

GEISA MARA DA SILVA¹
ANGÉLICA LEMOS DEBS DINIZ²
MORUN BERNARDINO NETO³
TÚLIO TADEU MARCOLINI⁴
LUIS CARLOS ALVES PERILLO⁴
WALDELY DE PAULA PIRES⁴
SÍLVIO MARQUES PESSOA⁵

Número de folículos antrais e o sucesso da fertilização *in vitro*: uma análise multivariada

Number of antral follicles and the success of in vitro fertilization: a multivariate analysis

Palavras-chave

Folículo ovariano
Fertilização *in vitro*
Gravidez
Ultrassonografia

Keywords

Ovarian follicle
Fertilization *in vitro*
Pregnancy
Ultrasonography

Resumo

OBJETIVO: Verificar se a contagem de folículos antrais pode prever o número de óocitos capturados em pacientes submetidas à fertilização *in vitro* (FIV), bem como correlacioná-la com a idade materna e a taxa de gestação. **MÉTODOS:** Estudo observacional retrospectivo que incluiu 193 pacientes submetidas a técnicas de reprodução assistida, entre setembro de 2010 e setembro de 2012, em uma Clínica de Reprodução Humana do Sudeste do Brasil. O estudo incluiu mulheres com indicação de FIV e com dosagem de hormônio folículo-estimulante inferior a 10 mIU/mL no terceiro dia do ciclo, sendo excluídas as receptoras de óocitos. As pacientes foram divididas em três grupos de acordo com o número de folículos antrais (até 10, de 11 a 22, maior ou igual a 23 folículos). Para a comparação entre esses três grupos e o grupo das pacientes que engravidaram, foram excluídas as pacientes que não desenvolveram óocitos e as que não tiveram embriões transferidos. Utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman para medir o grau de associação entre as variáveis numéricas e o teste do χ^2 para comparar taxa de gravidez e contagem de folículos antrais. Para avaliar a probabilidade de gravidez, utilizou-se a regressão logística multivariada, com nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** A taxa de gestação da amostra foi 35,6%. Observou-se correlação significativa (r_s) positiva entre contagem de folículos antrais e número de óocitos aspirados ($r_s=0,5$; $p<0,05$) e negativa entre contagem de folículos antrais e idade ($r_s=-0,5$; $p<0,05$). Não houve diferença significativa ($p=0,16$) na comparação entre os grupos com diferentes números de folículos e o grupo com teste de gravidez positivo, entretanto, por meio da análise multivariada, encontrou-se ponto de corte de 27 folículos antrais, a partir do qual as probabilidades de sucesso de gestação tenderam a ficar constantes. **CONCLUSÕES:** A contagem dos folículos antrais decresce ao longo dos anos, é fator preditor do número de óocitos capturados e pode prever a probabilidade de sucesso da fertilização *in vitro*.

Abstract

PURPOSE: To determine whether the antral follicle count can predict the number of retrieved oocytes in patients undergoing *in vitro* fertilization (IVF) and to correlate it with maternal age and pregnancy rate. **METHODS:** This was a retrospective observational study based on a review of medical records from 193 patients who underwent assisted reproduction techniques between September 2010 and September 2012 in a Clinic for Human Reproduction. The study included women indicated for IVF who had follicle-stimulating hormone levels below 10 mIU/mL on third day of the menstrual cycle, with oocyte recipients being excluded. The patients were divided into three groups according to the number of antral follicle (up to 10 follicles, 11–22 follicles, and 23 or more follicles). To compare these three groups with the group of patients who became pregnant, patients who had not developed oocytes and had not undergone embryo transfer were also excluded. Spearman's correlation coefficient was used to measure the level of association between the numerical variables, and χ^2 test was used to compare pregnancy rates with antral follicle count. To assess the likelihood of pregnancy, we used multivariate logistic regression, with the level of significance set at 5%. **RESULTS:** The pregnancy rate of the sample was 35.6%. There was a positive significant correlation (r_s) between antral follicle count and number of retrieved oocytes ($r_s=0.5$; $p<0.05$) and a negative correlation between antral follicle count and age ($r_s=-0.5$; $p<0.05$). There was no significant difference ($p=0.16$) when groups with different numbers of follicles were compared to the positive pregnancy test group; however, a cutoff of 27 antral follicles was observed in multivariate analysis, after which the probability of successful gestation tended to remain constant. **CONCLUSIONS:** The antral follicle count decreases over the years, is a predictor of the number of retrieved oocytes and can predict the likelihood of the success of *in vitro* fertilization.

Correspondência

Geisa Mara da Silva
Avenida Pará, 1720 – Bairro Umuarama
CEP: 38400-902
Uberlândia (MG), Brasil

Recebido

09/06/2014

Aceito com modificações

28/08/2014

DOI: 10.1590/S0100-720320140005046

Serviço de Ginecologia e Obstetria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia – UFU – Uberlândia (MG), Brasil.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Uberlândia – UFU – Uberlândia (MG), Brasil.

