

Reserva ovariana e seu impacto na fertilidade feminina

Dr Artur Dzik, MD, PhD

Mestre e Doutor em Ginecoçogia pela FMUSP

Diretor do Serviço de Esterilidade Conjugal do CRM (Hospital Pérola Byington)

Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana SBRH 2010 – 2012

Dr Renato Fanchin, MD, PhD

Chief of the Division of Reproductive Medicine

Department of Obstetrics & Gynecology

Hôpital A. Bécclère, University Paris-Sud 11

INSERM U-782

Clamart, France

A fertilização *in vitro* e a transferência de embriões (FIVETE) torna-se uma realidade, na terapêutica de casais inférteis, a partir do nascimento de Louise Brown em julho de 1978, em Oldham, na Inglaterra ¹. Em 1976 o grupo da Clínica Bourn Hall obtém a primeira gravidez pela técnica de FIVETE que resultou em prenhez ectópica ². O primeiro nascimento pela técnica de FIVETE, é obtido pelo grupo inglês à partir da fertilização de um único ovócito captado em ciclo natural. Edwards, depois de haver realizado 100 ciclos induzidos sem sucesso, preconiza a FIVETE sem a utilização de drogas indutoras da ovulação. Existem atualmente cerca de 5 milhões de crianças nascidas por técnicas de reprodução assistida.

O resultado da FIVETE depende diretamente da resposta ovariana à estimulação exógena. A importância deste fato justifica o estudo dos vários fatores prognósticos da intensidade da resposta ovariana à esta estimulação. Os principais fatores prognósticos são:

idade cronológica, dosagem de hormônio folículo estimulante (FSH) basal, hormônio 17-beta estradiol (E2) basal, inibina B, hormônio anti-mulleriano (AMH), testes de estímulo Challenge test de Navot (CCCT), Exogenous FSH Ovarian Reserve Test (EFORT) e a Contagem do Número de Folículos Antrais na avaliação da reserva ovariana.

1.IDADE

Um trabalho que estudou uma população de Hutterites (grupo étnico onde o planejamento familiar é proibido) mostra taxa de infertilidade de 11% em mulheres com menos de 34 anos, 33% entre 35 e 40 anos e 87% de 41 e 45 anos³.

Dados da Red Latinoamericana de Reproduccion Assistida (REDE) de 2003, mostram que 49,50% dos ciclos realizados de FIV foram em mulheres acima de 35 anos, 34,8 % (4255 ciclos) entre 35 e 40 anos e 14,7% (1791 ciclos) acima de 40 anos de idade em 117 centros acreditados na América Latina⁴.

Um estudo com 512 pacientes em 1.101 ciclos de FIVeTE mostrou um aumento significativo ($p < 0,01$) na taxa de gravidez de pacientes com idade inferior a 30 anos quando comparadas com mulheres com mais de 37 anos (26% e 9% respectivamente) e diminuição, não significativa, na taxa de abortamento nas pacientes com idade inferior a 30 anos quando comparadas com mulheres com mais de 40 anos (50% e 22% respectivamente)⁵.

Em 1991 foram avaliados a idade e o nível do FSH basal como fatores prognósticos independentes em 1478 ciclos de FIVeTE, mostrando diferença significativa ($p < 0,0001$) na taxa de gravidez entre pacientes com idade igual ou inferior a 30 anos e igual ou superior a 40 anos (28% e 12% respectivamente). A taxa de implantação embrionária (número de sacos gestacionais obtidos por número de embriões transferidos) diminuiu com o aumento da idade. Para mulheres com idade inferior a 30 anos, entre 30 e 34 anos, entre 35 e 39 e superior a 40 anos, a taxa de implantação embrionária foi de 8,0%, 5,9%, 6,0% e 4,0% respectivamente. A taxa de cancelamento neste trabalho não se correlacionou com a idade, variando de 4% a 9% ($p > 0,05$)⁶.

