ou qualquer outro fator de risco para POR (ou seja, todas as condições genéticas ou adquiridas possivelmente associadas com uma diminuição da quantidade de folículos); POR anterior (≤ 3 oócitos após estimulação pelo protocolo convencional); teste anormal de reserva ovariana (CFA de cinco a sete folículos ou HAM de 0,5-10,1 ng/mL). É importante ressaltar que dois episódios de POR após estimulação máxima já são suficientes para definir uma paciente como pobre respondedora na ausência de idade materna avançada ou teste anormal de reserva ovariana.¹³

Uma má resposta ovariana pode estar associada com baixas taxas de gravidez e muitos desses ciclos são cancelados sem proceder à recuperação de oócitos.¹⁴ Por outro lado, a resposta do ovário exagerada leva a um aumento do risco da síndrome de hiperestímulo ovariano (SHO).

Uma estimativa de resposta antes da estimulação do ovário é útil para o aconselhamento de pacientes e para a escolha

individualizada da dosagem de gonadotrofina na estimulação ovariana para ciclos de FIV.^{15,16} A CFA é um teste relativamente rápido e com custo-benefício favorável, ao contrário de outros testes endocrinológicos de alto custo, e pode ser aplicado à rotina geral dos serviços.¹⁷

Este trabalho tem como objetivo revisar o desempenho da contagem dos folículos antrais na predição de resultados nos ciclos de fertilização *in vitro*. As variáveis analisadas foram má resposta ovariana, cancelamento de ciclo, número de oócitos captados, gravidez e nascidos vivos.

Método

Estudo de revisão sistemática dos trabalhos publicados de janeiro de 2000 a fevereiro de 2013. Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (Medline), Literatura Latino-Americana e do Caribe (Lilacs) e Scientific Eletronic Library Online (SciELO) foram as bases de dados consultadas. Os descritores usados foram: contagem de folículos antrais, reserva ovariana e fertilização *in vitro*.

Os critérios de inclusão definidos para os artigos foram pacientes em idade fértil, sem história prévia de cirurgia ovariana, não fumantes e submetidas ao primeiro ciclo de FIV. A seleção dos estudos foi feita por dois autores, de forma independente e cega, obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão. Nos casos em que houve discordância entre os dois autores, a opinião de terceiro autor foi empregada.

Foram identificados 975 artigos publicados a partir dos descritores e filtros usados. Procedeu-se à leitura dos resumos, sendo selecionados 34 artigos que relacionavam a contagem de folículos antrais (CFA) como método de predição de resultados em FIV. A partir desses 34 artigos foram selecionados 10 que obedeciam aos critérios de inclusão definidos para este estudo.

As listas de referências dos artigos selecionados foram analisadas para verificar a possibilidade de inclusão de novos artigos que abordassem o tema. Foram incluídos mais seis artigos que obedeciam aos critérios de inclusão propostos, totalizando 16 artigos analisados no presente estudo. A [figura 1](#) mostra o fluxograma que resume a estratégia adotada para identificação e inclusão dos estudos.

Para a análise dos dados, procedeu-se à tabulação dos estudos encontrados com a distribuição de artigos por ano e por resultados para melhor análise comparativa. Como se trata de uma revisão de dados da literatura, não foi necessária aprovação de Comitê de Ética em Pesquisa.

Resultados

A partir dos dados dos artigos foi construída a [tabela 1](#) para análise comparativa. Pode-se observar que a maioria dos artigos usou desenho prospectivo e dois estudos fizeram ensaio retrospectivo. Foram analisadas, ainda, duas metanálises e três revisões sistemáticas. Porém, como não forneceram dados para comparação, não foram incluídas na [figura 1](#).

O estudo mais antigo data de 2000 e foi feito por Ng et al.,⁴ em Hong Kong, enquanto o mais atual foi publicado nos EUA, por Lai et al.,¹⁸ em 2013. A maior população estudada foi na Espanha, por Melo et al. (2009),¹⁹ que avaliaram 1.074

Tabela 1 – Apresentação dos resultados encontrados na revisão sistemática

Referências (Autores)	Ano	Local	População	Desenho	Predição		Diâmetro folicular	Ultrassonografia
					Pobre resposta	Gravidez		
Ng et al.	2000	Hong Kong - China	128	prospectivo	≤ 6	≥ 9	não citado	Aloka, Model SSD-620, Aloka Co. Ltd, Japan
Kurjac & Kupesic	2002	Croácia	56	prospectivo	7	11	não citado	Combison 530D; 7.5 MHz probe
Muttukrishna et al.	2005	Inglaterra	108	retrospectivo	≤ 4	não citado	não citado	não especificado
Ng et al.	2005	Hong Kong - China	300	prospectivo	< 10	não citado	não citado	Aloka, Model SSD-5500; Aloka Co. Ltd, Japan
Kwee et al.	2007	Holanda	110	prospectivo	6	não citado	2 a 10 mm	6.5MHz vaginal Aloka SSD-1700 ultrasound apparatus (5.0 MHz probe)
Souza et al.	2007	Brasil	51	prospectivo	< 6	não citado	2 a 10 mm	GE logic 400 Pró-Series
Maseelall et al.	2009	Estados Unidos	278	retrospectivo	não citado	não citado	2 a 10 mm	não especificado
Melo et al.	2009	Espanha	1074	prospectivo	< 5	não citado	2 a 10 mm	Sonoline Sienna 6.5-MHz vaginal transducer
Jaysaprasakan et al.	2010	Reino Unido	135	prospectivo	≤ 3	não citado	2 a 10 mm	Voluson Expert 730 (Kretz, Austria) e four-dimensional 5-to-9 MHz transvaginal
Jaysaprasakan et al.	2012	Reino Unido	1012	prospectivo	< 14	não citado	2 a 10 mm	Voluson Expert 730 e 3D "volume" 5-9 MHz transvaginal probe
Lai et al.	2013	Estados Unidos	214	prospectivo	não citado	não citado	2 a 10 mm	não especificado

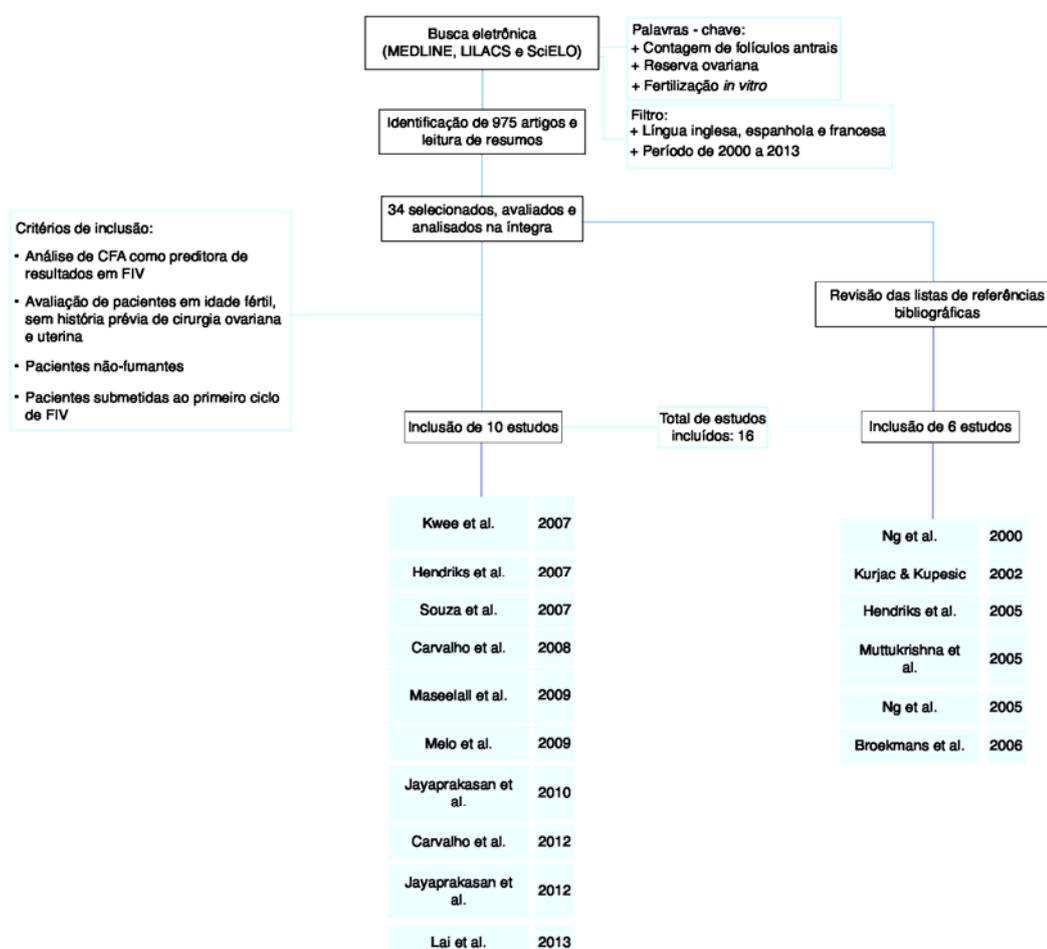


Figura 1 – Fluxograma da metodologia empregada na revisão sistemática.

mulheres, e a menor, com 51 mulheres, foi estudada no Brasil, por Souza et al. (2007).²⁰

A definição de pobre resposta foi divergente entre os estudos, variando de três a nove folículos antrais. A maioria dos pontos de corte ficou no intervalo entre três e seis folículos. Somente dois estudos estabeleceram a relação entre a CFA e chances de gravidez. A maioria dos artigos considerou como folículo antral aquele que media de 2 mm a 10 mm de diâmetro à ultrassonografia endovaginal.

Discussão

A maioria dos artigos apresentou evidência de que uma contagem menor do que três a seis folículos antrais está associada com má respondedoras e maior chance de cancelamento de ciclo, assim como menor número de oócitos aspirados. O ensaio de Kupesic e Kurjac (2002)²¹ sugere que a CFA foi a melhor preditora de resultados favoráveis em FIV.

