

Ovarian reserve markers and antral follicle count

Marcadores de reserva ovárica e contagem de folículos antrais

Renata Verissimo*, Margarida Silvestre**

Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra - CHUC, EPE

Abstract

Ovarian reserve plays a crucial role in achieving pregnancy following any treatment in subfertile women. The estimation of ovarian reserve is routinely performed through various ovarian reserve tests. These tests include hormonal parameters and those using exogenous hormones and transvaginal pelvic ultrasound. However, their reliability is variable. Recently, anti-Müllerian hormone emerged as a promising marker of ovarian reserve. In this paper we revise the role of hormonal basal, dynamic tests and ultrasonographic parameters as ovarian reserve markers, focusing on their interpretation, potential advantages and risks in order to provide its applicability to gynecological practice.

Keywords: Fertility; Ovarian follicle; Ultrasonography; Antral follicle count.

INTRODUÇÃO

Considerando as tendências mais recentes de gravidez em idades mais tardias e o consequente aumento da procura das Técnicas da Procriação Medicamente Assistida (PMA), a avaliação da reserva ovárica tem surgido como ferramenta de aconselhamento aos casais, auxiliando o clínico na previsão da resposta folicular e das taxas de sucesso e guiando-o na elaboração de protocolos de estimulação ovárica controlada individualizados¹.

A reserva ovárica é resultante da qualidade e quantidade de ovócitos³ e traduz o *pool* de folículos ováricos disponíveis para recrutamento. A sua diminuição resulta num processo de declínio da fecundidade associado tanto à depleção folicular dos ovários, quanto à diminuição da qualidade ovocitária³.

É de salientar que a verdadeira reserva ovárica diz respeito ao número de folículos primordiais existentes nos ovários, apenas demonstrável histologicamente. Contudo, a ecografia e os doseamentos hormonais são instrumentos que se correlacionam fidedignamente com a reserva ovárica e, por isso, aceites como marcadores⁴.

Os testes de reserva ovárica têm o objectivo de pre-

ver a resposta dos ovários nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV)⁵. Cada teste tem uma acuidade diferente para prever os resultados destes ciclos em termos de ocorrência de gravidez². O melhor teste deve ser capaz de identificar as mulheres cujas hipóteses de gravidez espontânea sejam tão diminuídas que seria apropriado submetê-las a estimulação ovárica terapêutica ou identificar mulheres cujas hipóteses de gravidez após PMA seriam tão próximas do zero que não seria justificável submetê-las aos potenciais efeitos adversos da estimulação com gonadotrofinas exógenas. Ainda que estes testes sejam frequentemente designados de «testes de reserva ovárica» eles são mais de resposta ovárica, uma vez que ainda não foi demonstrado estarem directamente relacionados com o número de folículos primordiais⁶.

A reserva ovárica pode variar de forma significativa entre mulheres da mesma idade. Sugere-se portanto que apenas a idade não preveja de forma confiável a capacidade reprodutiva. Por essa razão, têm sido estudados métodos clínicos e laboratoriais destinados a avaliar essa função³.

Uma previsão da resposta ovárica antes da estimulação é útil para o aconselhamento de pacientes e para escolha individualizada da dosagem de gonadotrofina na estimulação ovárica para ciclos de FIV².

Um marcador de reserva ovárica ideal deve ser facilmente mensurável, pouco ou nada invasivo, barato e ter

*Interna do Internato de Obstetrícia e Ginecologia

**Especialista de Obstetrícia e Ginecologia

um elevado valor preditivo¹.

O conhecimento da reserva ovárica através da utilização destes marcadores assume importância clínica na avaliação do *pool* folicular, na avaliação da fertilidade para indução da ovulação adequada a cada paciente, na predição da falência ovárica fisiológica e na predição da capacidade de concepção (espontânea ou com tratamento)⁷.

Os marcadores de reserva ovárica podem ser divididos em marcadores clínicos, endócrinos estáticos, endócrinos dinâmicos e ecográficos. Os marcadores clínicos incluem a idade e o padrão menstrual; os endócrinos estáticos os doseamentos de hormona foliculoestimulante (FSH), de inibina-B, de estradiol (E₂) e de hormona antimulleriana (HAM); os marcadores endócrinos dinâmicos incluem o teste do citrato de clomifeno (TCC), o teste de estimulação de análogos da hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH) e o teste de FSH exógeno. Fazem parte dos marcadores ecográficos a contagem de folículos antrais (CFA), o volume ovárico e o fluxo arterial ovárico¹.

Os autores fazem uma revisão de extrema importância nos tempos actuais, em que se observa um aumento dos casos de infertilidade diagnosticados na prática clínica e na procura das técnicas de reprodução medicamente assistida, subjacentes à tendência de primeiras gestações em idades mais tardias. Dada a variada utilização dos marcadores de reserva ovárica e as controvérsias verificadas nos diversos estudos presentes na literatura, o objectivo desta revisão centra-se na determinação da melhor abordagem e do marcador mais sensível e mais específico.