²Departamento de Ginecologia e Obstetria, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia – UFU – Uberlândia (MG), Brasil.

³Departamento de Ciências Básicas e Ambientais da Escola de Engenharia de Lorena – USP – Lorena (SP), Brasil.

⁴Clínica de Reprodução Humana Fecunda – Uberlândia (MG), Brasil.

⁵Universidade Federal de Uberlândia – UFU; Laboratório de Reprodução Humana da Clínica de Reprodução Humana Fecunda – Uberlândia (MG), Brasil.

Conflito de interesses: não há.

Introdução

A fertilidade feminina declina a partir dos 30 anos de idade^{1,2} e, a partir dos 40 anos, há redução pela metade das taxas de gestação². Acredita-se que a crescente tendência dos casais modernos de postergarem a primeira gestação esteja supostamente associada ao aumento dos casos de subfertilidade e, conseqüentemente, à procura por serviços de reprodução assistida. Nesse contexto, a avaliação da reserva ovariana assume papel importante na tentativa de prever a resposta ao estímulo gonadotrófico exógeno³.

A reserva ovariana é o *pool* de folículos ovarianos disponíveis para recrutamento. Representa o potencial funcional do ovário por meio da quantidade e da qualidade dos oócitos⁴. Entre os testes para avaliação da reserva ovariana, empregam-se os marcadores bioquímicos, os métodos de imagem e os testes dinâmicos². Os marcadores bioquímicos empregados são: hormônio folículo-estimulante (FSH) basal, estradiol, inibina A e B, e fator de inibição mülleriana⁵. Os marcadores de imagem são: contagem dos folículos antrais (CFA), volume ovariano total e análise do fluxo das artérias uterinas^{2,6}. Os testes dinâmicos, por sua vez, são: teste após estímulo com clomifeno e a resposta de estradiol e inibina após estímulo com FSH ou agonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)².

A resposta ovariana é avaliada com maior acurácia pelo emprego da CFA no terceiro dia do ciclo menstrual^{2,6}. Atualmente, o rastreamento ecográfico da ovulação tornou-se o método-padrão para avaliar a ovulação, pois, além da predição da qualidade e quantidade de folículos, fornece dados acerca do momento da administração de drogas para posterior coleta ovular, procedimento indispensável entre as técnicas de reprodução assistida⁷. A ultrassonografia transvaginal (USTV) destaca-se entre os diversos testes por ser um método pouco invasivo, de fácil realização, baixo custo e apresentar bom desempenho na avaliação da reserva ovariana quando comparada aos demais testes.

A contagem de folículos antrais como parâmetro ultrassonográfico parece refletir o número de folículos primordiais remanescentes⁸, podendo ter confiável grau de correlação, não apenas com as más respondedoras e suas chances maiores de cancelamento de ciclo como também com sua relação com o número de oócitos aspirados, influenciando o número de embriões disponíveis para seleção, transferência e congelamento⁹.

A CFA tem sido utilizada como fator preditor de resposta para os tratamentos com indução da ovulação¹⁰, sendo útil no prévio aconselhamento dos casais e para a definição da doses de gonadotrofina a ser empregada^{11,12}.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar se a contagem de folículos antrais pode prever o número de oócitos captados em pacientes submetidas a ciclos de hiperestimulação ovariana controlada para

injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) e demonstrar se há correlação entre a idade materna e a taxa de gestação com a contagem dos folículos antrais.

Métodos

Foi realizado estudo observacional retrospectivo, por meio da revisão de prontuários de mulheres submetidas a técnicas de reprodução assistida, no período de setembro de 2010 a setembro de 2012, na Clínica de Reprodução Humana Fecunda em Uberlândia, no estado de Minas Gerais. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Uberlândia sob o número 113.650 na Plataforma Brasil. Todas as pacientes foram informadas da possibilidade de utilização de seus dados clínicos em estudos científicos, sem qualquer identificação ou prejuízo pessoal. Foi obtida assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido inerente ao tratamento de fertilização *in vitro*.

Foram incluídas 193 mulheres selecionadas para realização de fertilização *in vitro*, com dosagem de FSH inferior a 10 mUI/mL no terceiro dia do ciclo menstrual. Foram excluídas 14 pacientes que receberam doação de oócitos. A amostra foi constituída por 179 pacientes, e foi realizada a correlação entre a CFA, a idade materna e o número de oócitos captados.

Buscando a obtenção de maior sensibilidade para o parâmetro CFA, dividiu-se a amostra em três grupos: pacientes com até 10 folículos; de 11 a 22 folículos; e número maior ou igual a 23 folículos. Essa divisão ocorreu de forma arbitrária, conforme adotado por vários autores¹³⁻¹⁵. Com a finalidade de comparar a CFA com a taxa de gravidez, foram excluídas quatro pacientes que não desenvolveram oócitos após a captura, três que tiveram embriões congelados por apresentarem riscos de desenvolver a síndrome da hiperestimulação ovariana e nove que tiveram oócitos congelados para a preservação da fertilidade. Portanto, a comparação entre os grupos formados pela divisão da contagem dos folículos antrais e o teste de gravidez ocorreu entre 163 pacientes.