Em estudo prospectivo de Ng et al. (2000)⁴ feito com 128 mulheres foi constatado que as pacientes com CFA \leq 6

tiveram maior número de ciclos cancelados. Esse estudo mostrou que a CFA teve correlação significativa com o número de oócitos obtidos, que foi o melhor fator preditor de resposta em FIV quando comparado com os outros marcadores. Os mesmos autores,²² em novo estudo prospectivo feito em 2005, compararam a CFA com a concentração de FSH após o teste de citrato de clomifeno. Observaram que a CFA alcançou, da mesma forma, um melhor valor preditivo em relação ao número de oócitos aspirados.

Souza et al. (2007)²⁰ também concordaram em seu trabalho que a CFA apresenta boa correlação com o número de oócitos captados com o uso do mesmo ponto de corte do estudo de Ng et al. (2000)⁴ na CFA. Apesar disso, este estudo verificou que a relação entre a CFA e gravidez foi inversa. A provável explicação pode ter sido o tamanho reduzido da amostra. Os autores Kupesic e Kurjac (2002)²¹ também conseguiram estabelecer uma boa correlação entre o número total de oócitos aspirados e a CFA ao avaliar prospectivamente 56 mulheres. No entanto, o ponto de corte usado pelos autores para o insucesso da FIV foi de sete folículos contados.

Outro trabalho que conseguiu mostrar que a CFA tem melhor valor preditivo em relação ao número de oócitos obtidos foi o estudo de Lai et al. (2013).¹⁸ Porém, diferentemente dos outros autores, não foram estabelecidos pontos de corte para análise.

O estudo de Jayaprakasan et al. (2010)²³ se diferenciou dos demais pois acrescentou na análise, além da CFA, a dosagem do hormônio anti-Mülleriano (HAM) como marcador de reserva ovariana. Entretanto, a conclusão foi a mesma, ou seja, tanto a CFA como a dosagem do HAM foram considerados os melhores preditores do número de oócitos recuperados.

A CFA também pode ser relacionada à pobre resposta ovariana, como concluíram Jayaprakasan et al. em 2010,²³ com sensibilidade de 93% e especificidade de 88%. Outro estudo prospectivo desses mesmos autores,²⁴ feito em 2012, que usou como ponto de corte uma CFA menor ou igual a quatro, avaliou uma coorte de 1.012 mulheres e confirmou que a CFA é um preditor significativo da má resposta ovariana. Porém, acrescentaram que a CFA também obteve um valor estatisticamente significativo em relação à predição de nascidos vivos e de SHO moderada ou grave.

Os autores sugerem que, embora a CFA tenha a melhor capacidade de predição de má resposta ovariana e SHO entre todos os marcadores convencionais da reserva ovariana medidos no estudo,^{23,24} a CFA e a idade tiveram o mesmo valor preditivo em relação aos nascidos vivos, contrariando o que foi demonstrado no estudo retrospectivo elaborado por Mase-elall et al. (2009).²⁵ Nesse estudo, foi definido que a CFA é um fator independente significativo, capaz de prever índice de nascidos vivos. Segundo eles, uma CFA menor ou igual a 10 está associada ao maior risco de aborto espontâneo e cancelamento do ciclo, ao maior uso de gonadotrofinas, ao menor número de oócitos recuperados e à menor taxa de gravidez clínica em comparação a pacientes com CFA maior ou igual a 11. A taxa de nascidos vivos é maior nesse último grupo.

Outros estudos também apontam a CFA como melhor preditora da má resposta ovariana. Porém, em alguns deles não houve concordância entre os pontos de corte das quantificações dos folículos antrais usados. A análise retrospectiva de Muttukrishna et al. (2005)²⁶ encontrou que uma CFA menor do que cinco foi boa preditora de pobre resposta, com sensibilidade de 89% e especificidade de 39%. Nesse trabalho, as pacientes foram divididas em dois grupos: pobres respondedoras (≤ 4 oócitos coletados) e respondedoras normais (≥ 5 oócitos coletados). As pacientes foram também separadas em três grupos para análise: entre um e quatro folículos antrais (grupo 1); de cinco a nove folículos antrais (grupo 2) e maior ou igual a 10 folículos antrais (grupo 3). Os índices de gravidez de foram de 18,2%, 32% e 48%, respectivamente. Já no estudo de Kwee et al. (2007),¹⁷ a pobre resposta foi estabelecida com uma CFA inferior a seis, com sensibilidade de 73% e especificidade de 95%.

A metanálise de Hendriks et al. (2005)²⁷ não citou seus pontos de corte para pobre resposta. Porém, definiu bom desempenho da CFA para prever má resposta ovariana, enquanto sua capacidade para predição de não gravidez foi deficiente. Isso é ratificado por Ramalho de Carvalho et al. (2012),²⁸ que demonstraram que a CFA é um excelente indicador da resposta ovariana, com superioridade significativa em relação a outros marcadores, mas com baixa sensibilidade

para prever não gravidez. Eles concluíram, também, que a CFA não deve ser usada como critério para a exclusão da terapia de reprodução assistida, e sim como uma ferramenta para o aconselhamento quanto à baixa probabilidade de atingir gravidez e determinar individualmente os protocolos de tratamento de ciclos de FIV.

Em 2007, Hendriks et al.²⁹ fizeram outra metanálise que concordou com o estudo de revisão de Carvalho et al. (2012).²⁸ Ambos apontaram que a CFA é preferível em relação a outros marcadores na avaliação quantitativa da reserva ovariana. Broekmans et al. (2006)⁹ também consideraram que a acurácia da CFA para prever pobre resposta ovariana é adequada, mas a CFA não tem grande valor clínico para prever gravidez. Eles consideraram que esse método pode ser usado como teste de *screening* para possíveis pobres respondedoras e para direcionar futuros passos diagnósticos na primeira tentativa de FIV, concordando com o estudo de Ng et al. (2000),⁴ o qual mostrou que, apesar do reduzido número de oócitos obtidos em mulheres com baixa CFA, as taxas de gravidez por ciclo pareceram similares às de mulheres com CFA maior, sugerindo que a CFA não seria uma boa preditora das taxas de gestação.

A hiper-resposta ovariana também pode ser prevista pela CFA, como mostram o estudo de Jayaprakasan et al. (2012)²⁴ e o estudo de Kwee et al. (2007),¹⁷ os quais estabeleceram risco de SHO com uma CFA superior a 14, dado importante para direcionar a decisão de ajuste da dose de gonadotrofinas para prevenir uma possível SHO.

Apesar de algumas diferenças importantes entre os estudos nesta revisão, é consenso que o melhor marcador de reserva ovariana deve ser capaz de identificar as mulheres cujas chances de gravidez, em ciclos de FIV, estaria tão perto de zero que não se justificaria submetê-las aos potenciais efeitos adversos da estimulação exógena. Nesse aspecto, a CFA é designada como o marcador basal mais confiável de reserva ovariana na predição de uma pobre resposta.²⁹ No entanto, apesar de a CFA ter demonstrado ser um indicador sensível e específico da resposta ovariana, segundo os resultados de Melo et al. (2009),¹⁹ esse método não conseguiu prever a qualidade dos oócitos.

Conclusões

A maioria dos dados bibliográficos levantados concorda que a CFA pode ser usada como *screening* para detectar prováveis pobres respondedoras e tem o melhor valor preditivo do número de oócitos que serão captados nos ciclos de fertilização *in vitro*. Os estudos ainda mostram divergência em relação ao uso da CFA como método para prever gravidez nas técnicas de FIV. Ainda não há um método ideal para prever gravidez de forma confiável, mas uma baixa CFA pode ser usada na prática diária como instrumento no aconselhamento de casais quanto à menor probabilidade de alcançar gravidez.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Leridon H. Demographic effects of the introduction of steroid contraception in developed countries. *Hum Reprod Update*. 2006;12:603-16, doi:10.1093/humupd/dml025.
- 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;91:705-14, doi:10.1016/j.fertnstert.2007.12.013.
- Castro EC, Florêncio RS, Monteiro Filho G, Amaral WN. Correlação entre a idade e a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis. *RBGO*; 2012;34(4):184-8.
- 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;15:1937-42, doi:10.1093/humrep/15.9.1937.
- Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2004;81:35-41.
- Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, te Jong FH, et al. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod*. 2003;18:700-6, doi:10.1093/humrep/deg135.
- Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive aging. *Hum Reprod Update*. 2002;8:141-54, doi:10.1093/humupd/8.2.141.
- Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of nongrowing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*. 1994;50:653-63, doi:10.1095/biolreprod50.3.653.
- 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;12:685-718, doi:10.1093/humupd/dml034.
- 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;94:1044-51, doi:10.1016/j.fertnstert.2009.04.040.
- Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1997;12:220-3, doi:10.1093/humrep/12.2.220.
- 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;74:512-7.
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod*. 2011;26:1616-24, doi:10.1093/humrep/der092.
- Pellicer A, Lightman A, Diamond MP, Russell JB, Decherney AH. Outcome of in vitro fertilization in women with low response to ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 1987;47:812-5.
- Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Antral Follicle Counting In Predicting The Retrieved Oocyte Number After Ovarian Hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2001;18:320-4, doi:10.1023/A:1016688806431.
- Andersen AN, Witjes H, Gordon K, Mannaerts B. Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment. *Hum Reprod*. 2011;26:3413-23, doi:10.1093/humrep/der318.
- Kwee J, Elting ME, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol*. 2007;5:9, doi:10.1186/1477-7827-5-9.
- Lai Q, Chen C, Zhang Z, Zhang S, Yu Q, Yang P, et al. The significance of antral follicle size in predicting ovarian response in a multiple dose GnRh antagonist protocol. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6:258-66, www.ijcep.com /ISSN: 1936-2625/IJCEP1211017.
- 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;91:148-56, doi:10.1016/j.fertnstert.2007.11.042.
- Souza MCB, Souza MM, Oliveira JBA, Henriques CA, Cardoso FFO, Mancebo ACA, et al. Utilização da contagem de folículos antrais para predição do padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação controlada com antagonista de GnRH. *RBGO*. 2007;30(1):36-41.
- Kupesic S, Kurjak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Human Reprod*. 2002;17:950-5, doi:10.1093/humrep/17.4.950.
- Ng EH, Chan CC, Tang OS, Ho PC. Antral follicle count and FSH concentration after clomiphene citrate challenge test in the prediction of ovarian response during IVF treatment. *Hum Reprod*. 2005;20:1647-54, doi:10.1093/humrep/deh833.
- Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010;93:855-64, doi:10.1016/j.fertnstert.2008.10.042.
- Jayaprakasan K, Chan Y, Islam R, Haoula Z, Hopkisson J, Coomarasamy A, et al. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. *Fertil Steril*. 2012;98:657-63, doi:10.1016/j.fertnstert.2012.05.042.
- Maseelall PB, Hernandez-Rey AE, Oh C, Maagdenberg T, McCulloh DH, McGovern PG. Antral follicle count is a significant predictor of livebirth in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2009;91:1595-7, doi:10.1016/j.fertnstert.2008.11.001.
- Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count anti-müllerian hormone inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG*. 2005;112:1384-90, doi:10.1111/j.1471-0528.2005.00670.x.
- 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;83:291-301.
- Ramalho de Carvalho B, Gomes Sobrinho DB, Vieira AD, Resende MP, Barbosa AC, Silva AA, et al. Ovarian reserve assessment for infertility investigation. *ISRN Obstet Gynecol*. 2012;2012:576385, doi:10.5402/2012/576385.
- Hendriks DJ, Kwee J, Mol BW, te Velde ER, Broekmans FJ. 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;87:764-75.