DISCUSSÃO

Idade

A idade é considerado o factor individual mais importante na determinação da qualidade e quantidade da reserva ovárica. Quer a quantidade, quer a qualidade dos folículos diminuem significativamente com a idade, culminando na menopausa¹. A velocidade dessa diminuição depende da população folicular remanescente, aumentando a partir dos 37 anos⁸.

O principal objectivo da avaliação da reserva ovárica, especialmente antes das técnicas de PMA, é a identificação de mulheres com uma reserva ovárica pobre para a sua idade. É por isso que a idade deve ser o primeiro marcador a ser considerado na avaliação da reserva ovárica⁸.

Sabe-se que mulheres que se submetem a inseminação intrauterina com espermatozoides de dador apresentam taxas mais baixas de concepção ou necessitam de mais ciclos para atingir a gravidez após os 35A¹.

Contudo, a idade isoladamente não assegura um determinado padrão de resposta ovárica à estimulação ovárica controlada nos ciclos FIV. Segundo alguns 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. 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 factores, muitos deles desconhecidos².

Ainda que em mulheres da mesma idade este declínio possa ser consideravelmente diferente, a idade permanece o marcador de primeira linha a ter em conta quando se pretende recorrer a técnicas de PMA, sendo o mais importante indicador da quantidade e da qualidade dos ovócitos⁹. Contudo, isoladamente não demonstra um elevado valor preditivo, sendo por isso necessário associá-lo a outros parâmetros¹⁰.

Padrão Menstrual

Os dados epidemiológicos demonstraram claramente que os ciclos menstruais variam em duração e frequência e que, muitas vezes, existe uma correlação entre as características do ciclo menstrual e uma variedade de factores inerentes à própria mulher, comportamentais e ambientais. Contudo, poucos estudos estudaram sistematicamente quando é que as características do ciclo menstrual estão relacionadas com medidas mais directas de fertilidade e probabilidade de gravidez. O padrão menstrual é usualmente aceite como sendo regular para cada mulher até aos 40 anos altura em que a duração dos ciclos aumenta, antes da menopausa¹¹.

A duração do ciclo menstrual é suposto ser determinada pela taxa e qualidade de crescimento folicular e, assim sendo, pela duração da fase folicular¹.

A diminuição do número de folículos, associada a uma diminuição do número de células funcionais da granulosa, causa inicialmente uma redução na secreção de inibina B. A consequência é um aumento da secreção de FSH na fase lútea tardia e na fase folicular, que podem, por seu turno, conduzir a uma iniciação precoce do desenvolvimento folicular e a um encurtamento da fase folicular. Intuitivamente, mulheres jovens com maior número de folículos primordiais po-

dem frequentemente apresentar ciclos maiores do que 30 dias¹¹.

Evidências recentes mostraram que os ciclos menstruais longos estão associados a um maior número de folículos antrais e a uma maior resposta ovárica à estimulação hormonal. Por outro lado, ciclos curtos estão associados a uma pobre resposta à hiperestimulação ovárica, marcador de envelhecimento ovárico¹.

FSH

Sabe-se que a FSH desempenha um papel importante no recrutamento e na maturação dos folículos primordiais para ovócitos maduros, para além de induzir a produção ovárica de estrogénios pela via da enzima aromatase. Uma diminuição do *pool* folicular leva a uma diminuição da produção de estradiol e inibina B e, consequentemente, a uma diminuição do *feedback* negativo sobre a hipófise e o hipotálamo, o que conduz ao aumento da FSH¹².

A determinação da FSH na fase folicular precoce é o teste endócrino mais estudado e usado na avaliação da reserva ovárica. A determinação no soro no segundo ou terceiro dia do ciclo pode ser realizada de forma barata e fácil, apesar da sua secreção pulsátil e circadiana pela hipófise, que conjuntamente com flutuações séricas de isoformas da mesma, podem induzir em erros. Níveis persistentemente elevados relacionam-se de forma consistente com a diminuição da reserva ovárica. Foi, no entanto, demonstrado que as taxas de gravidez em mulheres com menos de 35 anos com valores elevados de FSH eram superiores àquelas de mulheres mais velhas com valores normais desta hormona, reforçando a idade como um marcador de reserva ovárica¹.

Já em 2000 Montfrans *et al.* sugeriram que a determinação basal de FSH não deveria ser decisiva na abordagem inicial da mulher infértil com ciclos clínicos regulares, uma vez que a gravidez ocorria em cerca de metade das mulheres com níveis séricos elevados desta hormona¹³.

A FSH é usada de forma habitual como marcador de reserva ovárica; contudo não se provou ser útil como preditora de fertilidade, uma vez que os aumentos de FSH aparecem tardiamente, perto da menopausa. Medições de FSH seriada poderiam ser de maior utilidade como preditoras a curto prazo de envelhecimento ovárico¹⁴.

