



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Contributo para a definição do interesse da medição
do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em
Procriação Medicamente Assistida**

Ana Catarina Ferreira Magalhães

**Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em:
Medicina
(2º ciclo de estudos)**

**Orientador: Prof. Doutor José Martinez de Oliveira
Coorientador: Dr. Danilo Koga Morimoto**

Covilhã, Junho de 2012

Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em Procriação Medicamente Assistida

Agradecimentos

Desde já quero agradecer a todos aqueles que contribuíram e tornaram viável a realização deste trabalho.

Começo por agradecer ao meu orientador, Prof. Doutor José Martinez de Oliveira por ter aceitado o meu convite para me orientar na realização deste projeto. Quero agradecer a pronta disponibilidade demonstrada quando precisei de ajuda, a sua crítica construtiva e o apoio fornecido ao longo de todo o processo. Gostaria ainda de agradecer o facto de me ter sempre feito acreditar que a concretização desta ideia seria possível.

Ao meu coorientador, Dr. Danilo Morimoto por ter aceitado o meu convite. Agradeço ainda o facto de ter estado presente de forma ativa durante todo o processo, contribuindo com a recolha e processamento das imagens ecográficas e de todos os dados que necessitei. Quero também agradecer todo o apoio dado e o facto de ter estado sempre pronto a ouvir as minhas dúvidas.

Ao Prof. Doutor António Hélio Oliani pelo entusiasmo com que sempre discutiu comigo este tema. Agradeço o fato de me ter recebido na Unidade de Medicina Reprodutiva do CHCB, EPE, mostrando-me grande parte do trabalho que é feito nesse serviço. Agradeço ainda toda a disponibilidade e ajuda prestadas.

À Dra. Paula Pestana pelo empenho e apoio prestados, especialmente no que respeita à recolha dos dados laboratoriais. Sem a sua ajuda este trabalho não seria possível.

À minha família, particularmente aos meus pais, que tiveram sempre palavras de motivação e incentivo. Pelo carinho e força dados nas alturas de desânimo. Ao meu irmão, pela ajuda que me deu quando mais precisei.

Aos meus amigos, que nunca me negaram ajuda, por me terem apoiado. Por todos os bons momentos partilhados, que foram muitos, e ficarão para sempre comigo.

Ao João pela paciência que teve perante os meus desabafos e exigências. Por estar sempre disposto a ouvir e a ajudar-me. Pelo carinho e constante apoio demonstrados, tendo sido o meu pilar emocional e profissional ao longo destes seis anos.

Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em Procriação Medicamente Assistida

*"Acreditar na medicina seria a suprema loucura
se não acreditar nela não fosse uma maior ainda,
pois desse acumular de erros, com o tempo,
resultaram algumas verdades."*

Marcel Proust

Resumo

Objetivo: Este estudo teve como objetivo comparar o valor sérico basal de hormona anti-Mulleriana com outros marcadores de reserva ovárica - medição dos níveis séricos basais de hormona folículo-estimulante e estradiol e contagem de folículos antrais por ecografia bidimensional e tridimensional - na avaliação da reserva e resposta ováricas à estimulação controlada, em Procriação Medicamente Assistida.

Material e Métodos: 37 mulheres, submetidas a tratamentos de infertilidade, de segunda linha, foram estudadas prospectivamente. Foram medidas as concentrações séricas basais de hormona anti-Mulleriana, estradiol e hormona folículo-estimulante. A contagem de folículos antrais (2-10mm de diâmetro) foi realizada por ecografia bidimensional e pelo método semiautomático de ecografia tridimensional. Para avaliar a resposta ovárica ao tratamento por estimulação ovárica controlada utilizou-se a contagem de folículos evolutivos (diâmetro superior a 12mm).

Resultados: A contagem de folículos antrais por ecografia a 2 dimensões e por ecografia semiautomática a 3 dimensões correlacionou-se fortemente ($t= 0,630$ e $p <0,01$; $t= 0,591$ e $p <0,01$, respetivamente) com o nível sérico basal de hormona anti-Mulleriana.

Ambas as ecografias, bem como a hormona anti-Mulleriana possuem uma forte relação direta ($t= 0,666$ e $p <0,01$; $t= 0,564$ e $p <0,01$; $t= 0,581$ e $p <0,01$, respetivamente) com a resposta ao tratamento. A idade apresenta uma forte correlação inversa ($t= -0,504$ e $p <0,01$). Já os níveis séricos de estradiol e hormona folículo-estimulante não demonstraram relação com a resposta ovárica ($t= -0,054$ e $p >0,01$; $t= 0,023$ e $p >0,01$, respetivamente).

A percentagem de concordância entre a contagem do número de folículos antrais pelas ecografias 2D e ecografia 3D é de 35,14%, não se podendo afirmar que um método seja mais eficaz que o outro, nesta perspetiva.

Conclusão: O presente estudo conclui que há uma forte associação entre a hormona anti-Mulleriana e a reserva folicular ovárica, bem como com a resposta ovárica ao tratamento por estimulação ovárica controlada. Esta relação é superior à encontrada quando utilizados outros testes de avaliação de reserva ovárica (idade, concentrações séricas de hormona folículo-estimulante e estradiol); mas é semelhante quando comparada à contagem de folículos antrais por ecografia tanto a duas como a três dimensões.