Entre as causas de infertilidade, os fatores masculino e tubário foram as principais etiologias, contribuindo com 31,3 e 20,2% dos casos, respectivamente. A idade avançada (12,8%), síndrome do ovário policístico (11,8%), endometriose (11,1%), esterilidade sem causa aparente (9,0%), oligo-ovulação (1,1%) e miomatose uterina (0,5%) também compuseram a casuística. Quatro pacientes (2,2%) tiveram oócitos congelados para preservar a fertilidade previamente à quimioterapia.

Nesta amostra, 135 pacientes (75,4%) eram nuligestas, 10 (5,6%) já tinham 1 filho, 15 (8,4%) tinham 2 filhos, 8 (4,5%) tinham 3 ou mais filhos e 11 (6,1%) haviam apresentado apenas abortos de repetição.

Todos os sujeitos se submeteram à técnica de fertilização *in vitro* convencional ou por meio de injeção intracitoplasmática de espermatozoíde. Foram utilizados dois distintos protocolos de estimulação ovariana controlada. Em 71 pacientes (39,6%), foi usado o protocolo com agonista de GnRH e sua administração foi iniciada no meio da fase lútea (protocolo longo de segunda fase). Para as outras 108 mulheres (60,4%), utilizou-se o protocolo com antagonista de GnRH. Esse segundo protocolo foi usado para as pacientes portadoras de síndrome do ovário policístico, nas doadoras de ovócitos e naquelas com mais de 35 anos.

Para as mulheres com ciclo regular e alocadas no protocolo longo, utilizou-se o acetato de nafarelina (Synarel®) na dose diária de 400 mcg dividido em duas vezes, ou acetato de leuprolida (Lupron®) na dose de 0,5 mg/dia, iniciado por volta do 21º dia do ciclo menstrual e mantido até o dia da aplicação da gonadotrofina coriônica humana recombinante (r-hCG). Após 14 dias de uso, realizou-se USTV para confirmar a supressão hipofisária (identificação de espessura endometrial <5 mm e dosagem sérica de estradiol <50 pg/mL) e também para a contagem dos folículos antrais (folículos com diâmetro de 3 a 10 mm).

Foram avaliados os ovários direito e esquerdo e realizada a somatória das duas contagens. Foi utilizado equipamento Voluson Pro 730 da marca GE e transdutor convexo na frequência de 5 a 9 MHz. Os exames foram realizados por dois pesquisadores experientes em reprodução humana, com adequada reprodutibilidade intra e inter-observador, conforme já afirmado por Scheffer et al.¹⁶. Também nesse dia, uma amostra de sangue foi obtida para dosagem de FSH e estradiol.

Após a confirmação do bloqueio hipofisário, iniciou-se a estimulação ovariana com a gonadotrofina recombinante alfafoliotropina (r-hFSH; Gonal F®), cuja dose foi calculada de acordo com a contagem de folículos antrais e a idade da paciente.

As mulheres alocadas para a submissão ao protocolo de estimulação com o uso de antagonista do GnRH foram submetidas a USTV no terceiro dia do ciclo menstrual para a contagem dos folículos antrais. Nesse dia, foi iniciada a estimulação ovariana com a alfafoliotropina (rhFSH; Gonal F®), e a dose de FSH recombinante utilizada foi calculada de acordo com CFA e a idade da paciente. No sexto ou sétimo dia após o início do estímulo, a USTV foi realizada novamente com a finalidade de avaliar o número e o desenvolvimento folicular, com programação de subsequentes exames ultrassonográficos.

A administração do antagonista do GnRH (cetrorrelix; Cetrotide®), na dose única diária de 0,25 mg por via subcutânea, foi realizada quando o folículo líder atingiu 14 mm de diâmetro. A dose de FSH recombinante foi ajustada de acordo com a resposta ovariana. Para as pacientes

com mais de 35 anos, neste mesmo dia, introduziu-se alfafoliotropina recombinante (Luveris®) na dose de 75 UI/dia.

Os exames ultrassonográficos foram repetidos a cada dois dias. As pacientes foram acompanhadas pela USTV até a identificação de pelo menos dois folículos com diâmetro médio maior ou igual a 18 mm. Neste dia, foi aplicada, por via subcutânea, a gonadotrofina coriônica humana recombinante (r-hCG; Ovidrel®), na dose de 250 mcg/0,5 mL, para a maturação folicular final. A captura dos ovócitos foi realizada entre 34 e 36 horas após a aplicação da r-hCG, por punção do fundo de saco vaginal guiada por USTV.

Os oócitos foram avaliados e classificados em maduros (MII) e imaturos, sob uso de microscópio Invertido Eclipse TE 300 (Nikon), e o número de oócitos capturados foi anotado para a futura correlação com a CFA.