Além disso, este marcador pode não se correlacionar diretamente com a idade, o que permite inferir a sua limitação como preditor fidedigno de capacidade reprodutiva^{17,18}.

Por outro lado, não existe uniformidade de critérios quanto ao ponto de corte, estabelecendo-se entre 10-11,1 mIU/mL para uns autores (segundo e terceiro dia do ciclo), enquanto para outros se situaria em valores superiores a 15UI/mL. A sua acuidade na predição de má resposta à estimulação nas PMA foi considerada dependente de um limite de valores séricos muito alto¹.

A variação mensal do seu valor pode ocorrer devido à persistência do corpo lúteo, acompanhado por um valor elevado de progesterona e baixos níveis de E₂¹⁶.

Muitos centros ainda utilizam esta hormona sem considerar as suas limitações, que para além da grande variabilidade inter e intracíclico, incluem a interferência de factores como o tabagismo e as disparidades entre ensaios clínicos, uma vez que é acessível, de baixo custo, e pode ser útil na avaliação de grupos específicos de mulheres inférteis, tais como aquelas com ciclos anovulatórios, endometriose e com mais de 35 anos¹.

Inibina B

A Inibina B é uma hormona secretada pelas células da granulosa e da teca do ovário. Inibe a secreção de FSH e tem uma acção parácrina no desenvolvimento dos folículos. Alguns estudos apresentam uma grande sensibilidade e especificidade deste teste; outros, contudo, não recomendam o seu uso isolado como um preditor de reserva ovárica¹.

É um biomarcador plausível de reserva ovárica porque a sua diminuição conduz a um aumento da FSH e é produzida por pequenos folículos pré-antrais e folículos antrais¹⁹. No entanto, foi observada uma variabilidade interciclo nas concentrações deste marcador¹.

Uma diminuição dos níveis de inibina B no terceiro dia do ciclo pode prever uma baixa reserva ovárica antes mesmo do aumento esperado da FSH basal. Alguns autores, entretanto, sugerem que esse teste não seja usado para prever a resposta de tratamentos de FIV, já que pode ser influenciado por outros factores, como por exemplo a quantidade de gordura corporal⁸.

Apresenta uma correlação negativa com a FSH e uma positiva com a CFA¹. Não está, no entanto, correlacionada com a idade¹⁹.

A elevada taxa de falsos positivos implica cuidado na sua utilização, nomeadamente na exclusão de pacientes para FIV. A sua acuidade, mesmo usando níveis muito baixos na predição de má resposta, foi apenas moderada quando comparada a outros marcadores disponíveis¹.

Os ensaios realizados com esta hormona mostraram-se inconsistentes na prática devido à variabilidade en-

tre estudos e à falta de precisão dos mesmos¹⁵.

Estradiol

O estradiol é uma hormona esteróide produzida pelas células da granulosa dos folículos ováricos. Os níveis de E₂ são rotineiramente avaliados durante a fase folicular precoce do ciclo menstrual como parte do perfil hormonal, uma vez que é um teste simples, barato e uma ferramenta de rastreio eficaz⁷.

Existe uma relação directa entre a idade avançada e os níveis séricos basais elevados de E₂¹. Níveis séricos muito elevados nos primeiros dias do ciclo menstrual (>75pg/mL) também se encontram associados a má resposta ovárica em ciclo de FIV e a baixas taxas de gravidez⁷.

Elevações precoces de E₂ são entendidas como consequência do avançado desenvolvimento folicular e selecção precoce do folículo dominante observados em mulheres mais velhas¹.

Apesar do seu valor como teste preditivo de função ovárica ser escasso, a medição de FSH e E₂ basais no terceiro dia do ciclo pode, no entanto, ajudar a diminuir a incidência de falsos negativos baseados na medição de FSH isolada; quando ambos os marcadores se encontram elevados é muito provável a ocorrência de uma baixa resposta¹.

Hormona Anti-muleriana

A HAM é uma glicoproteína produzida na mulher adulta pelas células da camada granulosa de folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais logo que os folículos primordiais são recrutados, ainda que alguns autores defendam que seja também segregada por folículos secundários²⁰.

A sua actividade biológica não é totalmente compreendida; pode agir como um modulador do recrutamento do folículo e um regulador da esteroidogénese ovárica¹. Sabe-se que inibe a transição de folículos primordiais para folículos primários; logo, na sua ausência, ocorre uma aceleração no recrutamento dos folículos primordiais o que resulta numa prematura exaustão folicular²⁰. A sua expressão é mantida até que os folículos atinjam 6 mm de tamanho, altura em que os folículos pré-antrais/antrais iniciais são seleccionados para dominância¹.

Experiências em ratos demonstraram que na ausência desta hormona os níveis de FSH eram baixos; porém, o número de folículos em crescimento estava aumentado, evidenciando o aumento da sensibilidade dos folículos à FSH na ausência de HAM e suportan-

do a hipótese que a HAM é decisiva no crescimento dos folículos ováricos FSH-dependentes²¹.