2. FSH BASAL

Um estudo retrospectivo em 758 ciclos de FIVETE correlacionando o nível do FSH basal, no terceiro dia do ciclo menstrual, com a taxa de cancelamento, taxa de gravidez e taxa de abortamento. A taxa de cancelamento foi significativamente superior ($p < 0,01$) no grupo de pacientes com FSH maior ou igual à 25 mUI/ml em relação ao grupo com FSH menor que 15 mUI/ml, (32,1% e 9,2% respectivamente). A taxa de gravidez foi significativamente superior ($p < 0,05$) no grupo de pacientes com FSH menor que 15 mUI/ml quando comparada ao grupo de pacientes com FSH maior que 25 mUI/ml, (24% e 10,7% respectivamente)⁷.

A avaliação simultânea dos parâmetros FSH basal e idade como fator prognóstico da taxa de cancelamento em 45 ciclos de FIVETE foi estudada em 1996. As variáveis FSH e Idade apresentaram nível descritivo de 0,009 e 0,041 respectivamente no *screening* das pacientes boas respondedoras e mal respondedoras propondo um modelo estatístico onde estas duas variáveis são utilizadas em conjunto⁸.

Em 1991 um estudo correlacionou o nível do FSH basal com a taxa de cancelamento e taxa de gravidez em 1.478 ciclos de FIVETE. A taxa de cancelamento foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$) nos 4 grupos de mulheres analisadas: 1) FSH menor que 15 UI/L (5%); 2) FSH menor que 20 UI/L (10%); 3) FSH menor que 25 UI/L (20%), e 4) FSH menor que 30 UI/L (40%) A taxa de gravidez diminuiu gradativamente até o FSH chegar a 20 UI/L. Acima deste valor, a taxa de gravidez caiu abruptamente (0%)⁶.

3. ESTRADIOL BASAL

O nível sérico do E2 basal no 3º dia do ciclo menstrual foi estudado como fator prognóstico de taxa de cancelamento e taxa de gravidez em pacientes em ciclo de FIVETE.

Foram estudados prospectivamente 225 pacientes em 292 ciclos de FIVETE correlacionando a taxa de cancelamento e taxa de gravidez em 3 grupos distintos: Grupo 1 (E2 menor que 80 pg/ml); Grupo 2 (E2 maior que 80 pg/ml e menor que 100 pg/ml) e Grupo 3 E2 maior ou igual à 100 pg/ml. A taxa de cancelamento foi de 0,4%, 18,5% e 33,3% respectivamente ($p < 0,0001$). A taxa de gravidez foi de 37%, 14,8% e 0% respectivamente ($p = 0,02$)⁹.

Para alguns autores,, o nível do FSH basal isoladamente é fator que representa melhor o prognóstico do resultado da FIVETE em comparação com o nível de E2 basal⁷.

Analisando 1309 ciclos de FIVeTE, foi verificado que o nível do E2 basal associado ao nível do FSH basal, se apresentou como melhor fator prognóstico na taxa de gravidez do que quando avaliados de forma isolada¹⁰.

Um estudo prospectivo de 231 ciclos de FIVeTE demonstrou a importância da associação do E2 basal ao FSH basal na avaliação da reserva ovariana. Estes autores obtiveram taxa de cancelamento estatisticamente superior no grupo (FSH basal normal e E2 basal elevado) *versus* (FSH normal e E2 basal normal) que foi de 56% e 13% respectivamente ($p < 0,00002$)¹¹.

4. INIBINA B BASAL

A literatura, já na década de 90, tem reforçado a importância do papel das inibinas como fator prognóstico da reserva ovariana em pacientes submetidas à FIVeTE. As inibinas são glicoproteínas produzidas pelas células da teca e granulosa ovariana, células de Sertoli testiculares e em pequena quantidade por tecidos extra gonadais (medula óssea, cérebro, hipófise, fígado e adrenal). Tratam-se de hormônios importantes de controle na retroalimentação negativa da secreção de gonadotrofinas hipofisárias. Existem, pelo menos, duas formas moleculares ativas em circulação: a Inibina A e Inibina B. Com o aumento da idade materna temos menor número de folículos antrais, conseqüentemente baixa concentração de inibina B determinando aumento dos níveis de FSH¹².