Palavras-chave

HAM; ecografia; reserva ovárica; resposta ovárica; PMA.

Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em Procriação Medicamente Assistida

Abstract

Objective: The present study aims to compare the value of the basal serum anti-Mullerian hormone level with other ovarian reserve markers - basal serum concentrations of follicle stimulating hormone, estradiol and antral follicle count using two-dimensional and three dimensional ultrasound imaging - in the assessment of the reserve and ovarian response, in assisted reproduction techniques.

Materials and Methods: A prospective analysis was performed in 37 patients undergoing fertility treatments. Basal serum levels of anti-Mullerian hormone, estradiol and follicle stimulating hormone were measured. The number of antral follicles (2-10 mm in diameter) was estimated by two-dimensional and semi-automatic three dimensional ultrasound imaging. Follicle (> 14mm in diameter) count was used to evaluate the ovarian response to controlled ovarian hiperstimulation.

Results: Antral follicle count using two-dimensional and semi-automatic three dimensional ultrasound imaging are strongly correlated ($t= 0,630 p< 0,01$; $t= 0,591 p< 0,01$, respectively) with basal serum anti-Mullerian hormone level.

Both ultrasound imaging techniques and anti-Mullerian hormone are directly correlated ($t= 0,666 p< 0,01$; $t= 0,564 p< 0,01$; $t= 0,581 p< 0,01$, respectively) with treatment response, as age is inversely correlated ($t= -0,504 p<0,01$) with it. On the other hand, basal serum levels of estradiol and follicle stimulating hormone did not correlate ($t= -0,054 p>0,01$; $t= 0,023 p>0,01$, respectively) with ovarian response.

The percentage of agreement between the antral follicle count by two and three dimensional ultrasound is 35.14%, though we cannot affirm that a method is more efficient than the other.

Conclusion: This study concludes that there is a strong association between anti-Mullerian hormone and ovarian follicular reserve, and response to controlled ovarian hiperstimulation. This relation is higher than that found when using other tests to assess ovarian reserve (age, serum follicle stimulating hormone and estradiol), but is similar to the antral follicle count, by two-dimensional and semi-automatic three dimensional ultrasound techniques.

Key-words

AMH; ultrasound; ovarian reserve; ovarian response; ART.

Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em Procriação Medicamente Assistida

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	vii
Abstract	ix
Índice	xi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Acrónimos	xvii
1. Introdução	1
2. Material e Métodos	3
2.1. Amostras de sangue e ensaios hormonais	3
2.2. Medições ecográficas	3
2.3. Protocolo de estimulação ovárica	3
2.4. Análise estatística	4
3. Resultados	5
4. Discussão	10
5. Conclusão	12
5.1. Perspetivas futuras	12
6. Referências Bibliográficas	13

Lista de Figuras

Figura 1 - Correlação entre a contagem basal (dia 3 do ciclo) de folículos antrais por ecografia 2D e 3D e do volume ovárico médio com o nível sérico basal de HAM 7

Figura 2 -Concordância entre a contagem de folículos por ecografia 2D e por ecografia 3D 9

Figura 3 - Correlação entre o número de folículos antrais por ecografia 2D, 3D, a idade e valor basal sérico de HAM com a contagem por ecografia 2D de folículos, dia da administração de hCG recombinante (reposta ovárica ao tratamento) 10

Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em Procriação Medicamente Assistida

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Caraterísticas demográficas, ecográficas e bioquímicas das pacientes	6
Tabela 2 - Correlação entre o número de folículos antrais, contados por ecografia 2D e 3D, com a idade e níveis séricos basais de FSH e estradiol	8

Lista de Acrónimos

2D - Bidimensional

3D - Tridimensional

CHCB - Centro Hospitalar da Cova da Beira, EPE

FSH - Hormona foliculo-estimulante

GnRH - Hormona libertadora das gonadotrofinas

HAM - Hormona anti-Mulleriana

hCG - Gonadotrofina coriónica humana

LH - Hormona luteinizante

PMA - Procriação medicamente assistida

1. Introdução

Em Portugal, a prevalência de infertilidade em mulheres com idade reprodutora (entre os 25 e 44 anos) é de 8,2%. Neste grupo, 57% a 61% recorrem a consulta médica de especialidade e 25% são tratadas por técnicas de procriação medicamente assistida (PMA) [1].

No que respeita à população do distrito de Castelo Branco, as mulheres casadas, de direito ou de facto, sem filhos, nas faixas etárias de 30 a 34 anos e de 35 a 39 anos representam 36,4% do total, o que poderá significar baixa fertilidade espontânea ou que optaram por adiar para idades mais tardias o seu projeto de procriação [2].

Tais valores demonstram a importância de investir na melhoria da qualidade dos serviços prestados nesta área.