As coletas do sêmen foram efetuadas no dia da captura de oócitos. Após a capacitação dos espermatozoides, realizou-se a microinjeção (ICSI) destes nos oócitos em metáfase II.

No segundo ou terceiro dia após a captura dos oócitos, foi realizada a transferência para o útero de um ou dois embriões em procedimento guiado por ultrassonografia abdominal. Empregou-se cateter de Sidney® ou Wallace® para esse procedimento. O suporte de fase lútea foi realizado com progesterona micronizada (600 mcg/dia) por via vaginal. A gravidez bioquímica foi constatada após positividade de beta-hCG, dosado no sangue, 12 a 14 dias após a transferência dos embriões.

Para a análise estatística, utilizou-se o teste de Lilliefors para a análise de normalidade das amostras. Para medir a correlação entre variáveis numéricas (idade, folículos antrais e oócitos na captação), foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman, uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal. A comparação entre os grupos formados pela divisão da contagem dos folículos antrais e o teste de gravidez foi realizada pelo teste do χ^2 .

Para avaliar a probabilidade de gravidez, tendo como variáveis independentes a CFA e a idade, utilizou-se a regressão logística múltipla. A avaliação do modelo foi feita por meio de testes χ^2 e R^2 logit (logaritmo natural da razão das probabilidades), tendo como referência o modelo nulo ou só intercepto.

A regressão logística multivariada é uma forma especial de regressão que é formulada com o objetivo de gerar uma função matemática na qual a resposta permita estabelecer a probabilidade de que determinada condição de idade da paciente e o número de folículos antrais pertença ao grupo de sucesso ou fracasso da fertilização *in vitro*¹⁷.

A função matemática gerada no estudo foi: $\text{Logit } P_i = \ln(P_i/1-P_i) = 1.3646 - (0.067 \cdot \text{Idade}) + 0.0136 \cdot \text{CFA}$; em que $P = 1/(1 + 1^{-(\alpha + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \dots + \beta_n \cdot X_n)})$ e $1 = 2,7182818284$.

As variáveis que não foram consideradas independentes (fator masculino, outros fatores femininos, condições laboratoriais, etc.) foram indiretamente ponderadas no intercepto (1,3646).

Foi adotado como nível de significância o valor de 5% ($p < 0,05$). A análise estatística foi realizada pelos programas *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS versão 17.0) e Bioestat 5.0®.

Resultados

A amostra foi constituída por 179 pacientes com mediana da idade de 34 anos. A mediana dos folículos antrais no terceiro dia do ciclo foi 14,5 e a dos oócitos captados foi 6, conforme a Tabela 1. Entre as 163 pacientes que realizaram o

Tabela 1. Apresentação das variáveis e causas de infertilidade de 179 pacientes submetidas a ciclo de hiperestimulação ovariana na fertilização *in vitro*

Variável	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade	34	19	46
CFA	14,5	3	57
Oócitos	6	1	19
Causa da infertilidade		n	%
Fator masculino		56	31,3
Fator tubáreo		36	20,2
Idade avançada		23	12,8
Ovários policísticos		21	11,8
Endometriose		20	11,1
Sem causa aparente		16	9
Oligo-ovulação		2	1,1
Miomatose uterina		1	0,5

CFA: contagem de folículos antrais

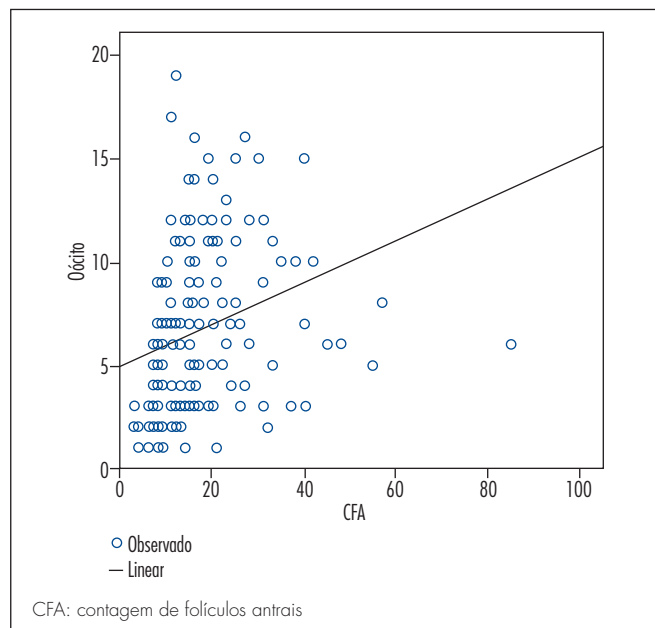


Figura 1. Correlação entre contagem de folículos antrais e o número de oócitos captados

teste de gravidez, 58 apresentaram resultado positivo, determinando uma taxa de gestação de 35,6% por ciclo iniciado.