Um estudo com 24 mulheres na perimenopausa, descreveram que a diminuição dos níveis séricos de Inibina A e B antecede a elevação do FSH basal, caracterizando, dentre outros fatores, uma diminuição da reserva ovariana. Estes autores descreveram a Inibina B como o marcador direto da “idade ovariana”¹³.

O limite máximo da média de Inibina B basal em mulheres eumenorréicas férteis foi estudado e definido em 45 pg/ml por um estudo de 1996¹⁴.

Um trabalho avaliou o nível sérico basal de Inibina B como fator prognóstico da taxa de cancelamento e taxa de gravidez clínica em 156 pacientes que se submeteram a 178 ciclos de FIVeTE. As pacientes foram subdivididas em: grupo A, Inibina B < 45 pg/ml e grupo B, Inibina B > 45 pg/ml. As pacientes do grupo A apresentaram taxa de cancelamento estatisticamente superior às do grupo B (19% *versus* 5%, $p = 0,009$) e taxa de gravidez estatisticamente inferior (7% e 26%, $p < 0,009$) respectivamente¹⁵.

Em 1999 alguns autores estudaram 156 pacientes em ciclos de FIVeTE subdividindo-as em: grupo A, 109 pacientes com boa resposta à HOC (>10 ovócitos) e grupo B, com 47

pacientes com má resposta (< 4 ovócitos). Estes autores encontraram diferença significativa entre os níveis séricos de Inibina B basal nos dois grupos, $108,0 \pm 6,0$ e $80,2 \pm 7,3$ respectivamente ($p < 0,04$) e não encontraram diferença significativa entre os níveis séricos de FSH basal, $5,7 \pm 0,24$ e $6,5 \pm 0,4$ respectivamente. Concluíram neste estudo que mulheres com declínio da reserva ovariana apresentam queda da inibina B basal anterior à elevação do FSH basal¹⁶.

5. HORMÔNIO ANTI-MULLERIANO

O AMH, descoberto em 1940, é uma glicoproteína de 560 aminoácidos pertencente à grande família TGF- β (Transforming Growth Factor). Os níveis de AMH aumentam na puberdade e são indetectáveis na menopausa.

O AMH é produzido pelas células da granulosa dos folículos pré antrais e antrais pequenos, principalmente pelos folículos < 4mm e com concentração diminuída naqueles de 6 a 8 mm de diâmetro, tornando-se indetectável nos folículos > 10 mm, diminuindo assim eventuais erros de medida relacionados ao desenvolvimento folicular precoce. Um estudo verificou então a presença do AMH nos folículos FSH independentes mostrando sua importância no processo de recrutamento folicular¹⁷.

Fanchin et al demonstraram existir uma correlação entre o nível do AMH e o CFA mais forte que aquela encontrada entre a Inibina B e o FSH na fase folicular inicial. Nas pacientes portadoras de ovários polimicrocísticos, caracterizados por um excesso de folículos em crescimento, esta forte correlação entre AMH e o CFA explica a alta taxa de AMH entre as pacientes (18)

O desenvolvimento folicular precoce não altera a relação entre AMH e CFA, contrariamente dos níveis de Inibina B e FSH. Existe pouca variação inter-ciclo e mesmo durante o ciclo menstrual do AMH, fatores fundamentais para colocá-lo em conjunto ao CFA como os principais marcadores do status folicular.(19,20,21,22)

Recentemente foi demonstrado que o AMH é um marcador da RO superior à idade cronológica por prever o grau de envelhecimento ovariano, reforçando a hipótese de utilizá-lo como preditor da idade do início da menopausa, (23)

Nas pacientes com grau variável de hipergonadotrofismo, como nas com menopausa precoce, o AMH parece ser um melhor parâmetro para estimar a depleção do pool de folículos ovarianos. (24)

Trata-se de marcador da função das células da granulosa, refletindo indiretamente a sua massa, sendo utilizado para avaliar a reserva ovariana e o envelhecimento ovariano.