A avaliação clínica apurada e precisa da(s) causa(s) de infertilidade de um casal permitirá uma melhor gestão da patologia individual subjacente e uma maximização dos resultados do tratamento por PMA. Esta avaliação, a ambos os elementos do casal, consiste num conjunto de exames iniciais que inclui a avaliação do esperma, da permeabilidade das trompas, da normalidade do útero, da ovulação e, nas pacientes com irregularidade menstrual ou acima de 35 anos, da reserva ovárica.

A reserva ovárica pode ser definida como o número de folículos antrais presentes nos ovários, num determinado período, cujo crescimento pode ser estimulado pela hormona folículo estimulante (FSH) [3].

A FSH sérica e a contagem do número de folículos antrais por ecografia transvaginal são os exames mais frequentemente utilizados para avaliar a “pool” folicular. Contudo, a verdadeira reserva ovárica só pode ser determinada após um ciclo de estimulação ovárica [3] uma vez que os testes existentes têm sensibilidade e especificidade diferentes na previsão da fertilidade e devem complementar-se um ao outro. Sendo indicativos da resposta ovárica, mas não de gravidez.

Recentemente tem-se vindo a verificar que o teste de medição da hormona anti-mulleriana (HAM) sérica poderá conseguir ultrapassar essas limitações.

A HAM é uma glicoproteína dimérica membro da super-família “transforming growth factor β ”. É produzida pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e antrais, restringindo a sua expressão aos folículos em crescimento [4], ou seja, folículos que ainda não atingiram tamanho e diferenciação necessários para serem selecionados pela ação da FSH. A HAM não é produzida por folículos atrésicos nem por células da teca. [5, 6].

Considera-se que a HAM tem um papel essencial na foliculogénese. Assim, ela inibe o processo de recrutamento dos folículos primordiais e modifica o crescimento dos folículos antrais e pré-antrais, pois diminui a sua sensibilidade para a FSH [6-9].

Além disso, a atividade da HAM parece ser FSH independente [4, 5, 10] e a sua concentração no soro mantém estável, tanto durante como entre ciclos menstruais [11-13].

Os níveis séricos desta hormona variam na dependência do número de folículos ovários. Por exemplo, estudos confirmam a diminuição de concentração de HAM à medida que a idade da mulher aumenta [14, 15] e na presença de falência ovárica prematura [16], enquanto se observa uma elevação dos níveis desta hormona em mulheres com síndrome de ovário poliquístico [17, 18].

Portanto, o nível sérico de HAM correlaciona-se fortemente com o número de folículos antrais, refletindo o tamanho da “pool” folicular [19, 20] o que, associado às outras características supracitadas faz com a concentração desta hormona seja um teste promissor na avaliação da reserva ovárica.

Este trabalho pretende verificar a relação entre os níveis séricos de HAM e a reserva ovárica e ainda a sua aplicabilidade prognóstica na resposta do ovário à estimulação ovárica controlada, numa população submetida a PMA. Comparando este método com as técnicas já existentes, nomeadamente medição dos níveis basais de FSH e estradiol séricos e contagem de folículos antrais por ecografia bidimensional (2D) e tridimensional (3D).

Assim, temos como objetivos de estudo:

1. Aferir se a medição dos níveis séricos de HAM em comparação com outras técnicas já utilizadas é mais preciso na avaliação da reserva folicular.
2. Analisar se a concentração da HAM consegue prever a resposta ovárica nas mulheres sujeitas a tratamento por estimulação ovárica controlada.
3. Comparar o método de ecografia 2D com o método semiautomático de ecografia 3D, na contagem de folículos antrais.

2. Material e Métodos

Participaram neste estudo prospetivo 37 pacientes que foram submetidas a tratamentos com técnicas de PMA de segunda linha, na Unidade de Medicina Reprodutiva do Centro Hospitalar da Cova da Beira, E.P.E. (CHCB) de outubro de 2011 a fevereiro de 2012. A Comissão de Ética deste Centro aprovou o protocolo apresentado de comparação dos exames para avaliação da reserva com a concentração sérica de HAM na previsão da resposta ovárica.

As características das mulheres incluídas foram: idade compreendida entre 18 e 40 anos; concentrações basais (D3 do ciclo menstrual) de FSH <15UI/L; com ambos os ovários presentes, confirmado por ecografia transvaginal.

2.1. Amostras de sangue e ensaios hormonais

As amostras de sangue venoso para medição de FSH e estradiol foram colhidas entre os dias 3-5 do ciclo menstrual espontâneo, tendo sido armazenadas a -20°C. Utilizaram-se ensaios imunoenzimáticos para determinar a concentração sérica de FSH e estradiol (Abbot Laboratories, Diagnostics Division Lisnamuck, Longford Co.).

As amostras de sangue venoso para medição de HAM foram recolhidas no dia da realização da ecografia basal (D1 a D3 do ciclo), previamente ao tratamento por estimulação ovárica controlada. As amostras foram armazenadas a -20°C até terem sido utilizadas. Para as medições utilizou-se o teste ELISA para enzimoimunoensaio (Anti-Mullerian Hormone - AMH - Gen II kit, Beckman Coulter, Inc).