É considerada um marcador que pode estimar a quantidade e actividade dos folículos recrutáveis em estágios precoces da maturação, sendo mais fiável para a predição da resposta ovárica e do potencial reprodutivo¹.

A redução do valor plasmático desta hormona, após os 20 anos, antecede a diminuição da capacidade reprodutiva da mulher que se inicia por volta dos 30 anos²⁰. Ainda assim, e comparando com marcadores como a CFA e a FSH, é apontada pela literatura mais recente como o marcador mais sensível no que diz respeito ao envelhecimento reprodutivo²².

A reprodutibilidade da HAM entre ciclos foi também demonstrada; pequenas variações nos níveis séricos entre ciclos foram encontradas quando comparadas com aquelas detectadas para a FSH, inibina B, E₂ ou CFA. É considerado melhor marcador que a idade na predição da resposta ovárica à estimulação exógena, com uma *performance* semelhante à CFA¹.

A falta de um *cut-off* consensual, combinando uma especificidade e sensibilidade satisfatórias, continua a representar uma limitação. Em 2005 Muttukrishna *et al.* apresentaram um estudo que demonstrava uma sensibilidade de 87% e especificidade de 64% para um *cut-off* 0,2ng/mL da HAM. Em 2007, La Marca *et al.* validaram o uso desta hormona na predição de uma má resposta à estimulação com valores de sensibilidade de 80% e especificidade de 93%, quando um limite de 0,75ng/mL foi considerado¹.

A relação entre o valor plasmático da HAM e o número de folículos recrutados após um ciclo FIV demonstra a capacidade desta hormona em distinguir mulheres com baixa (< 1ng/ml), média (1-4ng/ml) ou elevada capacidade reprodutiva (>4ng/ml)¹⁰. Relativamente ao valor de HAM na previsão do risco de síndrome de hiperestimulação ovárica Lee *et al.* e Nardo *et al.* calcularam uma *performance* semelhante para a HAM. O valor do *cut-off* relatado é de 3,5ng/ml, acima do qual a hiper resposta ou o síndrome de hiperestimulação ovárica pode ser antecipado.

Em 2011 foram publicados pela *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) os critérios de Bolonha, assentes no consenso da definição de pobre resposta ovárica (POR) na FIV. Pelo menos dois de três critérios têm que estar presentes: idade materna avançada (>40anos) ou outro fator de risco para má resposta; antecedentes de POR (considerada ≤3 oócitos com um protocolo de estimulação convencio-

nal); teste de reserva ovárica anormal (considerando uma CFA entre cinco-sete folículos e valores de HAM entre 0,5-1,1ng/ml)²³. Alguns autores consideram que um *cut-off* da HAM acima de 1,05ng/ml prediz uma melhor resposta em mulheres com diminuição da reserva ovárica; contudo, pode ocorrer uma gravidez de nado-vivo, mesmo com níveis indetectáveis de HAM²⁴.

Por estes motivos, a medição da HAM previamente a um ciclo FIV pode permitir aos clínicos determinar a dose adequada de FSH exógena para cada mulher, apoiando a maioria dos estudos, considerando-se que quanto maior o valor de HAM, menor será a dose necessária de FSH exógena para estimulação ovárica adequada²⁵.

Apesar de tudo, nenhum marcador é perfeito e esta hormona pode não predizer a qualidade ovocitária. Mulheres novas com baixos níveis de HAM podem ter poucos ovócitos, mas estes podem ser de qualidade normal¹.

Tem surgido informação contraditória acerca da variação da HAM em diferentes fases do ciclo menstrual. Artigos mais antigos referiam que a HAM era estável durante o ciclo menstrual, mas estudos mais recentes contrariaram esta ideia²⁶.

Os autores que defendem o uso da HAM como método auxiliar de diagnóstico para informar as pacientes sobre a probabilidade de gravidez num tratamento de PMA, afirmam que este marcador não deverá ser utilizado isoladamente, mas em associação com a idade cronológica da paciente e com a CFA²⁷.

Teste do Citrato de Clomifeno

Um dos testes utilizados para pesquisar a reserva folicular em pacientes inférteis é o TCC. Esse teste consiste no doseamento de FSH sérica no terceiro e décimo dias do ciclo menstrual, e na administração de 100 mg de citrato de clomifeno via oral do quinto ao nono dia. Um valor total de FSH acima de 26 UI, resultante da soma dos níveis séricos dos dias 3 e 10, representa um resultado anormal, indicando baixa resposta funcional e um prognóstico desfavorável para tratamentos de infertilidade⁸.

Um estudo prospectivo realizado em 2005 comparou a CFA com a concentração de FSH após o TCC, tendo observado que a CFA apresenta um melhor valor preditivo em relação ao número de ovócitos aspirados².