Recentemente alguns autores estudaram os níveis séricos de AMH de 20 pacientes com idade de 22 ± 3 anos, durante um ciclo menstrual normal. Observaram que os valores de AMH mantinham-se quase constantes durante o ciclo, com pequenas variações, não estatisticamente significantes.²⁵

Outros autores dosaram AMH em 47 mulheres inférteis em programação de técnicas de reprodução assistida (ART) durante três ciclos consecutivos. A duração média dos ciclos foi de 28 (25-34) dias. Os valores de AMH no primeiro, segundo e terceiro ciclo foram de 0,93 (0,24-6,40)ng/ml, 0,95(0,24-7,08)ng/ml, e 0,81 (0,24-5,11)ng/ml, respectivamente. As diferenças longitudinais das dosagens de AMH não foram estatisticamente significantes²⁶.

Os estudos mostram a possibilidade de obter amostras do AMH, para avaliação da reserva ovariana, em qualquer dia do ciclo, uma vez que a variação dos níveis séricos intra-ciclo e inter-ciclo são estatisticamente não significativos.

Uma sensibilidade de 53% e especificidade de 96% para o valor de AMH de 4,9 pmol/l (0,7ng/ml) para cancelamento do ciclo foi encontrada em um estudo em 2005²⁷.

A análise dos valores de AMH por meio de coleta de sangue periférico de um ciclo espontâneo, estimaram que valores de corte para AMH de 0,5ng/ml apresentariam uma sensibilidade de 85% e especificidade de 82,3% em predizer pacientes pobre respondedoras e, para o valor de AMH de 0,75 ng/ml, a sensibilidade e especificidade seriam de 80% e 93%, respectivamente²⁵.

Um estudo com 119 pacientes submetidas á FIVE TE obteve níveis de AMH de 0,2 (0,0 – 1,7)mcg/L VS 1,4 (0,0 – 6,2) mcg/L para o grupo das más respondedoras e boas respondedoras respectivamente. Descreveram correlação direta dos níveis de AMH com o número de folículos antrais e ovócitos recuperados descrevendo um novo marcador da reserva ovariana²⁸.

Em nosso meio um estudo mostrou igual correlação em estudo clínico de 24 pacientes submetidas à FIVeTE, dosando o AMH basal no “screening” de paciente boas e más respondedoras, sugerindo preliminarmente o valor de corte de 1,85 ng/ml para diferenciar os 2 grupos²⁹.

Recente e sistemático estudo da literatura, analisando 20 trabalhos com uma casuística de 2392 pacientes, encontrou que o AMH é o melhor marcador da resposta ovariana em ciclos estimulados, quando comparado ao volume ovariano, FSH, E2, Inibina B e idade. Apenas 9 estudos permitiam comparação do AMH a contagem de folículos antrais (CFA), dos quais 5 mostraram equivalência entre ambos os testes, 2 a superioridade do AMH e 2 a do CFA. Os valores de corte do AMH em prever más respondedoras variam de 0,1 ng/ml a 1,26 ng/ml para uma sensibilidade e especificidade de 87,5 vs 97% e 72,2 vs 41% respectivamente³⁰.

Já em um estudo recente e prospectivo de 135 mulheres em programação de TRA, encontraram para valores de corte de $AMH \leq 0,99$ ng/ml para uma sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo de 100%, 73%, 32% e 100% respectivamente em prever más respondedoras. Os autores sugerem este número como valor de corte ideal, o mesmo encontrado em outros trabalhos³¹.