2.2. Medições ecográficas

No mesmo dia de recolha de sangue para medição da HAM, realizaram-se as ecografias transvaginais 2D e 3D para contagem basal do número de folículos com 2-10 mm de tamanho, em ambos os ovários. Os exames foram todos feitos pelo mesmo observador, sem conhecimento dos resultados dos ensaios hormonais.

Utilizou-se o equipamento ecográfico com a marca GE® modelo Voluson E6 equipado com sonda vaginal volumétrica interligado com o software sonoAVC.

2.3. Protocolo de estimulação ovárica

Todas as mulheres foram submetidas a estimulação ovárica controlada usando quer um protocolo longo com um agonista da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) (n=31) quer um protocolo curto com um antagonista da GnRH (n=7).

Para o protocolo longo com agonista foi usada a triptorrelina 0.1 mg (Decapeptyl®) com início dez dias antes da provável menstruação do ciclo anterior, em dose diária por oito dias, seguida de dias alternados por mais 12 dias (14 ampolas / 20 dias).

No protocolo curto com antagonista foi usada a Ganirelix 0.25 mg (Orgalutran®) em dose diária a partir do dia em que os folículos apresentavam pelo menos 12 mm (protocolo

variável) e não antes do D6 (protocolo fixo) do início do estímulo ovárico. Utilizou-se este protocolo em pacientes com possibilidade de síndrome da hiperestimulação ovárica ou nas que não responderam ao protocolo longo.

Em ambos os protocolos, utiliza-se o bloqueio do ciclo menstrual com contraceptivo hormonal oral combinado, utilizado de forma contínua e ininterrupta. Após a paragem da toma e do início do fluxo menstrual, administra-se a FSH recombinante (Puregon®) e/ou uma combinação de FSH e hormona luteinizante (LH) (Menopur®), segundo protocolo específico a cada paciente.

Posteriormente, quando ao controlo ecográfico for evidenciado de um a três folículos com pelo menos 18 mm de diâmetro médio, é administrada a gonadotrofina coriónica humana (hCG) recombinante (Ovitrelle®) para 36 horas depois se realizar a punção dos folículos ováricos para recolha dos oócitos.

2.4. Análise estatística

Os dados foram analisados usando o programa “SPSS for Windows package” (SPSS, version 17, Chicago, USA).

As correlações entre os diferentes parâmetros foram calculadas através da aplicação do teste Tau-b de Kendall.

O grau de concordância entre as contagens de folículos antrais pelas ecografias 2D e 3D foi analisado pelo Teste de concordância de Bland-Altman.

Um *valor-p*<0,01 foi considerado estatisticamente significativo.

3. Resultados

As características das 37 mulheres que participaram neste estudo estão presentes na Tabela 1.

Tabela 1 - Características demográficas, ecográficas e bioquímicas das pacientes

Características	Grupo em estudo (n=37)
Idade (anos)	33.73±3.85
FSH (Dia 3 do ciclo)	6.08±1.86
Estradiol (Dia 3 do ciclo)	62.6±54.20
Volume ovárico médio	8.23±4.55
Contagem de folículos ovários (2D)	19.41±12.13
Contagem de folículos ovários (3D)	20.6±13.01
Contagem de folículos ovários (no dia da administração de hCG)	12.42±10.73
Hormona Anti-Mulleriana	1.83±2.00

Todos os valores apresentados são expressos como média ± desvio-padrão.

Dos 37 casais incluídos neste trabalho que recorreram à Unidade de Medicina Reprodutiva do CHCB, 24,3% fizeram-no devido a infertilidade de causa unicamente masculina, 27,0% por infertilidade de causa unicamente feminina, 35,1% por causas mistas e 13,5% por esterilidade ou infertilidade sem causa aparente.

Das situações de infertilidade feminina, 32% correspondiam a endometriose, 36% a fatores uterinos, 24% a fatores ovulatórios e 8% a fatores tubários.

Dois ciclos foram cancelados, um por ausência de resposta ovárica e o outro por risco de síndrome de hiperestímulo ovárico.

A Figura 1 apresenta a correlação entre o nível sérico basal (dia 3 do ciclo menstrual) da HAM com a contagem de folículos antrais por ecografia 2D e 3D. Verifica-se uma correlação positiva e forte entre o nível sérico da hormona e o respetivo número de folículos, que é estatisticamente significativa ($p < 0,01$), para ambos os métodos ecográficos. De salientar, que a correlação entre o nível de HAM com a contagem por ecografia 2D é ligeiramente superior ($t = 0,630$) à dependente da que é feita por contagem por ecografia 3D ($t = 0,591$).

A correlação entre o nível sérico de HAM e o volume ovárico médio revelou ser positiva ($t = 0,454$) e estatisticamente significativa ($p < 0,01$).

A correlação entre a idade e a concentração de HAM mostrou ser negativa ($t = -0,433$) e com significado estatístico ($p < 0,01$).