ARTIGO 4

Confiabilidade da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional: uma revisão sistemática

Publicado na Revista Reprodução e Climatério da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana



ELSEVIER

Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>


Artigo de revisão

Confiabilidade da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional: uma revisão sistemática[☆]



Ana Isabela Gouveia Mendes^{a,b}, Morganna Sousa e Silva^{a,b},
Waldemar Naves do Amaral^{c,d} e Eduardo Camelo de Castro^{a,b,e,*}

^a Ambulatório de Infertilidade, Santa Casa de Goiânia, Goiânia, GO, Brasil

^b Curso de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), Goiânia, GO, Brasil

^c Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

^d Sociedade Brasileira de Ultrassonografia, São Paulo, SP, Brasil

^e Humana Medicina Reprodutiva, Goiânia, GO, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 18 de junho de 2014

Aceito em 9 de julho de 2014

On-line em 28 de agosto de 2014

Palavras-chave:

Folículo ovariano

Ovário

Ultrassonografia

Fertilidade

R E S U M O

Objetivo: Fazer uma revisão da literatura sobre a confiabilidade da contagem de folículos antrais ovarianos com o uso da ultrassonografia bidimensional e tridimensional.

Método: Foi feita uma revisão sistemática dos trabalhos publicados nos últimos 13 anos que tiveram como objetivo avaliar a variabilidade intra e interobservador da contagem de folículos antrais ovarianos com o uso do ultrassom bidimensional e tridimensional. Esses estudos estavam disponíveis nas bases de dados científicas Medline, Lilacs e Scielo. Os descritores usados nas buscas foram: contagem de folículos antrais, reserva ovariana, cálculo automatizado de volume, ultrassom 3D e Sono AVC.

Resultados: Verificou-se a existência de 1.057 artigos publicados. Foram selecionados seis estudos relacionados com variabilidade intra e interobservador da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional e que respeitavam os critérios de inclusão estabelecidos.

Conclusão: A maioria dos estudos concorda com que com o modo 2D a identificação dos folículos e a medição de seus diâmetros ocorrem de forma manual e subjetiva e permitem uma maior variabilidade interobservador. O pós-processamento com possibilidade de recontagem folicular e a reanálise das imagens contribuem para melhorar a confiabilidade da ultrassonografia 3D, mas aumentam o tempo total do exame.

© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho desenvolvido no Ambulatório de Infertilidade, Santa Casa de Goiânia, Curso de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: dr.eduardodecastro@gmail.com (E.C.d. Castro).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2014.08.001>

1413-2087/© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Reliability of antral follicle count using two-dimensional and three-dimensional ultrasound: a systematic review

A B S T R A C T

Keywords:
Ovarian follicle
Ovary
Ultrasonography
Fertility

Objective: To review the literature about the reliability of the antral follicle count using the 2D and 3D ultrasonography.

Method: A systematic review of studies published over the last 13 years that aimed to evaluate the intra- and interobserver variability of the antral follicle count using the 2D and 3D ultrasonography in the databases Medline, Lilacs and Scielo. The keywords used in the search were antral follicle count, ovarian reserve, and automated ultrasound.

Results: It was found that there were 1.057 published articles. Of these six studies were related to of intra- and interobserver variability of antral follicle count using 2D and 3D ultrasound that respected the inclusion criteria established.

Conclusion: Most studies agreed that the 2D mode provides follicle identification and its diameter measures manually and subjectively. It allows a greater variability intra- and interobserver. The post-processing with the possibility of follicular recount and review of the images helps to improve the reliability of the 3D ultrasound but increases the total time of the exam.

© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

Os testes que avaliam a reserva ovariana são usados para prever a resposta à estimulação controlada dos ovários durante os tratamentos com reprodução assistida.¹ Não existe consenso de qual exame, ou a combinação deles, tem o maior valor preditivo da reserva ovariana. A maioria dos autores concorda com que a contagem dos folículos antrais (CFA) e a dosagem sérica do hormônio anti-Mülleriano (HAM) têm o melhor potencial discriminatório.²⁻⁵ As dosagens do HAM ainda são relativamente caras e há uma variação entre os testes laboratoriais.³ Já a CFA é mais fácil e mais barata de ser feita, por causa da grande disponibilidade de aparelhos de ultrassom nas clínicas.

Tradicionalmente, o tamanho de um folículo é avaliado com a medição do seu diâmetro com ultrassom bidimensional (2D). No entanto, a medida do tamanho e do volume dos folículos é mais precisa quando avaliada por um ultrassom tridimensional (3D).⁶ A diferença técnica entre os dois modos de ultrassom está no uso de fórmulas matemáticas para os cálculos dos volumes e a avaliação dos tamanhos com alta precisão no modo 3D. Já o modo bidimensional faz suposições sobre a forma da estrutura e ignora o tamanho real do objeto.⁷

O uso do método bidimensional já foi sistematizado. As imagens são captadas por meio de um transdutor transvaginal, em tempo real e em duas dimensões. A CFA com ultrassom 2D é iniciada com a identificação do primeiro ovário, seguida por uma varredura da gônada em uma única direção de seus principais eixos em busca de imagens hipocogênicas com diâmetro de 2 a 10mm. Essas imagens hipocogênicas são contadas como folículos antrais nos dois ovários e, ao ser identificadas, são medidas em suas maiores dimensões.⁸

O Sono AVC (Sono Automatic Volume Calculation or Count: GE Medical Systems, Zipf, Áustria) é um novo software que

identifica e quantifica regiões hipocogênicas de um ovário dentro de um conjunto de dados em três dimensões. O programa fornece estimativas automáticas das dimensões absolutas, como diâmetro e volume das imagens hipocogênicas.

Na tela do ultrassom percebe-se que a cada imagem hipocogênica é atribuída uma cor específica e suas dimensões são medidas automaticamente: volume (de acordo com o volume real de uma esfera) e os três diâmetros (x, y e z). Os volumes são exibidos em ordem decrescente. Um número ilimitado de folículos é rastreado e quantificado.^{9,10} Um folículo é uma estrutura tridimensional (3D) e seu volume é a medida mais precisa para medir seu tamanho. Com o uso do diâmetro como um substituto para o volume, os folículos assumem estruturas de esferas. Além disso, não há um padrão universal para medir o diâmetro folicular.⁶

Um trabalho publicado recentemente sugere que o Sono AVC fornece medições automáticas de diâmetro e volume folicular mais confiáveis e precisas do que as estimativas feitas com a ultrassonografia bidimensional (2D). Esse estudo levantou a hipótese de que a medição automatizada com o uso do Sono AVC seria mais confiável e mais rápida do que medições com o método convencional 2D.¹¹ O presente trabalho tem o objetivo de fazer uma revisão da literatura sobre a confiabilidade da contagem de folículos antrais ovarianos com o uso da ultrassonografia bidimensional e tridimensional.

Método

Foi feita uma revisão sistemática da literatura dos trabalhos publicados de janeiro de 2000 a fevereiro de 2013 nas bases de dados eletrônicas Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (Medline), Scientific Eletronic Library Online (Scielo) e Literatura Latino-Americana e do Caribe (Lilacs). Como descritores foram usados: contagem de