Considerando a CFA como variável principal, encontrou-se, por meio do coeficiente de correlação de Spearman, correlação significativa (cs) positiva com o número de oócitos captados ($cs=0,5$; $p < 0,05$) e correlação significativa negativa com a idade ($cs=-0,5$; $p < 0,05$), conforme demonstrado nas Figuras 1 e 2.

Ao dividir as pacientes em três grupos de acordo com o número de folículos antrais: até 10, de 11 a 22, e maior ou igual a 23 folículos, e, a seguir, compará-los, por meio do teste do χ^2 , com o grupo de pacientes que engravidaram, foi obtida taxa de gestação de 24,4, 38,3 e 43,2%, respectivamente (Tabela 2). Observou-se uma tendência de aumento percentual na positividade do teste de gravidez com o aumento da CFA, porém não houve diferença significativa com $p=0,16$.

A determinação do ponto de inversão dos dados (ponte de corte), a partir do qual as probabilidades de sucesso da fertilização *in vitro* tenderam a ficar constantes, está representada na Figura 3, e o valor fixado foi de aproximadamente 27 folículos antrais.

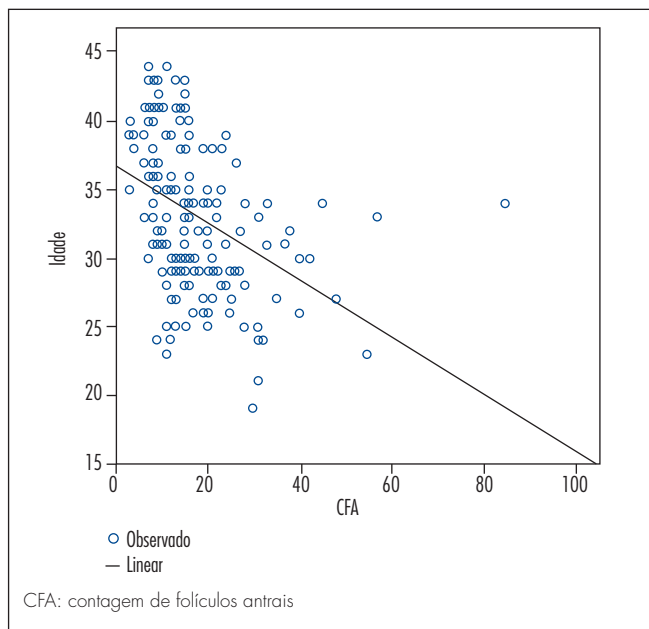


Figura 2. Correlação entre contagem de folículos antrais e a idade das pacientes inférteis

Tabela 2. Comparação entre o teste de gravidez positivo e negativo e os grupos formados pela subdivisão da contagem dos folículos antrais em 163 ciclos de hiperestimulação ovariana na fertilização *in vitro*

	Contagem de folículos antrais			Total
	≤ 10 n (%)	11 a 22 n (%)	≥ 23 n (%)	
Teste gravidez positivo	11 (24,4)	31 (38,3)	16 (43,2)	58
Teste gravidez negativo	34 (75,6)	50 (61,7)	21 (56,8)	105
Total	45 (100)	81 (100)	37 (100)	163

Teste de χ^2 $p=0,162$

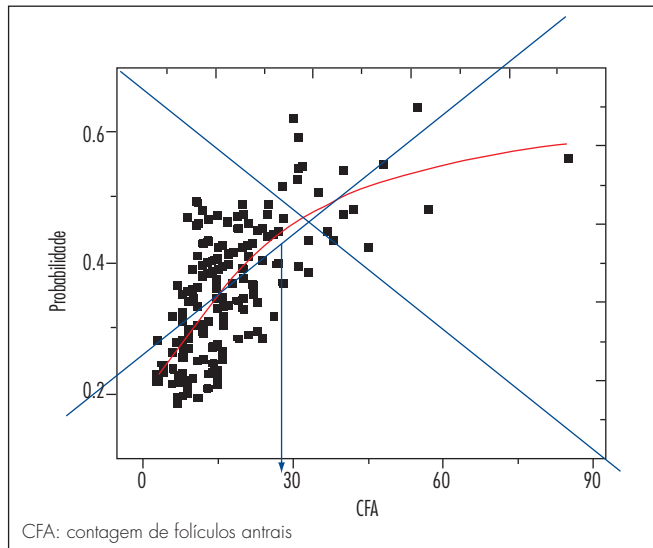


Figura 3. Distribuição da probabilidade de sucesso da fertilização *in vitro*, usando como variáveis independentes a contagem de folículos antrais e a idade

Com base na fórmula matemática de regressão logística multivariada para o cálculo de probabilidade de sucesso na fertilização *in vitro*, tendo como apoio a CFA e a idade, a média calculada da probabilidade de sucesso da atual amostra foi 0,42.