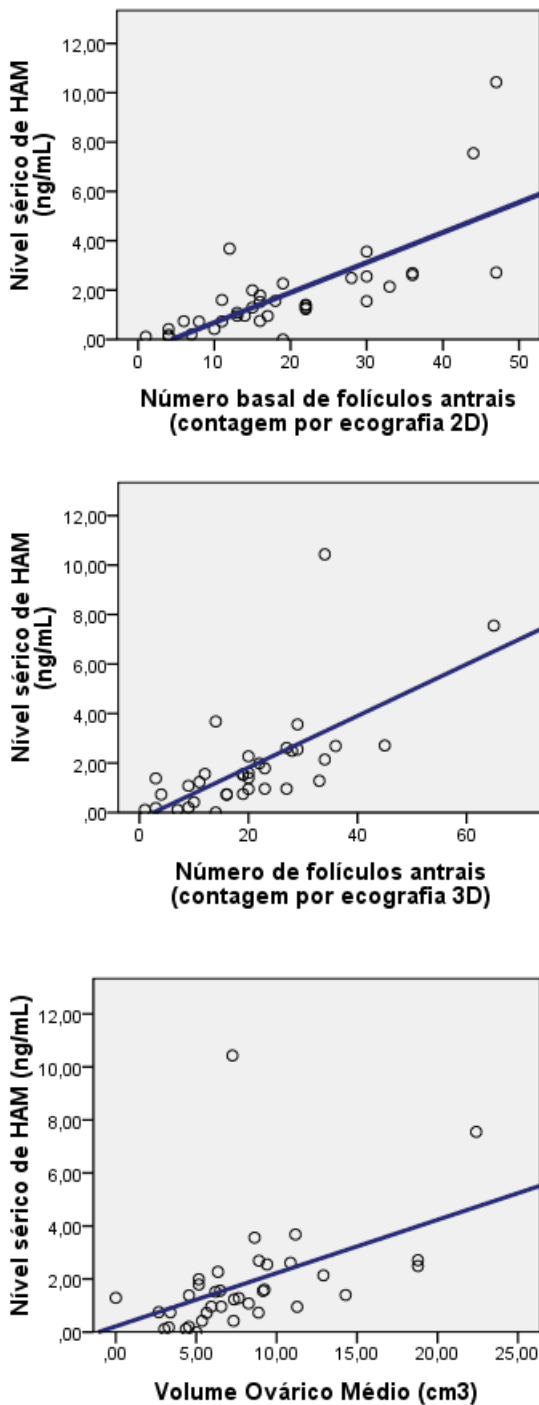


Figura 2 - Correlação entre a contagem basal (dia 3 do ciclo) de folículos antrais por ecografia 2D e 3D e do volume ovário médio com o nível sérico basal de HAM

A Tabela 2 demonstra a correlação entre o número de folículos antrais contados por ambos os métodos ecográficos com a idade e os níveis séricos basais de FSH e estradiol. As duas técnicas ecográficas têm correlação negativa e estatisticamente significativa com a idade ($t = -0,460$ e $p < 0,01$ para ecografia 2D e $t = -0,480$ e $p < 0,01$). No que respeita aos níveis séricos basais de FSH e Estradiol, estes apresentam correlações muito fracas com o número de folículos antrais contados pela ecografia, sem significado estatístico ($p > 0,01$).

Tabela 2 - Correlação entre o número de folículos antrais, contados por ecografia 2D e 3D, com a idade e níveis séricos basais de FSH e estradiol

	Número de folículos antrais (contagem por ecografia 2D)	<i>p</i>	Número de folículos antrais (contagem por ecografia 3D)	<i>p</i>
Idade	-0,460	<0,001	-0,480	<0,001
Nível sérico basal de FSH	-0,024	0,834	0,043	0,742
Nível sérico basal de Estradiol	-0,090	0,439	-0,154	0,200

Teste de correlação de tau-b de Kendall

$p < 0,01$ indica significância estatística

A Figura 2 elucida o teste de concordância entre as ecografias 2D e 3D. Através dele pode observar-se que a percentagem de concordância entre a contagem do número de folículos antrais pelas ecografia 2D e ecografia 3D é de 35,14%, não se podendo afirmar que um método ecográfico conte mais ou menos folículos que a outro.

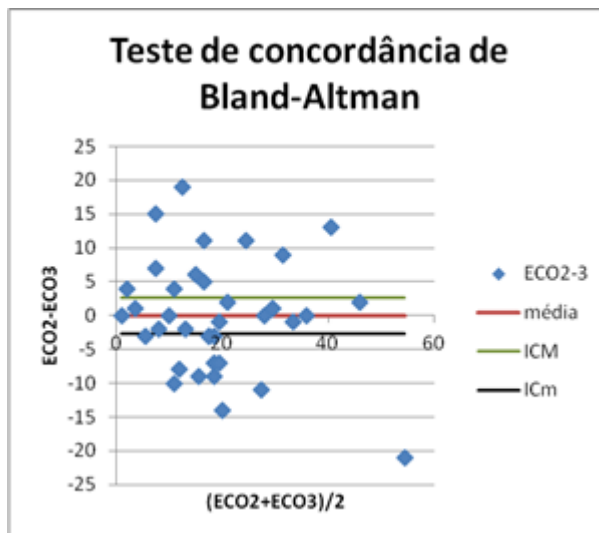


Figura 2 -Concordância entre a contagem de folículos por ecografia 2D e por ecografia 3D.