Vários estudos da literatura correlacionam a dosagem do AMH com a resposta ovariana na FIV. Van Rooj et al (19), mostraram que no grupo das más respondedoras (< 4 folículos no dia da punção ovariana) existe uma baixa dosagem do AMH e um pequeno número de CFA medidos no 3 dia do ciclo menstrual. Uma recente meta-análise comparando o valor preditivo das dosagens do AMH e CFA no resultado da FIV mostrou que não há diferença significativa nos 2 marcadores (32). O valor preditivo isolado do AMH para má resposta variou de 0,2 a 0,75 ng/ml com uma sensibilidade de 76 a 96% e especificidade de 64 a 84% (33,34,35,36). Se o AMH é um bom marcador da resposta à hiperestimulação ovariana ele nem sempre é preditor da taxa de gravidez em ciclos de FIV (37,38).

Estudos recentes mostram que tanto em ciclos espontâneos com estimulados o AMH pode indicar a competência ovocitária (38)

Fanchin et al, estudaram a correlação da concentração do AMH no líquido intra-folicular e a qualidade ovocitária. Este fato pode talvez no futuro ajudar na seleção dos embriões com melhor potencial de implantação.

6. TESTES DE ESTÍMULO: CHALLENGE TEST DE NAVOT (CCCT)

Estão também descritos na literatura vários testes de reserva ovariana após estímulo, quando utiliza-se indutores da ovulação com o objetivo de aumentar o valor preditivo da dosagem do FSH basal no prognóstico da FIVETE.

O teste de reserva ovariana estimulado com CC foi descrito em 1987. O teste consistia na avaliação do nível do FSH basal antes e depois da administração de 100 mg/dia de CC do 5º ao 9º dia do ciclo menstrual. O teste é considerado normal quando a somatória do FSH basal e do FSH após estímulo (após a administração do CC) fosse menor que 26 mUI/ml e anormal quando maior que 26mUI/ml (o valor de corte do FSH foi estabelecido a partir da dosagem média mais dois desvios padrões)³².

Um estudo prospectivo avaliou o valor prognóstico do teste do CC na taxa de cancelamento e taxa de gravidez em 114 ciclos de FIVETE. A taxa de cancelamento foi significativamente superior ($p < 0,05$) no grupo com resposta anormal ao teste em relação ao grupo com resposta normal (29% e 1,5% respectivamente). A taxa de gravidez no grupo com resposta normal foi de 20% e zero no grupo com resposta anormal³³.

7. TESTE DE ESTÍMULO FSH OVARIAN RESERVE TEST (EFORT)

O teste de reserva ovariana em ciclo estimulado com FSH purificado foi avaliado prospectivamente em 1994. O teste consiste na avaliação conjunta do nível de FSH basal e do aumento do nível de E2 em 24 horas (Delta E2) após administração de 300 UI de FSH, por via intramuscular no 3º dia do ciclo menstrual. O teste é considerado normal quando $FSH < 11\text{mUI/ml}$ e $\text{Delta E2} > 30\text{ pg/ml}$ e anormal quando $FSH > 11\text{ mUI/ml}$ e $\text{Delta E2} < 30\text{ pg/ml}$. O teste mostrou, ao comparar-se a resposta normal e a anormal, diminuição significativa na taxa de cancelamento (0% e 11% respectivamente, $p < 0,0001$). As pacientes com teste normal tiveram taxa de gravidez de 38% enquanto esta taxa foi zero naquelas com teste anormal³⁴.

Em 2000, um teste semelhante foi proposto avaliando-se o Delta de Inibina B de 24hs obtendo resultado de 202,7 pglml VS 49,01 pglml no *screening* das boas e más respondedoras respectivamente³⁵.

8. CONTAGEM DO NUMERO DE FOLÍCULOS ANTRAIS (CFA).

A avaliação ultrassonográfica do volume e número dos folículos antrais tornou-se ferramenta importante na avaliação da reserva ovariana já no final dos anos 90.