Discussão

O conceito de envelhecimento reprodutivo sugere que o declínio do *pool* folicular, o qual se relaciona com a idade cronológica, determina a perda da fertilidade feminina¹⁸. No entanto, apenas a idade não prediz de forma confiável a capacidade reprodutiva da mulher¹⁹.

Por esse motivo, outros métodos que avaliam essa função têm sido estudados, a fim de distinguir aquelas pacientes que ainda podem ser consideradas férteis daquelas que estão se aproximando de uma diminuição da capacidade reprodutiva. Essa avaliação se aplica principalmente a pacientes inférteis candidatas a técnicas de reprodução assistida, na tentativa de selecionar aquelas que apresentam um bom prognóstico para gestação viável²⁰.

A questão da aplicação clínica da contagem dos folículos antrais, no grupo de pacientes selecionadas para serem submetidas a técnicas de reprodução assistida, tem sido levada em consideração em razão do alto grau de complexidade e custo do tratamento, além do estado natural de ansiedade, comum a muitos casais.

O presente estudo pretendeu analisar variáveis preditivas que pudessem funcionar como linhas orientadoras, auxiliando o clínico no aconselhamento e na adoção da estratégia terapêutica mais adequada. Foi analisada de forma específica a CFA e sua correlação com a reserva ovariana, taxa de gestação e idade materna após estímulo

ovariano controlado para injeção intracitoplasmática de espermatozoide.

Não existe consenso a respeito do melhor preditor do desenvolvimento folicular induzido pelas gonadotrofinas exógenas^{7,21,22}. Em uma grande revisão sistemática, os autores afirmaram que os testes de reserva ovariana conhecidos até o momento mostram modestas propriedades preditivas e não apresentam utilização clínica relevante²².

No entanto, a avaliação ecográfica da CFA tem sido investigada como uma medida biofísica de avaliação da reserva ovariana⁷. Alguns estudos favorecem o entendimento de que as relações hormonais, como os níveis de inibina B, hormônio anti-mülleriano e FSH, podem se somar, mas não suplantam, à CFA, que parece ter maior valor para avaliação da reserva folicular^{9,23}.

A CFA depende do tamanho do *pool* folicular primordial do qual os folículos são recrutados. Quanto mais folículos primordiais estiverem presentes, mais folículos poderão crescer, o que sugere que a contagem de folículos antrais possa ser um método de avaliação da capacidade reprodutiva¹¹.

Em um estudo envolvendo 474 mulheres inférteis, foi verificada correlação significativa entre o número de folículos antrais e os testes hormonais (basais ou dinâmicos), sugerindo que a CFA representa um dos melhores parâmetros funcionais quantitativos de reserva ovariana²⁴.

Recentemente, vários trabalhos têm sido publicados sobre a relação entre a CFA e a resposta ovariana na fertilização *in vitro*^{25,26}. Em um estudo prospectivo com 52 pacientes entre 18 e 46 anos, concluiu-se que a CFA apresenta maior valor preditivo de resposta no protocolo de indução da ovulação se comparado à medida do volume ovariano e testes hormonais. Além disso, a CFA pode ser considerada o teste de primeira escolha para a avaliação da reserva ovariana. O valor de corte para prever a resposta ovariana no estudo citado foi de 15,5²⁵.

Os autores de outro estudo com 331 pacientes submetidas a ciclos de recuperação de oócitos concluíram que a CFA é o único preditor isolado para alta e baixa resposta ovariana, com valor de corte de ≥ 15 ²⁶.

No presente estudo, houve correlação positiva significativa entre a CFA e o número de oócitos obtidos na captação, confirmando os dados publicados por outros autores^{7,9,15}. Esse achado confirma que a CFA é um marcador de resposta ovariana com capacidade preditiva^{15,22}.

A maioria dos estudos demonstra uma relação íntima da contagem de folículos antrais com a idade^{8,11}. Em 2011, foram publicados os primeiros nomogramas que correlacionaram a CFA com a idade²⁷⁻²⁹. Os autores encontraram correlação linear e negativa entre a CFA e a idade em todos os percentis^{27,28}, correlação linear e alta para o percentil 50 e uma correlação alta e bifásica para os outros percentis²⁹.

Outro achado do atual estudo foi a correlação significativa negativa com a idade, mostrando associação inversa da idade da mulher com a CFA, também demonstrada em outros trabalhos^{12,14}. Em contrapartida, essa associação inversa não foi confirmada no trabalho publicado por Souza et al.⁷, que analisaram informações de 51 pacientes com idade igual ou menor que 37 anos, tendo como explicação provável o tamanho amostral reduzido e a restrição do limite de idade.

No presente estudo, não houve diferença significativa após a comparação entre os grupos com diferentes quantias de folículos antrais e os grupos com teste de gravidez positivo ou negativo. Após a divisão das pacientes em três grupos de acordo com o número de folículos antrais: até 10, de 11 a 22, e ≥ 23 folículos, observou-se uma tendência de aumento percentual na positividade do teste de gravidez com o aumento da CFA, porém sem significância. Esse resultado está de acordo com os achados de outros trabalhos publicados recentemente^{6,15,21,22}.