Este teste é amplamente aceite como indicador prognóstico nas PMA, com um alto valor preditivo

positivo e negativo; contudo, existe controvérsia relativamente ao seu uso como marcador de reserva ovárica¹⁴. Em publicações recentes não foi demonstrada evidência suficiente para a suportar como ferramenta prognóstica¹.

Teste de estimulação dos análogos da gonadotrofina

O teste de estimulação dos análogos da gonadotrofina é outro teste de simulação que avalia a alteração nos níveis de estradiol no segundo e terceiro dias do ciclo menstrual, após administração subcutânea de um agonista da GnRH (1mg de acetato de leuprolide). A administração do agonista provoca uma libertação temporária de FSH e de hormona luteinizante (LH), o que por sua vez aumenta a produção de E₂ dentro de 24 horas. Um aumento significativo ou *flare* de E₂ como resposta a esta estimulação reflecte a quantidade de folículos recrutáveis na fase folicular precoce, o que é, por seu lado representativo da reserva ovárica²⁸.

No entanto, à semelhança do teste anterior, não constitui um teste elegível para usar por rotina, pelo baixo grau de evidência que se encontra demonstrado na literatura¹.

Teste de FSH exógena

O teste de FSH exógena consiste na administração de 300 UI de FSH recombinante subcutânea no terceiro dia do ciclo menstrual. Determina-se o E₂ e a FSH antes da administração e 24 horas depois. A mesma falta de parâmetros uniformes não o permite utilizar como um teste de determinação da reserva ovárica¹.

Foi defendido que este teste seria melhor preditor do número de folículos obtidos após PMA, ainda que exista grande controvérsia neste sentido. O seu uso não está indicado, devido aos elevados custos e ao risco de hiperestimulação ovárica, pelo que se reserva apenas para casos excepcionais¹⁴.

Volume Ovárico

O volume ovárico está inversamente relacionado com a idade; contudo, a praticabilidade do uso do volume ovárico para predizer a resposta ovárica é limitada pois existem alterações clínicas importantes que só se manifestam nos extremos da vida reprodutiva²⁹.

O volume ovárico obtido por ecografia transvaginal bidimensional (2D) é pelo menos 27% inferior ao volume real. Para além disso, tem uma grande variabilidade interobservador³⁰.

Alguns estudos mostraram preocupação relativa-

mente ao seu uso como teste de reserva ovárica e cimentaram as suas dúvidas no facto de ser avaliado a duas dimensões, deixando alguns autores a recomendação do uso de ecografia tridimensional (3D) para diminuir a variabilidade interobservador¹.

O desenvolvimento 3D tornou possível compensar as diferentes particularidades da forma do ovário humano. Ainda assim, os estudos comparativos entre 2D e 3D não mostraram diferenças na precisão das duas técnicas¹³.

Apesar de na literatura as opiniões sobre este marcador estarem divididas, uma revisão realizada em 2011, que englobou dez estudos sobre esta questão, concluiu que o volume ovárico apresentava pouca aplicabilidade na predição de má resposta ou gravidez, não devendo ser usado como preditor único, mas podendo ser incluído nos procedimentos diagnósticos, adicionando informação ao histórico da doente¹.

Vascularização ovárica

A introdução do *power Doppler* transvaginal permitiu estudos não invasivos sobre a vascularização dos folículos ováricos, que evidenciaram uma relação entre o fluxo sanguíneo do estroma ovárico e a resposta folicular do ovário³¹. Observou-se uma correlação positiva e independente entre a velocidade do pico sistólico do estroma ovárico medida por *Doppler* pulsátil via ecografia transvaginal, quer na fase folicular precoce, quer após supressão da actividade hipofisária³².

Verifica-se também uma correlação negativa entre a idade e o fluxo sanguíneo pré-ovulatório perifolicular. Shrestha *et al.* (2006) demonstraram uma alta taxa de gravidez entre mulheres que apresentaram folículos com acentuada vascularização na fase folicular precoce¹.

Uma meta-análise realizada em 2009 avaliou o fluxo sanguíneo do estroma ovárico como preditor de resultados de FIV mas o seu valor clínico foi duvidoso, devido aos diferentes preditores relacionados com a vascularização usados na literatura. Os estudos consultados não recomendam a sua utilização como marcador de reserva ovárica¹. Novos estudos serão necessários para clarificar a capacidade da vascularização do estroma ovárico na previsão de resultados após PMA³².

Contagem de Folículos Antrais

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

tir do qual eles foram recrutados². A correlação entre a CFA histológica e o número de folículos primordiais remanescentes têm sido constatada desde há vários anos³.

A contagem total de folículos antrais é estimada tendo em conta o número de folículos que medem entre 2–9mm, em ambos os ovários. Após esta contagem, os folículos são classificados em pequenos folículos antrais (2,0–6,0mm), que apesar de serem gonadotrófico-independentes respondem às gonadotrofinas exógenas, e em grandes folículos antrais (> 6mm), que são gonadotrófico-dependentes⁴.