Nesta última década, com o melhor entendimento da foliculogênese e o papel do AMH neste processo e a sua utilização na reserva ovariana, observou-se que os folículos antrais, em particular os pequenos (<5mm), são a expressão anatômica da variável bioquímica AMH. Assim surgiram vários trabalhos na literatura utilizando a contagem de folículos antrais, menores de 10mm de diâmetro, em prever resposta ovariana.

As mesmas conclusões ou valores prognósticos em prever más respondedoras atribuídas ao AMH podem também ser extrapoladas ou aplicadas à CFA.

Uma meta-análise abrangendo 27 estudos comparou o volume ovariano com a contagem dos folículos antrais na predição da reserva ovariana, mostrando que a CFA pode ser considerado como primeira escolha para estimar a reserva ovariana antes da FIVETE em pacientes más respondedoras³⁶.

A primeira publicação correlacionando CFA na reserva ovariana data de 1996³⁷.

Em 1997 um estudo em 166 pacientes, previamente bloqueadas com GnRH-a, a quantidade dos folículos ovarianos antrais (2 a 5 mm) através da ultra-sonografia pélvica transvaginal (USG TV). Os dois grupos tidos como ovários normais (5 a 15 folículos) e ovários micropolicísticos (mais de 15 folículos) obtiveram estatisticamente mais ovócitos maduros ($p=0,006$) e menor taxa de cancelamento em comparação ao grupo chamado de ovários inativos (menos de 5 folículos)³⁸.

Um ano depois foi utilizada a ultra-sonografia tri-dimensional na avaliação da reserva ovariana. Este grupo encontrou menor número de folículos antrais (1,9 VS 0,4) em pacientes “Más respondedoras” em comparação com as “Boas respondedoras” (8,3 VS 2,0 respectivamente, $p=0,001$) e não obteve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos quando da mensuração apenas do volume ovariano³⁹.

Em 2003 alguns autores mostraram em pacientes submetidas á FIVE TE aumento significativo da taxa de cancelamento (41 % VS 6,4 %) e diminuição da taxa de gravidez (23,5 % VS 57,6 %) com contagem ultrassonográfica dos folículos antrais menores que 4 nos dois ovários respectivamente⁴⁰.

Uma meta-análise de 11 estudos, num total de 1760 ciclos de pacientes em programação de FIVeTE, encontraram para valores de corte de CFA de 3 a 10 , para uma sensibilidade de 73 vs 87% e especificidade de 96 vs 41% respectivamente em predizer más respondedoras⁴¹.

Em nosso meio, um estudo recente com 51 pacientes em programação de FIVeTE, foram realizadas a CFA (2 a 10mm) no segundo dia do ciclo. Os autores concluíram que para um valor de corte de CFA de 6, encontraram forte correlação com a resposta folicular frente ao hiperestímulo ovariano controlado⁴².

Um estudo prospectivo de 135 mulheres em programação de TRA , já supra citado, encontraram para valores de corte de $CFA \geq 10$ uma sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo de 93%, 88%, 49% e 99% respectivamente em predizer más respondedoras. Os autores sugerem este número como valor de corte ideal³¹.

CONCLUSÃO

A vasta e controversa literatura e àquelas citadas, mostram a importância e necessidade dos testes de reserva ovariana para o prognóstico das pacientes em programação de FIV/TE. A reserva ovariana pode ser avaliada por parâmetros clínicos, biológicos e pela ultrassonografia transvaginal, que permite a visualização direta dos ovários e a contagem dos folículos antrais. Novas tecnologias estão sendo empregadas para tentar aumentar a sensibilidade e a especificidade do US, como o US tridimensional a fim de reduzir o tempo necessário para realizar a CFA e eliminar o viés inter e intra examinadores e também a análise do fluxo das artérias ovarianas por Doppler. Não existe um único teste para responder nossas indagações ou expectativas sobre a reserva ovariana⁴³.