Em uma metanálise com 17 estudos que avaliaram a aplicabilidade da ultrassonografia como teste de reserva ovariana, demonstrou-se que a CFA não é eficaz para a previsão de sucesso de gravidez⁶. Esses dados foram reafirmados mais tarde em outra revisão sistemática de 15 estudos²².

Em 2011, um estudo analisou informações de 1.049 ciclos de estimulação de fertilização *in vitro* em pacientes submetidas a dois protocolos de estimulação. As pacientes foram estratificadas por protocolo de estimulação e, em seguida, divididas em quatro grupos baseados na CFA (1–5, 6–10, 11–15 e ≥ 16 folículos antrais). A taxa de gravidez não diferiu entre os grupos de CFA em nenhum dos dois protocolos utilizados. Conclui-se que a CFA não prevê a qualidade do embrião ou taxa de gestação¹⁵.

Em um recente estudo retrospectivo, em que foram incluídas 1.156 mulheres submetidas ao primeiro ciclo de fertilização *in vitro* (FIV), houve uma tendência significativa de aumento da taxa de nascidos vivos em mulheres com maior CFA. No entanto, a regressão logística revelou que a CFA não foi preditora de nascidos vivos após o ajuste para idade e número de embriões disponíveis para transferência²¹.

Em oposição a esses autores, Holte et al.¹³ estudaram ciclos de FIV-ICSI de 2.092 mulheres e encontraram correlação positiva da CFA com as taxas de gravidez e de nascidos vivos. Não houve incremento nas taxas de gestação e natalidade em CFA acima de 30 folículos¹³. No atual estudo, a regressão logística multivariada revelou maior probabilidade de sucesso de gravidez até aproximadamente 27 folículos antrais. Após esse ponto de corte, as probabilidades de sucesso tenderam a ficar constantes.

Em um grande estudo prospectivo com 1.012 mulheres, os autores afirmaram que existe uma relação linear entre idade, CFA e taxa de gravidez, confirmando que a contagem dos folículos antrais é um preditor significativo de resposta ovariana e sucesso de gestação após ICSI. A amostra foi dividida em quatro grupos de acordo com a CFA. No quartil de 3 a 10, 11 a 15, 16 a 22 e ≥ 23 folículos, observaram taxa de nascidos vivos de 23, 34, 39 e 44%, respectivamente. A taxa de natalidade atingiu 35% com CFA de 34, sem aumento adicional na taxa de nascidos vivos com CFA acima de 34 folículos. Esses autores ainda afirmaram que a CFA melhor avalia os aspectos quantitativos da reserva ovariana (resposta a gonadotrofinas) do que os componentes qualitativos (taxa de nascimento)¹⁴. Isso é esperado porque o sucesso da reprodução assistida é influenciado não só pelo número de oócitos³⁰ mas também pela qualidade do esperma³¹, o desempenho do laboratório³², o número de embriões transferidos, a técnica de transferência dos embriões³³ e da receptividade endometrial³⁴.

No atual estudo, definiu-se um modelo matemático para cálculo de probabilidade de sucesso de FIV que se preocupou em corrigir outras variáveis externas (fator masculino, outros fatores femininos, condições laboratoriais, etc.), por meio de ponderação no intercepto na regressão logística multivariada. O atual estudo tem como vantagem o fato de ter calculado a probabilidade de sucesso da FIV de forma individualizada, levando em consideração toda a dispersão da amostra, sem fixar o cálculo na média da taxa de gestação, o que leva a cálculos mais próximos da realidade.

Em 2013, os autores de um estudo retrospectivo concluíram que as chances de obtenção de um nascido vivo diminuem significativamente com o aumento da idade e com a diminuição da CFA e do número de oócitos captados³⁵, o que está de acordo com o atual estudo.

O presente estudo tem como limitação o pequeno número amostral. Entretanto, com a análise estatística multivariada, foi possível construir um modelo matemático para o cálculo da probabilidade de sucesso da fertilização *in vitro*, usando duas variáveis de fácil aquisição, que pode ser usado como ferramenta preditora no aconselhamento de casais inférteis.

Concluiu-se nesse estudo que a contagem dos folículos antrais no terceiro dia do ciclo menstrual por meio de ultrassonografia transvaginal pode ser utilizada como fator preditivo do número de oócitos captados em pacientes inférteis submetidas a ciclos de hiperestimulação ovariana controlada, bem como da probabilidade de sucesso da fertilização *in vitro*. A idade apresentou relação inversa com a CFA, demonstrando o declínio da quantidade de folículos antrais ao longo dos anos.