Como os folículos antrais maiores que 2mm são extremamente sensíveis e respondem à FSH exógena, são definidos como «folículos recrutáveis». Logo, a CFA estima com grande precisão o *pool* folicular em que a FSH exógena irá ter efeito. Foi provada a utilidade da CFA em identificar extremos da resposta ovárica após estimulação ovárica; contudo, ainda não está totalmente esclarecido o seu papel na escolha da dose de FSH exógena ideal nas PMA³³.

Assim, a CFA tem sido avaliada como preditora de resposta para os tratamentos com indução da ovulação, podendo ter correlação com a quantidade de ciclos cancelados nas más respondedoras, com o número de ovócitos aspirados e com a probabilidade de gravidez bioquímica³.

Revelou-se um excelente preditor de reserva e resposta ovárica, com superioridade significativa em relação a outros marcadores, apresentando uma sensibilidade de 89%, apesar da baixa especificidade na identificação de uma má resposta. Os estudos demonstraram correlações significativas entre a CFA e os outros testes ováricos, tal como a HAM¹. Contudo, existe uma variabilidade considerável na sua definição clínica e na metodologia usada para a contagem e medida dos folículos nos estudos publicados. Sabe-se que a utilização de terapêuticas com agonistas da GnRH, estimulação ovárica ou contraceptivos orais combinados não influenciam a CFA, apesar dos efeitos verificados no volume ovárico²⁹. Foi também determinado que medições repetidas de CFA não conferiam informação adicional na prática clínica¹.

A CFA é classicamente considerada independente da fase do ciclo menstrual pelo que a maioria dos estudos recomendam que a CFA seja realizada na fase folicular precoce do ciclo menstrual de forma a minimizar o efeito das flutuações intracíclo e reduzir o risco de incluir incorrectamente quistos ováricos coexistentes ou o corpo lúteo. Por uma questão de con-

sistência e praticabilidade, foi proposto que a CFA fosse medida entre o segundo e o quarto dia do ciclo menstrual²⁹. No entanto, à luz dos estudos actuais a CFA parece não sofrer variação significativa num ciclo menstrual, principalmente quando contados apenas os folículos antrais pequenos (2-6mm). Todavia, ainda não há consenso sobre a estabilidade da CFA ao longo do ciclo. Dessa forma, mais estudos serão necessários para esclarecer se a CFA deve ser feita apenas na fase folicular precoce ou se pode ser feita em qualquer fase do ciclo menstrual⁵.

A variabilidade interciclo da CFA é claramente menos pronunciada que a de outros marcadores de reserva ovárica; contudo, pode variar consideravelmente de ciclo para ciclo. Esta variação pode ser devida a uma detecção imprecisa mais do que a uma variação biológica. Por isso, esta variação é considerada de relevância clínica mínima na predição da resposta ovárica em técnicas de PMA¹.

Tradicionalmente o tamanho de um folículo é avaliado com a medição do seu diâmetro com 2D³⁴. Existe uma variação intra e interobservador na contagem de folículos antrais, que se torna ainda mais evidente quando o diâmetro do folículo é incluído. A 3D com suas várias opções de visualização melhora a fiabilidade da CFA e a sua validade para prever o número de ovócitos que podem ser recrutados para as PMA⁵.

Uma correlação significativa foi demonstrada entre o número de folículos antrais de 2-10 mm de diâmetro e o número de ovócitos obtidos após estimulação com FSH. Ainda assim, a CFA tende a sobrestimar o verdadeiro número de folículos FSH dependentes, discrepância esta que pode ser devida à inclusão de folículos atrésicos na contagem²⁹. Durante a fase folicular precoce, os folículos saudáveis tendem a ter 4-6mm e podem representar melhor a proporção idade-dependente do *pool* de folículos antrais visíveis. É possível que a contagem desses folículos permitisse evitar a incorporação de folículos atrésicos¹.

Contudo, o número de folículos antrais menores (2-5mm) está fortemente correlacionado com o número de folículos maiores e apenas poucos folículos com 6-10 mm são encontrados na fase folicular precoce. Assim, para evitar a perda de tempo no processo de medição de cada folículo foi recomendada a contagem de todos os folículos de 2-10mm²⁹.

É de salientar, no entanto, que neste momento não existe consenso sobre o tamanho dos folículos que devem ser incluídos na contagem total dos folículos antrais e que a contagem dos folículos antrais subdividi-

da em grupos de acordo com o tamanho dos folículos mostra que os grupos de menor tamanho podem melhorar o valor preditivo da CFA. Por esse motivo, a população de folículos antrais menores representará o quantitativo da reserva ovárica funcional⁵.

Existe uma relação directa entre a CFA e a quantidade de ovócitos obtidos, o número de embriões disponíveis para selecção após FIV, a taxa de transferência, a taxa de gravidez e de criopreservação embrionária. Uma CFA de ambos os ovários inferior a dez pode estar associada com um risco aumentado de cancelamento do ciclo, podendo representar um importante parâmetro de avaliação preditiva da resposta ovárica².