A Figura 3 demonstra a correlação entre o número de folículos (diâmetro >12mm) contados por ecografia 2D, no dia da administração da hCG recombinante com diferentes parâmetros. Neste caso, considerou-se que o folículos contados neste dia traduziram a resposta ovária ao tratamento por estimulação ovária controlada.

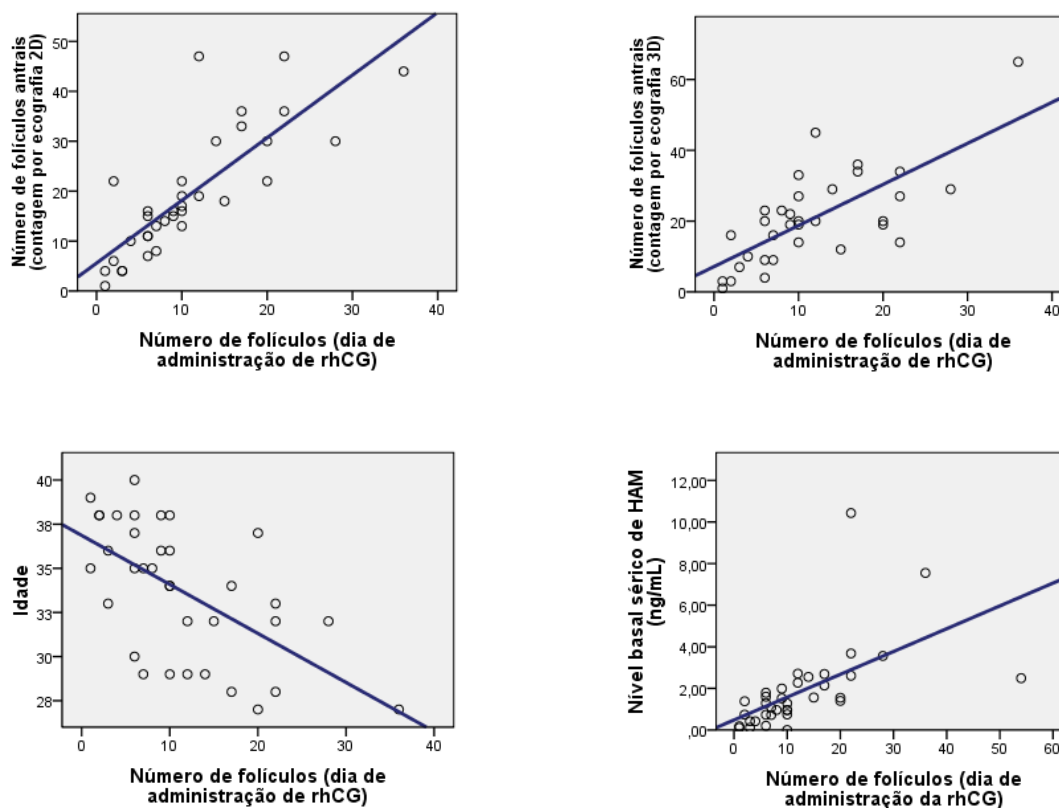


Figura 3 - Correlação entre o número de folículos antrais por ecografia 2D, 3D, a idade e valor basal sérico de HAM com a contagem por ecografia 2D de folículos, dia da administração de hCG recombinante (reposta ovária ao tratamento).

4. Discussão

Estudos publicados anteriormente indicavam que a HAM poderia, de alguma forma, estar relacionada com o tamanho da “pool” folicular e, portanto, com a reserva ovárica. Por isso, coloca-se a possibilidade de adotar esta hormona como marcador bioquímico capaz de prever a resposta ovárica aquando da sua estimulação controlada.

O presente trabalho pretendia avaliar a relação direta entre o nível sérico de HAM, medido pela técnica de ELISA, e a reserva folicular, medida no dia 3 do ciclo menstrual por ecografia, na população em tratamento com técnicas de PMA de segunda linha, na Unidade de Medicina da Reprodução do CHCB, E.P.E. Além disso, comparou-se a força das correlações entre o número de folículos antrais com a idade das mulheres em estudo e alguns parâmetros hormonais, implicados direta ou indiretamente na “pool” folicular.

Observou-se uma forte correlação entre o número de folículos antrais, contados tanto pela ecografia bidimensional como pela ecografia tridimensional, e o nível basal sérico de HAM, tal como também já foi descrito por outros estudos [20, 23-26]. Esta relação pode ser explicada pelo fato de a HAM ser produzida pelas células da teca dos folículos antrais [4-6], portanto quanto maior o número de folículos antrais mais quantidade de hormona será produzida e maior será a sua concentração no sangue. Já os níveis séricos basais (dia 3 do ciclo) de FSH e estradiol não mostraram relação com a contagem de folículos antrais, e a idade teve uma correlação fraca. Deste modo, a HAM revela-se o melhor método de avaliação do tamanho da reserva ovárica [19,20].