Referências

- van Zonneveld P, Scheffer GJ, Broekmans FJ, Blankenstein MA, de Jong FH, Looman CW, et al. Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged over the 40 years compared with a reference population of young women. *Hum Reprod*. 2003;18(3):495-501.
- Baird DT, Collins J, Egozcue J, Eyers LH, Gianaroli L, Leridon H, et al. Fertility and ageing. *Hum Reprod Update*. 2005;11(3):261-76.
- Carvalho BR, Rosa e Silva ACJS. Hormônio anti-mulleriano e contagem de folículos antrais como marcadores de reserva ovariana. *SOBRAGE*. 2007;7(32):5-8.
- Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve – should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod*. 2006;21(11):2729-35.
- Silberstein T, MacLaughlin DT, Shai T, Trimarchi JR, Lambert-Messerlian G, Seifer DB, et al. Mullerian inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology. *Hum Reprod*. 2006;21(1):159-63.
- 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.
- Souza MCB, Souza MM, Oliveira JBA, Henriques CA, Cardoso FFO, Mancebo ACA, et al. [Use of antral follicle count to predict the response pattern in controlled ovarian hyperstimulation cycles with GnRH antagonist]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007;30(1):36-41. Portuguese.
- Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod*. 2004;19(7):1612-7.
- Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1997;12(2):220-3.
- 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. *Hum Reprod*. 2003;18(4):781-7.
- Tufan E, Elter K, Durmusoglu F. Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve tests. *Hum Reprod*. 2004;19(11):2484-9.
- Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG*. 2005;112(10):1384-90.
- Holte J, Brodin T, Berglund L, Hadziosmanovic N, Olovsson M, Bergh T. Antral follicle counts are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction, with superior treatment outcome in women with polycystic ovaries. *Fertil Steril*. 2011;96(3):594-9.
- 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(3):657-63.
- Hsu A, Arny M, Knee AB, Bell C, Cook E, Novak AL, et al. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertil Steril*. 2011;95(2):474-9.
- Scheffer GJ, Broekmans FJM, Bancsi LF, Habbema JDF, Looman CWN, Te Velde ER. Quantitative transvaginal two-and three-dimensional sonography of the ovaries: reproducibility of antral follicle counts. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002;20(3):270-5.
- Hair JF Jr, Black WC, Babin BJ, Anderson RE, Tatham RL. Análise multivariada de dados. 6a ed. Porto Alegre: Bookman; 2009.
- Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update*. 2002;8(2):141-54.
- Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test of ovarian reserve screening. *Fertil Steril*. 2004;82(1):180-5.
- Silva ALB, Vilodre LCF. Avaliação da reserva ovariana: métodos atuais. *Femina*. 2009;37(3):149-54.
- Li HW, Lee VC, Lau EY, Yeung WS, Ho PC, Ng EH. Role of baseline antral follicle count and anti-mullerian hormone in prediction of cumulative live birth in the first in vitro fertilization cycle: a retrospective cohort analysis. *Plos One*. 2013;8(4):e61095.
- 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.
- Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. *Hum Reprod*. 2003;18(1):35-44.
- 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.
- Adibi A, Mardanian F, Hajjahmadi S. Comparison of ovarian volume and antral follicle count with endocrine tests for prediction of responsiveness in ovulation induction protocols. *Adv Biomed Res*. 2012;1:71.
- He Y, Xia R, Chen X, Ye D, Tang Y, Li P, et al. [Estimation of ovarian response using multiple predictors of ovarian reserve in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Bao*. 2013;33(2):216-20. Chinese.
- La Marca A, Spada E, Sighinolfi G, Argento C, Tirelli A, Giulini A, et al. Age-specific nomogram for the decline in antral follicle count throughout the reproductive period. *Fertil Steril*. 2011;95(2):684-8.
- Castro EC, Florêncio RS, Monteiro Filho G, Amaral WN. [Correlation between age and antral follicles count in infertile women]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2012;34(4):184-8. Portuguese.
- Almog B, Shehata F, Shalom-Paz E, Tan SL, Tulandi T. Age-related nomogram for antral follicle count: McGill reference guide. *Fertil Steril*. 2011;95(2):663-6.
- Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2011;26(7):1768-74.
- Tomsu M, Sharma V, Miller D. Embryo quality and IVF treatment outcomes may correlate with different sperm comet assay parameters. *Hum Reprod*. 2002;17(7):1856-62.
- Mayer JF, Jones EL, Dowling-Lacey D, Nehchiri F, Muasher SJ, Gibbons WE, et al. Total quality improvement in the IVF laboratory: choosing indicators of quality. *Reprod Biomed Online*. 2003;7(6):695-9.
- Ghazzawi IM, Al-Hasani S, Karaki R, Sousa S. Transfer technique and catheter choice influence the incidence of transcervical embryo expulsion and the outcome of IVF. *Hum Reprod*. 1999;14(3):677-82.
- Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab*. 2004;15(2):84-90.
- Lukaszuk K, Kunicki M, Liss J, Lukaszuk M, Jakiel G. Use of ovarian reserve parameters for predicting live births in women undergoing in vitro fertilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;168(2):173-7.