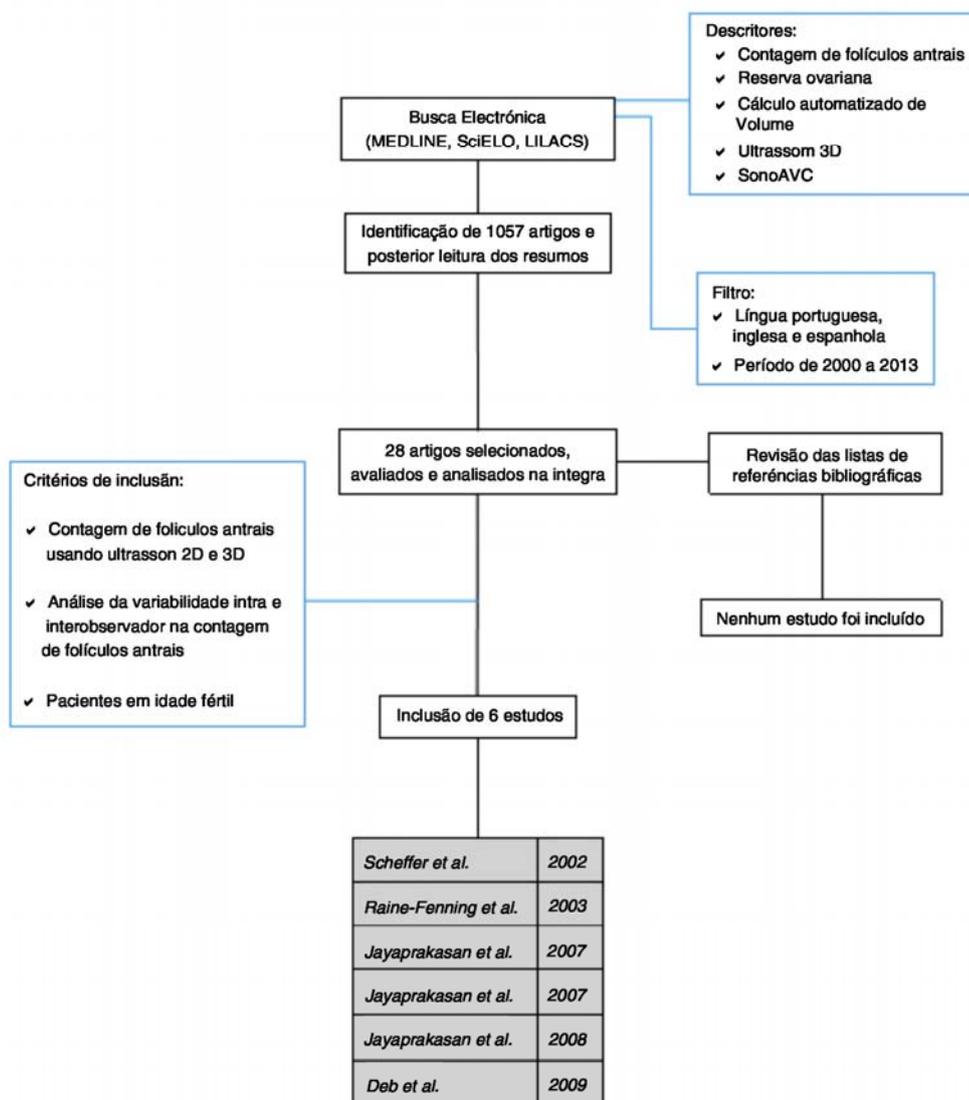


Figura 1 – Fluxograma da metodologia empregada na revisão sistemática.

folículos antrais, reserva ovariana, cálculo automatizado de volume, ultrassom 3D e Sono AVC.

Após a leitura dos resumos foram selecionados artigos relevantes em relação à confiabilidade da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional. Foram incluídos os estudos publicados em inglês, português e espanhol que compararam os modos bidimensional e tridimensional da contagem dos folículos antrais e analisaram a variabilidade intra e interobservador dessas medições.

Foram excluídos outros estudos. A seleção dos estudos, análise e extração dos dados foram feitas pelos autores e discutidas em reuniões de consenso. A figura 1 mostra o fluxograma que resume a estratégia adotada para identificação e inclusão dos estudos. Não foi necessária a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, uma vez que se tratou de uma revisão de dados da literatura.

Resultados

A busca eletrônica nas bases de dados resultou na identificação de 1.057 artigos. Considerando a pesquisa por meio de cada descritor isoladamente, foram encontradas as seguintes quantidades de artigos científicos: 86 publicações em “contagem de folículos antrais”, 449 em “reserva ovariana”, quatro em “cálculo automatizado de volume”, 510 em “ultrassom 3D” e oito em “Sono AVC”.

A partir da análise dos títulos verificou-se que somente 86 estudos abordavam especificamente a contagem de folículos antrais. Desses 86 artigos foram selecionados 28, a partir da leitura dos resumos. Desse total, seis estudos estavam relacionados com variabilidade intra e interobservador da contagem de folículos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional e respeitaram os critérios de inclusão e

Tabela 1 – Apresentação dos resultados encontrados

Autor	Ano	Local	Amostra	Métodos comparados	Observador	Conclusão
Scheffer et al.	2002	Inglaterra	201	2D e 3D	Intraobservador e interobservador	"US 3D oferece informações quantitativas ligeiramente diferentes do que US 2D"
Rainne-Fenning et al.	2003	Nottingham, Inglaterra	3 objetos (bola de tênis de mesa, preservativo padrão e preservativo em forma de elefante)	2D convencional e 3D rotacional	Interobservador	"A técnica 3D rotacional é a mais apropriada em termos de confiabilidade, validade e tempo."
Jayaprakasan et al.	2007	Nottingham, Inglaterra	41	2D, 3D convencional e 3D modo de inversão	Interobservador	"Não houve diferenças equivalentes de imagens entre os três métodos avaliados"
Jayaprakasan et al.	2007	Nottingham, Inglaterra	112	2D, 3D visão multiplanar e 3D modo de inversão	Interobservador	"Imagens 3D parecem oferecer uma pequena vantagem sobre métodos com imagem 2D convencional. 3D demorou significativamente mais."
Jayaprakasan et al.	2008	Nottingham, Inglaterra	45	2D e 3D convencional	Interobservador	"A duração total do exame foi reduzida quando usado o método 3D."
Deb et al.	2009	Nottingham, Inglaterra	55	2D, 3D visão multiplanar e SonoAVC	Interobservador	"Sono AVC é um método confiável para CFA, mas leva mais tempo para ser feito por causa do pós-processamento"

exclusão. A análise das listas de referências não resultou em inclusão de mais estudos.

A maioria dos artigos selecionados usou desenho prospectivo (tabela 1). O estudo mais antigo data de 2002 e foi feito por Scheffer et al.,¹² na Holanda, enquanto o mais atual foi publicado na Inglaterra, por Deb et al., em 2009.¹¹

Discussão

Mesmo sendo um dos parâmetros mais importantes da medida quantitativa da reserva ovariana, a CFA está sujeita a variações quantitativas e qualitativas por causa das diferenças das aferições feitas por dois ultrassonografistas diferentes ou por um mesmo ultrassonografista em dois momentos distintos (variação interobservador e variação intraobservador).

As técnicas bidimensionais e tridimensionais da contagem dos folículos antrais precisam de um tempo para ser feitas e estão associadas a um grau de erro de medições. Tem sido demonstrado que a medição manual de folículos pelo modo 2D é muitas vezes imprecisa e sujeita a significativa variabilidade intra e interobservador. No método bidimensional os folículos podem ser contados mais de uma vez ou deixar de ser contados^{9,13-15} e a medida dos diâmetros foliculares é subjetiva. Esses fatores contribuem para a variabilidade interobservador. A confiabilidade das medições foliculares diminui à medida que aumenta o número de folículos.^{14,16}

Estudo de Scheffer et al. (2002)¹² foi feito com dois grupos distintos, um com mulheres voluntárias férteis e outro com pacientes de uma clínica de infertilidade. Cada mulher

foi submetida a ultrassonografia transvaginal 2D e 3D na fase folicular do ciclo menstrual, para fazer a CFA de 2-10 mm. Esse estudo sugere que a medida do número de folículos antrais por qualquer um dos métodos ultrassonográficos, 2D ou 3D, tem uma adequada reprodutibilidade intra e interobservador. Isso implicaria que o método seria suficientemente preciso para ser executado apenas uma vez, por um observador. Porém, quanto maior o número de folículos medidos, menor foi a concordância entre os observadores.

A ultrassonografia 3D parece oferecer informação quantitativa sobre os ovários ligeiramente diferente do que a 2D. Com a ultrassonografia 3D, as imagens podem ser armazenadas dentro de um período muito curto para ser avaliadas numa fase posterior. No entanto, quando usadas em classificações categóricas, as CFAs, tanto por ultrassonografia 2D quanto pela 3D, são suficientemente confiáveis para ser usadas como um teste diagnóstico e prognóstico.

No estudo de Raine-Fenning et al. (2003),¹⁷ usaram-se dois observadores e três objetos diferentes: uma bola de tênis de mesa (ttb), um preservativo padrão parcialmente preenchido (elip) e um preservativo em forma de elefante (ele). Os objetos foram preenchidos com água e imersos em um meio fluido (mistura de água e glicerol). Cada observador adquiriu um conjunto de dados dos três objetos, de modo que havia duas aquisições de cada objeto, que totalizaram seis conjuntos de dados analisados tanto pelo método convencional de ultrassom 2D como pela técnica mais recente de rotação, usada para calcular o volume manualmente pelos quatro graus diferentes de rotação (30°, 15°, 9° e 6°), tanto pelo plano transversal quanto pelo coronal.

Apesar de ter havido um nível igualmente elevado de confiança entre os dois observadores e entre os diferentes planos, o que aumenta a confiança dessas técnicas de cálculo de volume, houve também uma tendência à maior validação do volume com o uso da técnica de rotação em relação à técnica convencional. Uma vantagem dessa última técnica é a capacidade de variar o número de planos usados para o cálculo do volume em diferentes objetos.

O volume absoluto gerado na conclusão das medições convencionais é criticamente dependente da interpretação do observador de onde o objeto começa e termina. Isso muitas vezes é o aspecto mais difícil das medições dos volumes. Esse estudo definiu a técnica mais apropriada, em termos de confiabilidade, validade e tempo, para aplicar em estudos futuros, que é a técnica rotacional.

Jayaprakasan et al. (2007)¹⁸ fizeram um trabalho para avaliar a confiabilidade interobservador da CFA com três técnicas e três observadores. Quarenta e uma mulheres com menos de 40 anos (média de 33,6) foram submetidas à investigação da infertilidade por meio de exames feitos com os métodos 2D, 3D e 3D modo de inversão. A CFA foi feita em folículos que mediam 2-10 mm de diâmetro. Todavia, não houve diferenças equivalentes entre os três diferentes graus de qualidade de imagem com os métodos 2D e o 3D multiplanar.

Os resultados mostraram que os três observadores foram capazes de conseguir resultados semelhantes com cada uma das três técnicas de medição. Os autores sugerem que as imagens tridimensionais não ofereceram vantagem sobre o método convencional bidimensional em termos de confiabilidade de medição. A medição da CFA com o uso do método 3D modo de inversão tem uma reprodutibilidade interobservador adequada, mas é dependente da qualidade da imagem.

Segundo outro trabalho de Jayaprakasan et al. (2007),¹ que comparou três métodos de ultrassonografia equivalentes, 2D, 3D visão multiplanar e modo de inversão, em mulheres com idade inferior a 40 anos, as CFA com base em imagens 3D parecem oferecer uma pequena vantagem sobre métodos com imagem 2D convencional na predição da resposta ovariana em um programa de FIV. A maior correlação da CFA com o número de folículos que se desenvolvem durante a estimulação ovariana e o número total de óocitos capturados é vista quando a CFA é feita com o método 3D modo de inversão. Mas esse modo de processamento demorou significativamente mais tempo do que todos os outros métodos.