Em 2001 foram publicados na *ESHRE* os critérios de Bolonha, já referidos, havendo consenso na definição de POR na FIV que consideraram como teste de reserva ovárica anormal uma CFA entre cinco-sete folículos²³. Numa revisão sistemática de trabalhos publicados nos últimos treze anos a definição de má resposta foi divergente entre os estudos, variando de três a nove folículos antrais. A maioria dos artigos apresentou evidência de que uma contagem menor do que três a seis folículos antrais está associada a má resposta e a uma maior hipótese de cancelamento de ciclo, assim como a um menor número de ovócitos aspirados².

Apesar da ecografia ser um método que permite a avaliação de cada ovário, como entidade singular, sendo mais preciso nesta avaliação individual do que qualquer outro teste hormonal, uma das suas condicionantes prende-se com a experiência da pessoa que a realiza, sendo sempre um exame subjetivo. Por outro lado, uma das grandes vantagens em relação aos doseamentos hormonais é ser não invasivo⁷.

Comparações entre os marcadores

Os estudos realizados mostraram que apenas a HAM e a CFA exibiram diminuição progressiva significativa com a idade¹⁹.

Comparando a FSH com a idade os estudos mostram que em mulheres com valores basais de FSH constantemente elevados, submetidas a FIV, a idade cronológica é melhor preditor de fertilidade do que a FSH basal. Contudo a junção de ambas é útil para prever a reserva ovárica quantitativa⁷.

Embora a CFA tenha a melhor capacidade de predição de má resposta ovárica e síndrome de hiperestimulação ovárica, entre todos os marcadores convencionais da reserva ovárica, a CFA e a idade apresentam o mesmo valor preditivo em relação à taxa de nados vi-

vos em ciclos de PMA².

A HAM foi considerada melhor do que a idade na predição da resposta ovárica aos estímulos exógenos, com uma *performance* semelhante apenas à CFA²⁹.

Comparando com a FSH, uma das vantagens apontadas à sensibilidade da HAM prende-se com o facto do seu valor basal não variar inter e intra ciclo³⁵. A sua estabilidade plasmática sugere que esta poderá ser o melhor marcador ciclo-independente para avaliar a reserva ovárica³⁶. Porém, estudos posteriores verificaram variações no valor da HAM durante o ciclo menstrual particularmente em mulheres que apresentavam um padrão ovárico jovem³⁷.

Embora a CFA e o HAM pareçam ser igualmente preditivos da resposta ovárica durante os ciclos de reprodução assistida, a CFA é comumente realizada pela disponibilidade de ecógrafos em clínicas especializadas e da relativa facilidade com que pode ser executada⁵.

Análises comparativas da CFA e HAM têm consistentemente mostrado fortes correlações³⁸. Quando comparada com a CFA, a HAM evidencia menor variação inter e intra ciclo do que a CFA³⁶.

COMENTÁRIOS FINAIS

O principal objectivo da avaliação da reserva ovárica é identificar mulheres com uma reserva folicular escassa em função da sua idade cronológica. A idade é considerado o factor individual mais importante na determinação da qualidade e quantidade da reserva ovárica. No entanto, o seu uso isolado é inadequado, devendo ser complementado com os doseamentos de FSH e HAM, assim como com a CFA, aumentando a eficácia na previsão da resposta ovárica à hiperestimulação ovárica controlada em ciclos de PMA.

Os testes que avaliam a reserva ovárica são usados para prever a resposta à estimulação controlada dos ovários durante a realização de PMA. Não existe consenso de qual exame, ou combinação deles, tem o maior valor predito na avaliação da reserva ovárica. A maioria dos autores concorda que a CFA e o doseamento sérico da HAM têm o melhor potencial discriminatório como preditores da reserva ovárica, com semelhante valor diagnóstico. Se por um lado a HAM tem uma variabilidade inter e intra cíclica mínima, por outro lado a CFA tem a vantagem da ecografia poder ser feita no mesmo momento em que o clínico faz a anamnese e o exame físico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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.
2. Silveira CF, Coutinho LM, 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.
3. Castro EC, Florêncio RS, Monteiro Filho G, Amaral WN. Correlação entre a idade e a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2012. Vol.34. N 4. versão On-line ISSN 1806-9339.
4. Deb S, Kannamannadiar J, Campbell BK, Clewes JS, Raine-Fenning NJ. The interovarian variation in three-dimensional ultrasound markers of ovarian reserve in women undergoing baseline investigation for subfertility. *Fertil Steril.* 2011;95(2):667-672.
5. Linhares AD, Chaves FS, Amaral WN, Castro EC. Revisão sistemática da contagem de folículos antrais ovarianos durante o ciclo menstrual. *Reprod Clim.* 2014; 29(1):21-26.
6. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril.* 2011; 95(1): 170-175.
7. Domingues TS, Rocha AM, Serafini PC. Tests for ovarian reserve: reliability and utility. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010;22(4):271-276.
8. Silva ALB, Vilodre LCF. Avaliação da reserva ovariana: métodos actuais. *Femina.* 2009. 37(3): 149-154
9. Broer SL, Mol B, Dolleman M, Fauser BC, Broekmans FJ. The role of anti-Mullerian hormone assessment in assisted reproductive technology outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010; 22(3):193-201.
10. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artesio AC, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum reprod update.* 2010;16(2):113-130.
11. Gizzo S, Andrisani A, Novental M, Quaranta M, Esposito F, Armanini D, et al. Menstrual cycle length: a surrogate measure of reproductive health capable of improving the accuracy of biochemical/ sonographical ovarian reserve test in estimating the reproductive chances of women referred to ART. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015; 13:28.
12. Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR. Reproductive aging: accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):1038-1045.
13. Montfrans JM, Hoek A, van Hooff MHA, Koning CH, Tonch N, Lambalk CB. Predictive value of basal follicle-stimulating hormone concentrations in a general subfertility population. *Fertil Steril.* 2000; 74(1): 97-103.
14. Rodriguez MAC, Guadix BR, Martinez MDM. Marcadores de Reserva Folicular. Paper presented at XV Curso de Actualización en Obstetricia y Ginecología. 2011. Feb 9-11; Granada, Spain.
15. Toner, JP, Seifer DB. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimullerian hormone. *Fertil Steril.* 2013. 99(7):