Verificou-se que o volume ovárico médio apresentou correlação com a concentração sérica de HAM, mas essa relação não é melhor que a observada na comparação com a contagem folicular. Estes dados estão de acordo com outras publicações [27, 28].

A idade demonstrou ter uma correlação negativa com a concentração de HAM, tal como esperado [14,15], ou seja, à medida que a idade da mulher avança o valor sérico desta hormona vai decaindo, por diminuição da reserva folicular.

Então, parece não haver dúvidas que as concentrações séricas de HAM resultam do tamanho da “pool” folicular. Por ser uma hormona de produção gonadotrofina-independente, não apresenta variações durante nem entre ciclos menstruais. A sua estabilidade resulta num grande poder preditivo e faz com que esta hormona seja um excelente marcador da reserva ovárica, com grande capacidade prognóstica, em Procriação Medicamente Assistida.

No que respeita à comparação do método ecográfico semi-automático 3D com o método ecográfico 2D, observou-se que apesar da concordância entre eles não ser elevada, não se pode afirmar que uma técnica conta o número de folículos melhor ou pior do que a outra. Contudo, o método tridimensional apresenta vantagens sobre o bidimensional [29], entre as quais se referem a capacidade de produzir imagens em três planos diferentes; a possibilidade de coloração virtual dos diferentes folículos, o que permite não repetir e/ou não falhar a identificação dos mesmos; maior rapidez na execução do exame e maior conforto para as pacientes, já que as imagens obtidas podem ser analisadas posteriormente.

Neste trabalho, a resposta ao tratamento por estimulação ovárica controlada foi avaliada pelo número de folículos (diâmetro superior a 12mm) contados por ecografia, no dia da administração da hCG recombinante. O teste de correlação tau-b de Kendall mostrou que a HAM e a contagem de folículos antrais apresentaram valores preditores da resposta ovárica superiores aos relacionados com a idade e concentrações de FSH e estradiol. É difícil encontrar associações entre o nível basal de FSH e a contagem folicular após estimulação ovárica controlada, uma vez que, neste estudo, as pacientes com valores de FSH superior a 15IU/mL foram excluídas, limitando qualquer associação [30].

Assim, a HAM e a contagem de folículos antrais possuem um valor comparável na avaliação e previsão da resposta ovárica [30-34], o que foi demonstrado através da elevada correlação destes exames com a contagem folicular do dia de administração do hCG recombinante. Porém, importa referir que a contagem folicular ecográfica tem limitações, podendo ocorrer uma diminuição na capacidade de obtenção de imagens de qualidade em mulheres obesas, com endometriose e/ou presença de ovários aderentes. Além disso, é uma técnica fortemente dependente do observador o que pode ser considerado uma desvantagem.

5. Conclusão

Em conclusão, os atuais resultados demonstram uma forte associação entre o valor sérico de HAM e a reserva folicular ovárica, bem como com a resposta ovárica ao tratamento por estimulação ovárica controlada. Esta relação é superior à encontrada quando utilizados outros testes de avaliação de reserva ovárica (idade, concentrações séricas de FSH e estradiol); mas é semelhante quando comparada à contagem de folículos antrais por ecografia tanto bidimensional como tridimensional. Deste modo, apesar do poder preditivo da concentração sérica de HAM ser significativamente semelhante ao da ecografia, esta hormona deverá ser utilizada como exame complementar alternativo quando os métodos de imagem evidenciarem limitações.

5.1. Perspetivas futuras

Torna-se, agora, necessária a realização de mais estudos construídos a partir de novas hipóteses, com amostras maiores e que incluam um estudo do comportamento do nível sérico de HAM, tendo em conta, por exemplo, uma categorização das mulheres de acordo com a causa de infertilidade subjacente.

Assim, é importante apostar mais na investigação da importância da medição da concentração sérica da HAM, já que esta hormona poderá contribuir muito para a área de PMA através da otimização de protocolos de tratamento, da diminuição dos efeitos secundários da estimulação ovárica controlada e da ocorrência de ciclos cancelados.

De salientar que para se conseguir resultados basta uma única medição do valor desta hormona, a qual pode ser feita em qualquer altura do ciclo menstrual. Isto representará uma mais valia tanto para investigadores, como para profissionais de saúde e pacientes.