Os mesmos autores, em estudo publicado em 2008,¹³ no qual dois observadores fizeram ultrassonografia transvaginal em 45 mulheres com os métodos 2D convencional e 3D, relatam que o ultrassom 3D melhora significativamente a confiabilidade interobservador da CFA. Os autores concluíram ainda que a duração total do exame de ultrassom foi significativamente reduzida quando foi usado o método 3D.

No estudo prospectivo de Deb et al. (2009),¹¹ com 55 mulheres, foram feitas as CFA por dois observadores com três métodos: 2D em tempo real, 3D visão multiplanar e Sono AVC. Concluiu-se que o Sono AVC com pós-processamento é um método confiável para medir a CFA total. Mas a CFA pelo Sono AVC leva mais tempo para ser feita por causa da necessidade do processamento posterior e obtém valores que são menores do que os obtidos pelas técnicas 2D em tempo real e 3D visão

multiplanar. No entanto, a CFA obtida pelo Sono AVC provavelmente é menor porque esse método estabelece medidas e códigos de cor para cada folículo e impede a recontagem.

Conclusão

A CFA feita por observadores, métodos e tempos diferentes está sujeita a uma variação que pode alterar a confiabilidade do exame. Alguns autores propõem que não há diferenças nos resultados quando comparados os métodos ultrassonográficos. Porém, a maioria dos estudos refere que com o modo 2D a identificação do folículo e a medição de seus diâmetros ocorrem de forma manual e subjetiva, o que permite uma maior variabilidade interobservador. A ultrassonografia 3D pode, então, melhorar a confiabilidade interobservador da contagem de folículos antrais. O pós-processamento com possibilidade de recontagem folicular e a reanálise das imagens em outro momento contribuem para essa melhor confiabilidade, mas tendem a aumentar o tempo total do exame.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Jayaprakasan K, Walker KF, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. The interobserver reliability of off-line antral follicle counts made from stored three-dimensional ultrasound data: a comparative study of different measurement techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:335-41, doi: 10.1002/uog.3913.
- 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;72:845-51, doi: 10.1016/S0015-0282(99)00396-9.
- Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006;131:1-9, doi: 10.1530/rep.1.00529.
- Van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, et al. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril.* 2005;83:979-87, doi:10.1016/j.fertnstert.2004.11.029.
- Nardo LG, Christodoulou D, Gould D, Roberts SA, Fitzgerald CT, Laing I. Anti-Müllerian hormone levels and antral follicle count in women enrolled in in vitro fertilization cycles: relationship to lifestyle factors, chronological age and reproductive history. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23:486-93, doi:10.1080/09513590701532815.
- Ata B, Seyhan A, Reinblatt SL, Shalom-Paz E, Krishnamurthy S, Tan SL. Comparison of automated and manual follicle monitoring in an unrestricted population of 100 women undergoing controlled ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod.* 2011;26:127-33, doi:10.1093/humrep/deq320.
- Ata B, Tulandi T. Ultrasound automated volume calculation in reproduction and in pregnancy. *Fertil Steril.* 2011;95:2163-70, doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.04.007.
- Raine-Fenning N, Jayaprakasan K, Clewes J. Automated follicle tracking facilitates standardization and may improve work flow. *Ultrasound in obstetrics & gynecology: the official*

- journal of the International Society of Ultrasound Obstet Gynecol. 2007;30:1015-8, doi: 10.1002/uog.5222.
9. Raine-Fenning N, Jayaprakasan K, Clewes J, Joergner I, Bonaki SD, Chamberlain S, et al. Sono AVC: a novel method of automatic volume calculation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:691-6, doi: 10.1002/uog.5359.
 11. Deb S, Jayaprakasan K, Campbell BK, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Intraobserver and interobserver reliability of automated antral follicle counts made using three-dimensional ultrasound and Sono AVC. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33:477-83, doi:10.1002/uog.6310.
 12. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Bancsi LF, Habbema JD, Looman CW, Te Velde ER. Quantitative transvaginal two- and three-dimensional sonography of the ovaries: reproducibility of antral follicle counts. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;20:270-5, doi: 10.1046/j.1469-0705.2002.00787.x.
 13. Jayaprakasan K, Campbell BK, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Three-dimensional ultrasound improves the interobserver reliability of antral follicle counts and facilitates increased clinical work flow. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:439-44, doi:10.1002/uog.5301.
 14. Forman RG, Robinson J, Yudkin P, Egan D, Reynolds K, Barlow DH. What is the true follicular diameter: an assessment of the reproducibility of transvaginal ultrasound monitoring in stimulated cycles. *Fertil Steril.* 1991;56:989-92.
 15. Ritchie WG. Ultrasound in the evaluation of normal and induced ovulation. *Fertil Steril.* 1985;43:167-81.
 16. Penzias AS, Emmi AM, Dubey AK, Layman LC, DeCherney AH, Reindollar RH. Ultrasound prediction of follicle volume: is the mean diameter reflective? *Fertil Steril.* 1994;62:1274-6.
 17. Raine-Fenning NJ, Clewes JS, Kendall NR, Bunkheila AK, Campbell BK, Johnson IR. The interobserver reliability and validity of volume calculation from three-dimensional ultrasound datasets in the in vitro setting. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:283-91.
 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? *Human Reprod.* 2007;22:1932-41, doi: 10.1093/humrep/dem104.

ARTIGO 5

Revisão sistemática da variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual

Publicado na Revista Reprodução e Climatério da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana



Artigo de revisão

Revisão sistemática da variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual[☆]



Aline Diniz Linhares^{a,*}, Fernanda Souza Chaves^a, Waldemar Naves do Amaral^{b,c}
e Eduardo Camelo de Castro^{a,d}

^a Ambulatório de Infertilidade, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

^b Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

^c Sociedade Brasileira de Ultrassom, São Paulo, SP, Brasil

^d Sociedade de Ginecologia e Obstetrícia de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 18 de junho de 2014

Aceito em 29 de junho de 2014

On-line em 20 de agosto de 2014

Palavras-chave:

Folículo ovariano

Ciclo menstrual

Ovário

Ultrassonografia

Hormônio anti-Mülleriano

Fertilidade

RESUMO

Objetivo: Fazer revisão dos estudos que avaliaram a variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual de mulheres eumenorreicas.

Método: Foi feita revisão sistemática de trabalhos que tiveram como objetivo avaliar a variação da contagem de folículos antrais ovarianos no ciclo menstrual publicados nos últimos 16 anos e disponíveis nas bases de dados científicas Medline, Lilacs e Scielo. Os descritores de busca foram *reserva ovariana*, *contagem de folículos antrais*, *ciclo menstrual* e *variação intracíclico*.

Resultados: Verificou-se a existência de 920 artigos. Foram selecionados sete publicados de 2002 a 2013. Quatro eram estudos prospectivos, um tratava-se de uma revisão sistemática e dois eram estudos experimentais.

Conclusão: A contagem de folículos antrais ovarianos parece não sofrer variação significativa no ciclo menstrual, principalmente quando se medem folículos antrais pequenos (2-6 mm).

© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

Systematic review of ovarian antral follicle count variation during menstrual cycle

ABSTRACT

Objective: To make a review of studies that assessed the variation in ovarian antral follicle count during menstrual cycle eumenorrhic women.

Method: A systematic review of studies that aimed to evaluate the variation of antral follicle count in the menstrual cycle from the last 16 years and that were available in scientific

Keywords:

Ovarian follicle

Menstrual cycle

Ovary

* Trabalho desenvolvido no Ambulatório de Infertilidade da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: alinedlinhares@gmail.com (A.D. Linhares).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2014.07.002>

1413-2087/© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Ultrasonography
Anti-Müllerian hormone
Fertility

databases Medline, Lilacs and Scielo was performed. The descriptors searched were ovarian reserve, antral follicle count, menstrual cycle and intra-cycle variation.

Results: 920 articles were found. From these, four of the 7 studies published in the years 2002 to 2013 were prospective studies, 1 was a systematic review and 2 were experimental studies.

Conclusion: The ovarian antral follicle count does not seem to suffer significant variation in the menstrual cycle, especially when measuring small antral follicles (2-6 mm).

© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

Os testes de reserva ovariana têm o objetivo de prever a resposta dos ovários nos ciclos de fertilização *in vitro*.¹ Métodos clínicos que avaliam essa função têm sido estudados e dentre eles destacam-se a contagem de folículos antrais (CFA) e o hormônio anti-Mülleriano (HAM).^{2,3} Vários estudos sugerem a estabilidade dos níveis do HAM ao longo dos ciclos menstruais,^{1,4-6} enquanto outros trabalhos mostram uma variação significativa nos níveis desse hormônio.⁷⁻⁹ Outros estudos mostram que o HAM tem forte correlação com a contagem de folículos antrais pequenos.¹⁰

Embora a CFA e o HAM pareçam ser igualmente preditivos da resposta ovariana durante os ciclos de reprodução assistida,^{11,12} a CFA é comumente feita por causa da disponibilidade de aparelhos de ultrassom em clínicas especializadas e da relativa facilidade com que pode ser executada.¹⁰ Atualmente, ela é feita com a contagem dos folículos de 2 a 10 mm em ambos os ovários durante a fase folicular precoce do ciclo menstrual, fase essa definida como do segundo ao quinto dia.¹³⁻¹⁷

Não há consenso sobre o tamanho dos folículos que devem ser incluídos na contagem total dos folículos antrais.¹⁸ Estudos atuais têm usado folículos que medem de 5 a 8 mm,^{13,19} 2 a 6 mm,^{20,21} 2 a 8 mm²² e 2 a 10 mm^{23,24} de diâmetro. A contagem dos folículos antrais subdividida em grupos de acordo com o tamanho dos folículos mostra que os grupos de menor tamanho podem melhorar o valor preditivo da CFA.¹⁰

A medição manual do número e do diâmetro de cada folículo, especialmente dos menores, é trabalhosa. Existe uma variação intra e interobservador na contagem de folículos antrais que se torna ainda mais evidente quando o diâmetro do folículo é incluído.¹⁰ O ultrassom tridimensional com suas várias opções de visualização melhora a confiabilidade da CFA e sua validade para prever o número de oócitos que podem ser recrutados para o tratamento de reprodução assistida.²⁵⁻²⁷

Foi introduzido um *software*, chamado SonoAVC, que calcula automaticamente as medidas e o volume dos folículos.^{28,29} Um trabalho recente mostrou que o SonoAVC com pós-processamento proporciona um alto grau de confiabilidade na CFA quando feita por dois examinadores diferentes ou pelo mesmo observador em dois momentos distintos. É superior tanto à técnica convencional bidimensional quanto à técnica manual de ultrassom tridimensional.³⁰

Estudos sobre confiabilidade e validade desses testes de reserva ovariana são baseados em testes feitos durante a fase

folicular precoce do ciclo menstrual. Essa janela de oportunidade relativamente pequena é restrita tanto para as pacientes quanto para as clínicas que executam os testes. Um teste ideal de reserva ovariana, além de confiável, deve ser independente do momento em que é feito no ciclo menstrual. Acredita-se que a CFA pode ser considerada como o teste de primeira escolha para avaliar pacientes com baixa reserva ovariana,¹ principalmente quando considerados folículos de menor diâmetro.