Uma meta-análise de 11 estudos, através de um modelo de multivariáveis em predizer más respondedoras, encontraram para a associação de AMH com inibina B e FSH uma sensibilidade e especificidade de 68,8% e 90,5% respectivamente. Para a combinação teste do clomifeno normal, idade, volume ovariano e CFA uma sensibilidade e especificidade de 81% e 75% respectivamente. Para uma associação simples com FSH e CFA uma sensibilidade e especificidade de 65% e 96% respectivamente. Os autores concluem que o modelo de multivariáveis em predizer más respondedoras é comparável a CFA isoladamente, assim se a opção for por apenas um exame, este seria a CFA⁴⁴.

Para todos os casos de reprodução assistida, entendemos que o ideal seria a combinação de testes, como FSH e CFA, pela facilidade do exame e baixo custo. Nas pacientes de risco para

más respondedoras, além dos testes citados poderia-se acrescentar o AMH e eventualmente a Inibina B e teste do Clomifeno, conforme a possibilidade ou disponibilidade do exame.

Novas pesquisas e trabalhos devem ser estimulados a fim de melhorar os estudos da reserva ovariana.

BIBLIOGRAFIA

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet 1978; 2:366-70.
2. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of human embryo with subsequent tubal pregnancy. Lancet 1976; 1:880-2.
3. Tiezte C. Reproductive span and rate of reproduction among Hutterite woman. Fertil Steril 1957;8:89-97.
4. Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. Registro Latino-americano de 2003. Disponível em: <http://www.redlara.com/registro.asp>. [20 junho 2007]
5. Padilla SL, Garcia JE. Effect of maternal age and number os “in vitro” fertilization procedures on pregnancy outcome. Fertil Steril 1989; 52:270-3.
6. Toner PJ, Phicput CB, Jones GS, Muasher JS. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. Fertil Steril 1991; 784-91.

7. Scott RT, Toner JF, Muasher SJ, Oehninger SC, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil.Steril* 1989; 51:651-4.
8. Dzik A. Avaliação Simultânea dos Parâmetros FSH basal e Idade como Fator Prognóstico da Intensidade da Resposta á Hiperestimulação Ovariana Controlada num Programa de Fertilização In Vitro e Transferência de Embriões. São Paulo, 1996.57p. Dissertação de (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
9. Smotrich, B, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995;64: 1136-40.
10. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks R. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril* 1995; 64:991-4.
11. Evers LJ, Slaats P, Land AJ, Dumoulin MJ, Dunselman DG. Elevated levels of basal estradiol-17 beta predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril* 1998; 69:1010-4.
12. Nahas E A P, Pontes A. Inibina B e a reserva ovariana. *Reprod Clim* 2002; 17:15-8.
13. Danforth DR, Arbogast LK, Mroueh J, Kim MH, Kennard EA, Seifer DB. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging. *Fertil. Steril* 1998; 70:119-23.
14. Groome NP, Llingworth PJ, O'brien M, Pai R, Rodger FE, Methers JP, Mcnelly AS. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1996; 81:1401-5.
15. Seifer Db, Lambert-Messerlian G., Hogan Jw. Day 3 serum inhibin B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil. Steril* 1997; 67, 110-4.

16. Seifer DB, Scott RT, Berg PT, Danforth DT. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone. *Fertil. Steril* 1999; 72:63-5.
17. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfiel M, Groome NP, Viser JA. Anti-mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implication for initial and cyclic follicle recruitment, *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 77-83.
18. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5957-62
19. van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, et al. Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11:601-6.
20. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil and Steril* 2002;77:357-62
21. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertile Steril* 2004;82:180-5.
22. Weghofer A, Margreiter M, Fauster Y, Schaetz T, Brandstetter A, Boehm D, et al. Age-specific FSH levels as a tool for appropriate patient counselling in assisted reproduction. *Hum Reprod* 2005;20:2448-52.
23. Van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT et al. Relationship of serum antimüllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2129-34.
24. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, et al. Anti-Mullerian hormone, inhibin B and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:786-92.

25. La Marca A, Stabile G, Carducci AA, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. Hum Reprod 2006; 21:3103-7.