6. Referências Bibliográficas

1. Carvalho JL, Santos A. Estudo AFRODITE: Caracterização da infertilidade em Portugal - estudo na comunidade. 2009. [s.n.]; 9-73.
2. Augusto A, Correia S. Estudo sobre a viabilidade da implementação de um serviço de reprodução medicamente assistida no Centro Hospitalar da Cova da Beira. Universidade da Beira Interior - Centro de Estudos Sociais 2006.
3. Devroey P, Fauser BC, Diedrich K. Approaches to improve the diagnosis and management of infertility. *J Human Reproduction Update* 2009; 15(4):391-408.
4. Feyereisen E, Lozano DH, Taieb J, Hesters L, Frydman R, Fanchin, et al. Anti-Müllerian hormone: Clinical insights into a promising biomarker of ovarian follicular status. *J Reproductive BioMedicine Online* 2006; 12(6):695-703.
5. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arsenio AC, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *J Human Reproduction* 2010; 16(2):113-130.
6. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS. Anti-Mullerian hormone (AMH): What do we still need to know? *J Human Reproduction* 2009; 24(9):2264-2275.
7. Skalba P, Cygal A, Dabkowska-huć A. The influence of anti-Mullerian hormone on folliculogenesis. *J Ginekol Pol.* 2008; 79(2):137-140.
8. Visser J. Role of anti-Müllerian hormone in follicle recruitment and maturation. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2006 Sep;35(5 Pt 2):2S30-2S34. 2006; 5(2):30-34.
9. Tsepelidis S, Demeestere I, Delbaere A, Gervy C, Englert Y. Anti-mullerian hormone and its role in the regulation of ovarian function: Review of the literature. *J Med Brux.* 2007; 28(3):165-171.
10. De Vet A, Laven JS, De Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *J Fertil Steril* 2002; 77(2):357-362
11. 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. *J Human Reproduction* 2010 Oct; 25(1):221-227.

12. La Marca A, Stabile G, Arsenio AC, Volpe A. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *J Human Reproduction* 2006; 21(12):3103-3107.
13. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Gervych, Englert Y. Stable serum levels of anti-Mullerian hormone during the menstrual cycle: A prospective study in normo-ovulatory women. *J Human Reproduction* 2007; 22(7):1837-1840.
14. Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Mullerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *J Fertility and Sterility* 2011; 95(2):747-740.
15. La Marca A, Sighinolfi G, Giulin S, Traglia M, Argento C, Sala et al. Normal serum concentrations of anti-Mullerian hormone in women with regular menstrual cycles. *J Reproductive BioMedicine Online* 21, 463 469 2010; 21:463-469.
16. Méduri G, Massin, Guibourdenche J, Bachelot A, Fiori O, Kuttenn F et al. Serum anti-Müllerian hormone expression in women with premature ovarian failure. *J Human Reproduction* 2007; 22(1):117-123.
17. Tomova A, Deepinder F, Robeva R, Kirilov G, Mechandjiev Z, Kumanov P. Anti-Müllerian Hormone in Women with Polycystic Ovary Syndrome Before and After Therapy with Metformin. *J Horm Metab Res* 2011; 43:723-727.
18. El-halawaty S, Rizk A, Kamal M, Aboulhassan M, Al-swaha H, Noah O et al. Clinical significance of serum concentration of anti-Mullerian hormone in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Reproductive BioMedicine Online* 2007; 15(5):495-499.
19. Visser JA, De Jong FH, Laven JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: A new marker for ovarian function. *J Reproduction* 2006; 131:1-9.
20. Fanchin R, Schonaèuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *J Human Reproduction* 2003; 18(2):323-327.
21. Broekmansab FJ, Knauff E, Valkenburg O, Laven JS, Eijkemans MJ, Fausera BC. PCOS according to the Rotterdam consensus criteria: change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors. *J BJOG* 2006; 113:1210-1217.
22. . Balen AH, Laven JS, Tan S, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: International consensus definitions. *J Human Reproduction* 2003; 9(6):505-514.

23. Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P et al. Circulating basal anti-Mullerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *J Fertility and Sterility* 2009; 92(5):1586-1593.

24. Fong SL, Baart EB, Schipper I, Martini E, Visser Ja, Themmen Ap et al. Anti-Müllerian hormone: a marker for oocyte quantity, oocyte quality and embryo quality? *Reproductive BioMedicine* 2008; 16(5):664-670.

25. Van Rooij IA, Broekmans FJ, Te VeldeR. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *J Hum Reprod* 2002; 17(12):3065-3071.

26. Fanchin R, Taieb J, Lozano DH. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status, *Hum Reprod* 2004; 20(4):923-927.

27. 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):658-718.

28. Kwee J, Elting M, 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;15:5-9.

29. Deb S, Campbell GK. Quantitative analysis of antral follicle number and size: a comparison of two-dimensional and automated three-dimensional ultrasound techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 35:354-360.

30. Lekamge DN, Anti-Müllerian hormone as a predictor of IVF outcome. *Reproductive BioMedicine Online* 2007; 14(5):602-610.

31. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S et al. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology, *Human Reproduction* 2007; 22(3):766-771.

32. Kunt C, Ozaksit G, Kurt RK, Gungor An, Kanat-pektas M, Kilic S et al. Anti-Mullerian hormone is a better marker than inhibin B, follicle stimulating hormone, estradiol or antral follicle count in predicting the outcome of in vitro fertilization. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 283:1415-1421.

33. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, De Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-Mullerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertility and Sterility* 2008; 90(3):737-743.

34. Majumder K. The use of anti-Mullerian hormone and antral follicle count to predict the potential of oocytes and embryos. *J Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2010; 150:166-170.

Contributo para a definição do interesse da medição do valor sérico da hormona anti-Mulleriana, em Procriação Medicamente Assistida