Este trabalho teve como objetivo fazer uma revisão sistemática dos estudos que avaliaram a variação da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual de mulheres eumeno-reicas.

Método

Revisão sistemática de trabalhos publicados de 1998 a 2013. As bases de dados consultadas foram Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (Medline), Literatura Latino-Americana e do Caribe (Lilacs) e Scientific Electronic Library Online (Scielo). Os descritores usados foram *reserva ovariana*, *contagem de folículos antrais*, *ciclo menstrual* e *variação intracíclica*.

Foram incluídos todos os estudos que avaliaram a variação da contagem de folículos antrais ovarianos no ciclo menstrual. Foram excluídos os trabalhos que incluíram mulheres com ciclos menstruais irregulares, cirurgia pélvica prévia, malformações do aparelho reprodutor, doenças ovarianas e doenças uterinas. A seleção dos estudos foi feita por dois autores de forma independente e cega. Nos casos em que houve discordância entre os dois autores, a opinião de um terceiro autor foi empregada.

Identificaram-se 920 artigos publicados a partir dos descritores e filtros usados. Procedeu-se à leitura dos resumos e foram selecionados 49 artigos que relacionavam a variação da contagem de folículos antrais durante o ciclo menstrual. A partir desses 49 artigos foram selecionados três que obedeciam ao critério de inclusão definido para este estudo. Após análise das listas de referências dos artigos selecionados verificou-se a possibilidade de inclusão de mais artigos que abordavam o tema. Foram incluídos mais quatro artigos que obedeciam aos critérios de inclusão propostos e totalizaram-se sete análises no estudo (fig. 1).

Para a análise dos dados fez-se a tabulação dos estudos encontrados com a distribuição de artigos por ano e por

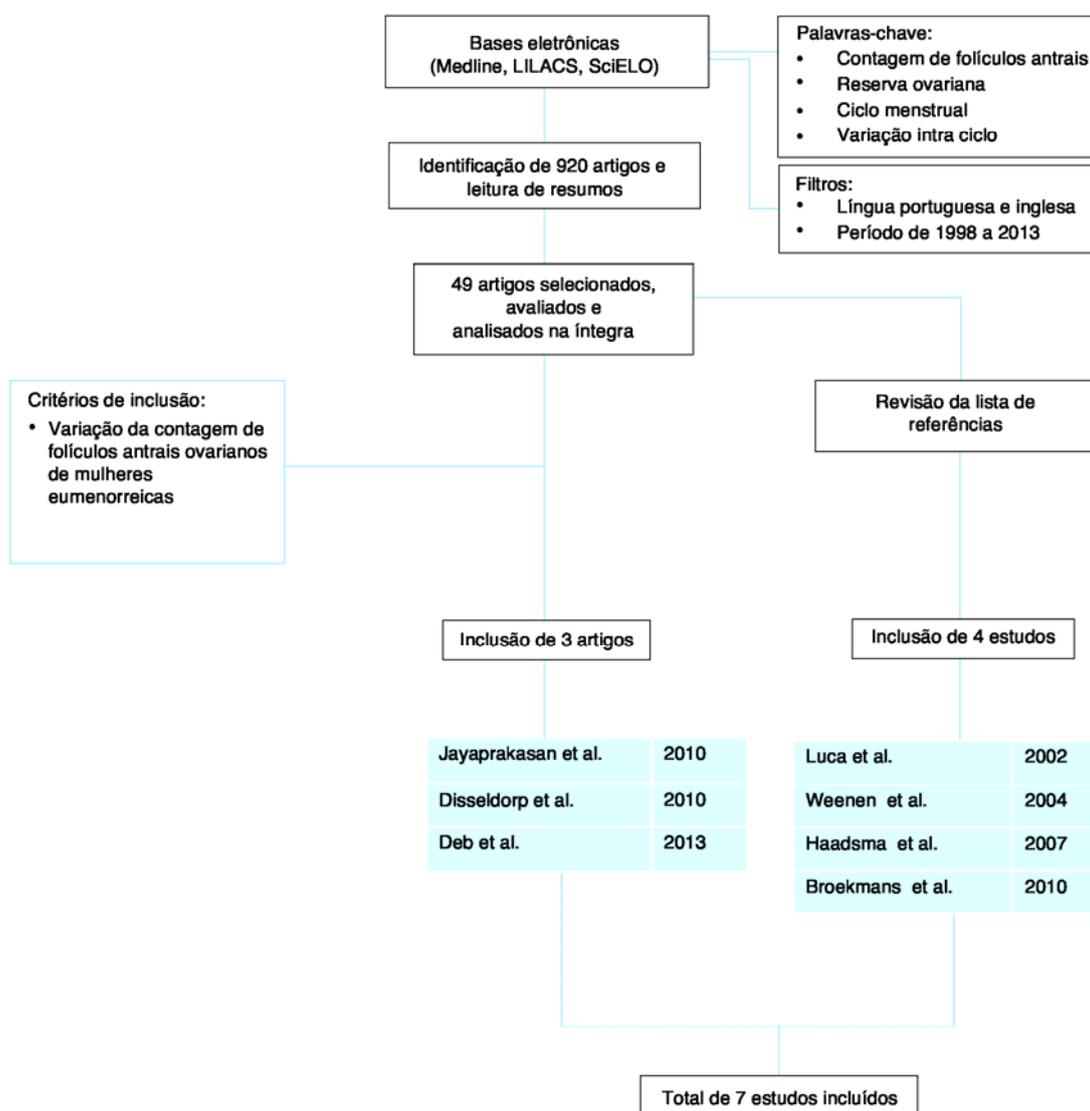


Figura 1 – Fluxograma da metodologia empregada na revisão sistemática.

resultados. Como se trata de revisão de dados da literatura, não foi necessária aprovação de Comitê de Ética em Pesquisa.

Resultados

A partir dos dados dos artigos foi construída a [tabela 1](#) para análise comparativa. Pode-se observar que dos sete artigos analisados, quatro usaram desenho prospectivo, um se tratava de revisão sistemática e dois consistiam em estudos experimentais. Não foram incluídos na [tabela 1](#) os dois estudos experimentais, assim como os dois prospectivos, por não fornecerem dados para análise comparativa.

O estudo mais antigo data de 2002 e foi feito por Luca et al.,³¹ na Espanha, enquanto o mais atual foi publicado em

Nottingham por Deb et al.,³² em 2013. A maior população estudada foi na Holanda, por Haadsma et al.,²¹ que avaliaram 474 pacientes. A menor, com 36 mulheres, foi estudada nos EUA por Deb et al., em 2013.³²

Discussão

No estudo de Broekmans et al.,³³ especialistas em medicina reprodutiva, médicos e cientistas se reuniram para fazer uma revisão sistemática da literatura sobre folículos antrais, a fim de padronizar a medição e a contagem de folículos antrais na prática clínica. Os autores concordaram que durante a fase folicular precoce os folículos antrais saudáveis tendem a ser de 4 a 6 mm de diâmetro. É possível que a contagem exclusiva

Tabela 1 – Síntese dos dados encontrados na revisão sistemática

REFERÊNCIAS (AUTORES)	ANO	LOCAL	POPULAÇÃO	DESENHO	DIÂMETRO FOLICULAR	FASE DO CICLO
Broekmans et al.	2010	Utrecht	-	Revisão sistemática	2-10 mm	Fase folicular precoce
Van Disseldorp et al.	2010	Utrecht	44 mulheres	Prospectivo	2-10 mm	Ao longo de todo o ciclo
Deb et al.	2013	Reino Unido	34 mulheres	Prospectivo	2-6 mm	Ao longo de todo o ciclo

desses folículos evite a inclusão de folículos atrésicos e a contagem superestimada de folículos antrais. O estudo comenta que a contagem de folículos antrais pequenos (2-5 mm) tem forte correlação com a contagem de folículos antrais maiores (2-10 mm) e que apenas alguns folículos de 6 a 10 mm são encontrados na fase folicular precoce. Portanto, para evitar o processo moroso de medição de cada folículo, foi recomendado que a contagem de folículos antrais de 2-10 mm de diâmetro proporcionaria um método mais prático para a avaliação da CFA na prática clínica.

Eles verificaram ainda que, mesmo quando os resultados da CFA são categorizados por tamanho, houve flutuações na contagem ao longo do ciclo menstrual. Esse achado contraindica a CFA em qualquer fase do ciclo menstrual. Por isso, a recomendação dos autores foi que a CFA fosse feita na fase folicular precoce para minimizar o efeito da flutuação intraciclo e reduzir a probabilidade de incluir incorretamente cistos ovarianos ou corpos lúteos coexistentes na CFA.

Em 2010, van Disseldorp et al.¹ fizeram estudo prospectivo com 44 mulheres que comparou a CFA e o HAM quanto à sua estabilidade ao longo de um ciclo ovariano completo. Segundo os autores, a CFA de 2-5 mm mostrou maior flutuação ao longo do ciclo do que a CFA de 2-10 mm. Dessa forma, caso a CFA seja usada para o rastreamento da reserva ovariana, defende-se a contagem de folículos de 2-10 mm, dada sua maior estabilidade ao longo do ciclo.