1825-1830.

16. de Koning CH, McDonnell J, Themmen AP, de Jong FH, Homburg R, Lambalk CB. The endocrine and follicular growth dynamics throughout the menstrual cycle in women with consistently or variably elevated early follicular phase FSH compared with controls. *Hum Reprod*. 2008;23(6):1416-1423.

17. Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2003;79(5):1091-1100.

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

19. Rosen MP, Johnstone E, McCulloch CE, Schuh-Huerta SM, Sternfeld B, Reijo-Pera RA, et al. A characterization of the relationship of ovarian reserve markers with age. *Fertil Steril*. 2012;97(1):238-243.

20. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod*. 2009;24(9):2264-75.

21. Themmen AP. Anti-Mullerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2005(34):18-21.

22. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, et al. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005;83(4):979-87.

23. 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(7):1616-24.

24. Buyuk E, Seifer DB, Younger J, Grazi RV, Lieman H. Random anti-Mullerian hormone (AMH) is a predictor of ovarian response in women with elevated baseline early follicular follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril*. 2011;95(7):2369-2372.

25. La Marca A, Papaleo E, Grisendi V, Argento C, Giulini S, Volpe A. Development of a nomogram based on markers of ovarian reserve for the individualisation of the follicle-stimulating hormone starting dose in in vitro fertilisation cycles. *BJOG*. 2012;119(10):1171-1179.

26. 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. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1791-1797.

27. Li HW, Yeung WS, Lau EY, Ho PC, Ng EH. Evaluating the performance of serum antimullerian hormone concentration in predicting the live birth rate of controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination. *Fertil Steril*. 2010;94(6):2177-2181.

28. Roudebush WE, Kivens WJ, Mattke JM. Biomarkers of Ovarian Reserve. *Biomark Insights*. 2008; 3: 259-268.

29. Broekmans FJM, 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):1044-1051.

30. Rosendahl M, Ernst E, Rasmussen PE, Andersen CY. True

ovarian volume is underestimated by two-dimensional transvaginal ultrasound measurement. *Fertil Steril*. 2010;93(3):995-998.

31. Costello MF, Shrestha SM, Sjoblom P, McNally G, Bennett MJ, Steigrad SJ, et al. Power Doppler ultrasound assessment of the relationship between age and ovarian perfollicular blood flow in women undergoing in vitro fertilization treatment. *J Assist Reprod Genet*. 2006; 23: 359-365.

32. Mutlu MF, Erdem, A. Evaluation of ovarian reserve in infertile patients. *J Turkish-German Gynecol Assoc*. 2012; 13: 196-203.

33. 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. *J Ovarian Res*. 2013;6(1):11.

34. Mendes AIG, Sousa e Silva M, Naves do Amaral W, Castro EC. Confiabilidade da contagem de foliculos antrais com o uso de ultrassom bidimensional e tridimensional: uma revisão sistemática. *Reprod Clim*. 2014; 29 (2):48-53.

35. Ledger WL. Clinical utility of measurement of anti-mullerian hormone in reproductive endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(12):5144-5154.

36. 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;25(1):221-227.

37. 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. *Fertil Steril*. 2008;89(4):927-933.

38. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril*. 2013;99(4):963-969.

39. 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. *Hum Reprod Update*. 2011;17(1):46-54.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Renata Verissimo
Centro Hospitalar Tondela-Viseu
E-mail: renatasofia@hotmail.com

RECEBIDO EM: 17/8/2015

ACEITE PARA PUBLICAÇÃO: 14/10/2015