Essa padronização vai ao encontro do estudo de Broekmans et al.,³³ que defenderam a tese de que a CFA seja feita em folículos de 2-10 mm de diâmetro. Porém, no trabalho de Broekmans et al. essa contagem deve ser feita na fase folicular precoce do ciclo menstrual. Já no trabalho de van Disseldorp et al.,¹ ela pode ser feita em qualquer fase do ciclo.

O estudo prospectivo de Jayaprakasan et al.,¹⁰ feito com 113 mulheres, examinou a relação entre os folículos antrais, estratificados de acordo com o tamanho de cada folículo, e o HAM. A estratificação dos folículos antrais de acordo com o tamanho foi feita dividindo-os em grupos de 2-4 mm, 2-5 mm, 2-8 mm e 2-10 mm. Os dados desse estudo mostraram que os folículos menores, que medem 2-3 mm, > 3-4 mm, > 4-5 mm e > 5-6 mm, não só se correlacionam com níveis séricos de HAM, mas também com o número de oócitos maduros recuperados após a estimulação ovariana controlada. Por outro lado, o número de folículos antrais maiores que medem > 6-10 mm demonstrou uma fraca correlação com HAM e a resposta ovariana.

A correlação positiva entre a contagem de folículos antrais menores (2-6 mm) e o HAM, encontrada no artigo de Jayaprakasan et al.,¹⁰ corrobora os achados do estudo de Weenen et al.,³⁴ feito com tecido ovariano de 12 mulheres submetidas à ooforectomia. Nesse estudo, foi avaliada a expressão do HMA pela imunohistoquímica e não foi detectado HAM em folículos primordiais. Já em folículos na fase primária,

o HAM foi detectado. Quanto à fase secundária, em aproximadamente 75% dos folículos com quatro a seis camadas de células da granulosa foi positiva ou fortemente positiva para presença do HAM. A coloração mais forte, que indica grande presença de HAM, foi notada em folículos pré-antrais (mais de seis camadas de células da granulosa) e folículos antrais com menos de 4 mm. Dessa forma, desde a fase primária os folículos expressam HAM, porém essa expressão desaparece em folículos antrais de grande porte (6-8 mm) que serão submetidos ao recrutamento cíclico.

Assim como nos estudos de Jayaprakasan et al.¹⁰ e Weenen et al.,³⁴ no trabalho de Haadsma et al.²¹ foi reforçada a hipótese de que a população de folículos antrais menores representa o quantitativo da reserva ovariana funcional. Nesse estudo, feito com 474 pacientes inférteis, observou-se que a idade esteve associada a uma constante diminuição no número de folículos de 2-6 mm, enquanto que o número de folículos de 7-10 mm permaneceu constante. Na população estudada, o número de folículos de 2-6 mm declinou com a idade, enquanto o número de folículos grandes (7-10 mm) foi baixo e manteve-se relativamente constante com a idade.

É provável que a maioria desses folículos antrais maiores seja atrésica, como foi mostrado no estudo de Luca et al.,³¹ e não reflita verdadeiramente a reserva ovariana funcional. Esses achados sugerem que o número total de folículos que medem 2-6 mm seja o grupo mais apropriado a ser considerado na CFA total, em detrimento dos outros grupos de 2-5 mm, de 2-8 mm e de 2-10 mm, e pode melhorar a capacidade da CFA de prever a má resposta ovariana durante o tratamento de fertilização *in vitro* (FIV).

Deb et al.³² fizeram estudo prospectivo para quantificar as variações intraciclo na contagem de folículos antrais estratificados por grupos de diferentes tamanhos, volume ovariano, HAM, FSH, LH e estradiol em 34 mulheres voluntárias saudáveis com ciclos ovulatórios normais. Houve uma variação intraciclo significativa do FSH, LH, estradiol e volume ovariano, com uma acurácia aumentada quando essas variáveis foram medidas na fase folicular precoce. Por outro lado, a contagem de folículos antrais e o HAM mantiveram-se mais estáveis ao longo do ciclo. Houve apenas uma pequena, mas significativa, variação no HAM, principalmente na metade da fase lútea. Na estratificação dos folículos antrais em grupos pelo tamanho – os pequenos compreenderam os de 2-4 mm até os > 4 a 6 mm e os maiores os > 6 a 10 mm – constatou-se que não houve variação intraciclo nos folículos antrais pequenos que mediram até 6 mm, mas houve uma variação significativa nos folículos antrais grandes, com dimensão maior do que 6 mm.

Dessa forma, o estudo de Deb et al.³² está em consonância com os estudos de Jayaprakasan et al.,¹⁰ Weenen et al.³⁴ e Haadsma et al.²¹ Eles concluíram que a reserva ovariana

medida pela contagem de folículos antrais pequenos (2-6 mm) mostrou menor variação intracíclo. De acordo com os três primeiros autores há uma correlação positiva entre o HAM e a contagem de folículos antrais pequenos.

Deb et al.³² notaram um pequeno aumento nos níveis do HAM, principalmente na metade da fase lútea, que sugeriu um novo recrutamento de folículos pré-antrais e antrais precoces. Portanto, esses níveis aumentados poderiam prever de forma mais adequada a real resposta ovariana, mas não necessariamente a resposta à estimulação do ovário quando comparados com a contagem de folículos antrais pequenos. Futuros estudos destinados a avaliar a capacidade de previsão de resposta ovariana para o tratamento de reprodução assistida devem considerar a feitura desses testes em diferentes fases do ciclo menstrual.

A diferença entre os estudos de van Disseldorp et al.¹ e Deb et al.³² pode ser devida à diferença na metodologia dos trabalhos. No trabalho de Deb et al.³² foi usado o método de ultrassom 3 D (SonoAVC), em que é feita a contagem automatizada dos folículos antrais seguida de um pós-processamento. No trabalho de van Disseldorp et al.¹ foi usado o método manual de ultrassom 2 D, que pode superestimar o tamanho dos folículos.^{30,35}

No trabalho de Broekmans et al.,³³ um dos motivos pelos quais os especialistas indicaram a medição de folículos de 2-10 mm, além da correlação de folículos antrais pequenos (2-5 mm) com folículos antrais maiores (2-10 mm), foi a praticidade e a redução da morosidade proporcionadas pela medição de folículos antrais maiores. O surgimento de novas técnicas de ultrassom, como o SonoAVC, pode ser um facilitador para a contagem de folículos de menor diâmetro, já que torna a medição menos trabalhosa.

A maioria dos dados bibliográficos levantados concorda com que a reserva ovariana medida pela contagem de folículos antrais pequenos (2-6 mm) e HAM apresenta menor variação intracíclo. É consenso entre os artigos que o HAM não sofre flutuação ao longo do ciclo menstrual, mesmo no estudo de Deb et al.,³² em que houve uma variação pequena, mas significativa, na metade da fase lútea. Concluiu-se que isso não altera a confiabilidade do teste de prever a resposta ovariana. Em alguns artigos houve uma correlação positiva entre o HAM e a contagem de folículos antrais, especialmente os folículos pequenos (< 6 mm), o que indica que a contagem de folículos antrais menores do que 6 mm pode ser feita em qualquer fase do ciclo menstrual.

Conclusão

A CFA parece não sofrer variação significativa em um ciclo menstrual, principalmente quando contados apenas os folículos antrais pequenos (2-6 mm). Todavia, ainda não há consenso sobre a estabilidade da CFA ao longo do ciclo. Dessa forma, mais estudos são necessários para esclarecer se a CFA deve ser feita apenas na fase folicular precoce ou se pode ser feita em qualquer fase do ciclo menstrual. Novas técnicas de ultrassom com o uso do modo tridimensional demonstraram maior sensibilidade na detecção de folículos antrais menores, o que pode aumentar a confiabilidade dos estudos que envolvem a CFA.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CW, Eijkemans MJ, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod.* 2010;25(1):221-7, doi: 10.1093/humrep/dep366.
2. 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;94(6):2182-5, doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.12.045.
3. Almog B, Shehata F, Suissa S, Holzer H, Shalom-Paz E, La Marca A, et al. Age-related normograms of serum anti-Müllerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. *Fertil Steril.* 2011;95(7):2359-63, 2363.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.02.057.
4. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(10):4057-63, doi: http://dx.doi.org/10.1210/jc.2006-0331.
5. La Marca A, Stabile G, Arsenio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Human Reprod.* 2006;21(12):3103-7, doi: 10.1093/humrep/del291.
6. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy CH, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1837-40, doi: 10.1093/humrep/dem101.
7. Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME. Serum Müllerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil Steril.* 2000;73(4):859-61, doi: 10.1016/S0015-0282(99)00639-1.
8. 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, doi: 10.1093/humrep/dei203.
9. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhäuser MH. Statistically significant changes of anti-Müllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril.* 2008;89(4):927-33, doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.04.054.
10. Jayaprakasan K, Deb S, Batcha M, Hopkinson J, Johnson I, Campbell B, et al. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Müllerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2010;94(5):1775-81, doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.10.022.
11. Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkinson J, Johnson I, Raine-Fenning N. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2010;93(3):855-64, doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.10.042.
12. Broer S, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of anti-Müllerian hormone in prediction of outcome after IVF:

- comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril*. 2009;91(3):705-14, doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.12.013.
13. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril*. 1998;69(3):505-10, doi: 10.1016/S0015-0282(97)00557-8.
 14. Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remohí J, Simón C, Bonilla-Musoles F. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle-stimulating hormone using three-dimensional ultrasonography. *Fertil Steril*. 1998;70(4):671-5, doi: 10.1016/S0015-0282(98)00268-4.
 15. Pellicer A, Gaitán P, Neuspiller F, Ardiles G, Albert C, Remohí J, et al. Ovarian follicular dynamics: from basic science to clinical practice. *J Reprod Immunol*. 1998;39(1-2):29-61, doi: 10.1016/S0165-0378(98)00012-6.
 16. 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, doi: 10.1016/S0015-0282(99)00396-9.
 17. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, te Jong FH, et al. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod*. 2003;18(4):700-6, doi: 10.1093/humrep/deg135.
 18. 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, doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.10.011.
 19. 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*. 2002;77(2):328-36, doi: 10.1016/S0015-0282(01)02983-1.
 20. 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, doi: 10.1023/A: 1009424407082.
 21. Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EM, 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, doi: 10.1093/humrep/dem081.
 22. Sharara FI, McClamrock HD. Antral follicle count and ovarian volume predict IVF outcome. *Fertil Steril*. 2000;74(3):S176, doi: 10.1016/S0015-0282(00)01232-2.
 23. 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, doi: 10.1023/A: 1016688806431.
 24. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2003;80(2):350-5, doi: 10.1016/S0015-0282(03)00664-2.
 25. Raine-Fenning NJ, Lam PM. Assessment of ovarian reserve using the inversion mode. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006;27(1):104-6, doi: 10.1002/uog.2683.
 26. Jayaprakasan K, Walker KF, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. The interobserver reliability of off-line antral follicle counts made from stored three-dimensional ultrasound data: a comparative study of different measurement techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29(3):335-41, doi: 10.1002/uog.3913.
 27. 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, doi: 10.1093/humrep/dem104.
 28. Raine-Fenning N, Jayaprakasan K, Clewes J, Joergner I, Bonaki SD, Chamberlain S, et al. SonoAVC: a novel method of automatic volume calculation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;31(6):691-6, doi: 10.1002/uog.5359.
 29. Raine-Fenning N, Jayaprakasan K, Chamberlain S, Devlin L, Priddle H, Johnson I. Automated measurements of follicle diameter: a chance to standardize? *Fertil Steril*. 2009;91 4 Suppl:1469-72, doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1719.
 30. Deb S, Jayaprakasan K, Campbell BK, Clewes JS, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Intraobserver and interobserver reliability of automated antral follicle counts made using three-dimensional ultrasound and SonoAVC. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;33(4):477-83, doi: 10.1002/uog.6310.
 31. Luca X, Martínez EA, Roca J, Vázquez JM, Gil MA, Pastor LM, et al. Relationship between antral follicle size, oocyte diameters and nuclear maturation of immature oocytes in pigs. *Theriogenology*. 2002;58(5):871-85, doi: 10.1016/S0093-691X(02)00699-4.
 32. Deb S, Campbell BK, Clewes JS, Pincott-Allen C, Raine-Fenning NJ. Intracycle variation in number of antral follicles stratified by size and in endocrine markers of ovarian reserve in women with normal ovulatory menstrual cycles. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41(2):216-22, doi: 10.1002/uog.11226.
 33. 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, doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.04.040.
 34. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(2):77-83, doi: 10.1093/molehr/gah015.
 35. Deb S, Campbell BK, Clewes JS, Raine-Fenning NJ. Quantitative analysis of antral follicle number and size: a comparison of two-dimensional and automated three-dimensional ultrasound techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010;35(3):354-60, doi: 10.1002/uog.7505.

ANEXOS

ANEXO 1

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Variação da Contagem Semiautomática dos Folículos Antrais em Ciclo Menstrual.

Pesquisador: EDUARDO CAMELO DE CASTRO

Área Temática: Área 2. Reprodução Humana.

(Trata-se de pesquisa envolvendo reprodução humana não contemplada acima.);

Versão: 4

CAAE: 16397813.1.0000.5078

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas Universidade Federal de Goiás - GO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 335.058

Data da Relatoria: 15/07/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo de contagem de folículos antrais (CFA) por ultrassonografia, em mulheres em eumenorréicas, adultas. O pesquisador descreve de maneira resumida sobre a infertilidade, porém descreve de forma um pouco mais aprofundada sobre os métodos de avaliação da infertilidade, dentre eles destaca a CFA e a dosagem sanguínea do Hormônio Anti-Mülleriano (HAM). Em relação à CFA, descreve as controvérsias em relação ao valor das diversas espessuras do folículo em relação ao ciclo menstrual e à reserva ovariana, podendo assim estas avaliações dos folículos antrais contribuir para o auxílio no diagnóstico do estado de fertilidade.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a variação da contagem semiautomática dos folículos antrais no ciclo menstrual usando ultrassom tridimensional (3D) em mulheres eumenorreicas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos foram bem descritos, como baixos, uma vez que a proposta é avaliar pacientes que procuram atendimento para investigação e tratamento de infertilidade. Nestas pacientes a ultrassonografia é feita rotineiramente, sendo então acrescentado ao exame ultrassonográfico

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica

Bairro: St. Leste Universitario

CEP: 74.605-020

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3269-8338

Fax: (62)3269-8426

E-mail: cephcfg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 335.058

aCFA. O pesquisador descreve os benefícios que poderão ser alcançados tais como inclusão do exame no elenco de métodos diagnósticos de infertilidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Ver considerações em conclusões

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Ver considerações em conclusões

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

TCLE continua com inconformidades, não está descrito com clareza o procedimento do estudo e sua importância, tais como esclarecimento quanto ao procedimento de realização de ultrassonografia transvaginal, e outras informações importantes para o participante da pesquisa; Solicitamos ao pesquisador que elabore o TCLE conforme o que recomenda a Res.CNS 466/2012 que diz no item IV:"DO PROCESSO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ...Entende-se por Processo de Consentimento Livre e Esclarecido todas as etapas a serem necessariamente observadas para que o convidado a participar de uma pesquisa possa se manifestar, de forma autônoma, consciente, livre e esclarecida. Diz ainda no item IV.3: "O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá conter, obrigatoriamente:a) justificativa, os objetivos e os procedimentos que serão utilizados na pesquisa, com o detalhamento dos métodos a serem utilizados, informando a possibilidade de inclusão em grupo controle ou experimental, quando aplicável;b) explicitação dos possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa, além dos benefícios esperados dessa participação e apresentação das providências e cautelas a serem empregadas para evitar e/ou reduzir efeitos e condições adversas que possam causar dano, considerando características e contexto do participante da pesquisa; c) esclarecimento sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa, inclusive considerando benefícios e acompanhamentos posteriores ao encerramento e/ou a interrupção da pesquisa;g) explicitação da garantia de ressarcimento e como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes;h) explicitação da garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa." PENDÊNCIA ATENDIDA.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8426 E-mail: cephcfg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 335.058

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, a Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas/UFG - CEP/HC/UFG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

GOIANIA, 16 de Julho de 2013

Assinador por:
JOSE MARIO COELHO MORAES
(Coordenador)

Farm. José Mario Coelho Moraes
Coordenador do Comitê de Ética e Pesquisa
Hospital das Clínicas / UFG

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8426 E-mail: cephcufg@yahoo.com.br

Página 03 de 03

ANEXO 2

Normas de publicação para a revista Reprodução e Climatério

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.

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 para 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. 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

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 Ensaios 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) 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: rbugo@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). 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/defthtm.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[®]), .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

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.

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.

ANEXO 4

Descrição do Aparelho de Ultrasom

Anexo 4: Descrição do Aparelho de Ultrassom

O Voluson® E6 é um sistema de captura de imagem profissional, inovador e versátil.

Este aparelho apresenta novas possibilidades de sonografia com as técnicas de varredura de volume 3D/4D. O vasto arranjo de transdutores faz com que ele seja adequado para muitas aplicações.

Possibilidades de diagnóstico:

Modo 2D

Modos de operação adicionais (B-Flow, XTD-View)

Modo M (M+Modo de Fluxo Colorido/Color Flow Mode)

Doppler Espectral (Onda Pulsada e Contínua)

Doppler Colorido (Velocidade, Potência, Imagiologia de tecidos e HDFlow)

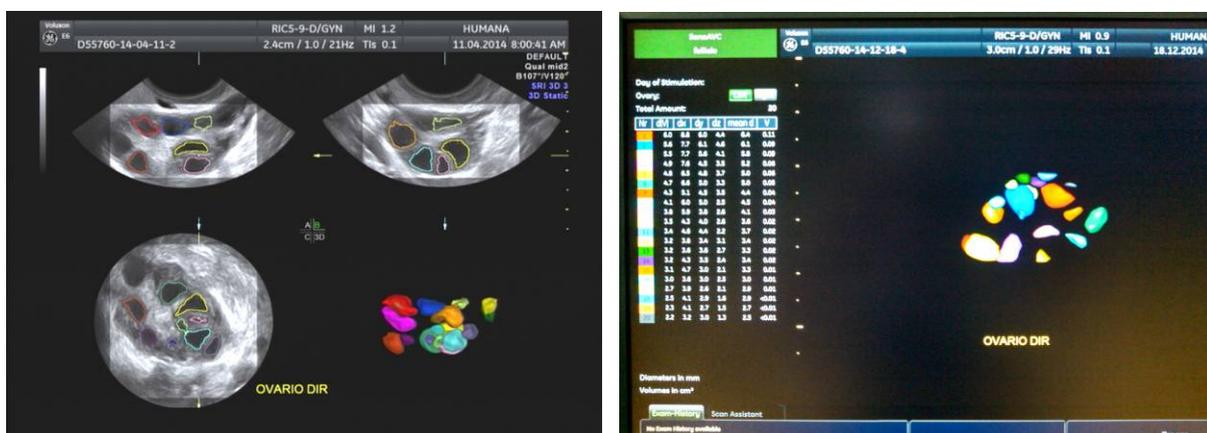
Modo Volume (análise de imagem seccional em 3D, execução em 3D interativo e 4D em tempo real)

O modo Volume permite examinar um volume de tecido e realizar posteriormente a análise tridimensional do mesmo. O modo volume oferece acesso a seções inatingíveis com a técnica de exame 2D. Uma interface paralela permite memorizar dados de volume num disco rígido para repetir a análise em qualquer momento.

SonoAVC

SonoAVC é um software inovador desenvolvido para calcular automaticamente o número e o volume de estruturas hipoecóicas a partir de uma imagem volumétrica 3D do ovário.

Este recurso ajuda a detectar objetos pouco ecogênicos (ex. folículos) em um órgão (ex. ovário) e analisar a forma e o volume. A partir do volume calculado do objeto pode ser calculado um diâmetro médio. Todos os objetos detectados dessa forma serão listados de acordo com o tamanho em uma tabela.



Contagem dos folículos antrais realizada pelo modo volume do Voluson E6® com Sono AVC. A cada folículo está atribuída uma cor específica. Na tela da esquerda os valores dos volumes dos folículos exibidos em ordem decrescente.