26. Fanchin R, Taieb J, Lozano DHM, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggest a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. Hum Reprod 2005;20:923-7.

27. Peñarrubia J, Fábregues F, Manau D, Vreus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist--gonadotropin treatment. Hum Redrod. 2005;20:915-22.

28. Van Rooij IA, Broekmans FJ. Serum anti-mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. Human Reprod 2002;17:3065-71.

29. Miklos GT. Concentração Sérica do Hormônio Anti-Mulleriano como marcador da resposta a hiperestimulação ovariana com gonadotrofina exógena em mulheres com indicação de fertilização in vitro – Estudo preliminar São Paulo 2007. Dissertação de mestrado, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

30. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Carducci Artensio A, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). Hum Reprod Update 2009;0: 1-18.

31. Kannamannadiar Jayaprahasan, M.R.C.O.G, Campebell, B., Hopkisson, J.; Johnson, I, Raine-Fenning, N. Análise comparativa prospectiva do hormônio antimülleriano, inibina B e determinantes de ultrassom tridimensional da reserva ovariana no prognóstico de má resposta à

estimulação ovariana controlada. *Fertil Steril.*, 2009; 1, 64-73 (edição latino-americana, versão em lingua portuguesa).

32. Broer SL, Moll BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705-14.

33. 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? *Brit J Obstet and Gynecol* 2005;112:1384-1390.

34. 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. *Hum Reprod* 2007;22:766-71.

35. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertil and Steril.* 2008;90:737-43.

36. Seifer DB, MacLaughlin DT. Müllerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil and Steril* 2007;88:539-46.

37. Silberstein T, MacLaughlin DT, Shai I, Trimarchi JR, Lambert-Messerlian G, Seifer DB, et al. Müllerian inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo quality. *Hum Reprod* 2006;21:159-63.

38. Broekmans FJ, Visser JA, Laven JSE, Broer SL, Themmen APN, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metabol* 2008;19:340-47.

39. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth E J. Prognostic assesment of female fecundity. *Lancet* 1987;2:645-7.

40. Loumaye E, Billion JM, Mine JM. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomiphene challenge test. *Fertil Steril* 1990;53:295-301.
41. Fanchin R, De Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): A simple and reliable screening test for detecting 'poor responders' in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1994;9:1607-11.
42. Dzik A, Lambert-Messerlian G, Izzo VM, Soares JB, Pinotti JA, Seifer DB. Inhibin B Response To Efort Is Associated With The Outcome of oocyte retrieval in the subsequent in vitro fertilization cycle. *Fertil Steril* 2000;74:1114-17.
43. Hendriks DJ, Kwee J, Mol BW, te Velde ER, Broekmans FJ. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil Steril* 2007;87:764-75.
44. Ruess ML, kline J, Santos R, Levin B, Timor-Trisch I. Age and the ovarian follicle.pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:624-7.
45. Tomas C, Nuojuua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1997;12(2):220-3.
46. Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remohí J, Simón C, Bonilla-Musoles F. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle- stimulating hormone using three-dimensional ultrasonography. *Fertil Steril* 1998;70:671-5.
47. Fratarelli JL, Levi AJ, Segarrs JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2003;80:350-5.

48 . Hendriks DJ, Mol BWJ, Bancsi LFMM, te Velde ER, Broekmans FJM. Antral follicle count in prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril* 2005; 83:291-301.

49. Souza, M.C.B.; Souza, M.M.; Oliveira, J.B.A.; Henriques, C.A.; Cardoso, F.F.O.; Mancebo, A.C.A.; Rocha, C.A. Utilização da contagem de folículos antrais para predição do padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação controlada com antagonista de GnRH. *Rev Bras Ginecol Obstet* . 2008 , 30, 36-41.

50. Lamazou F, Letouzey V, Arbo E, Grynberg M, Levailant JM, Frydman R, Fanchin R. *Gynecol Obstet Fertil*. 2009;37:425-31.

51 Verhagen, T.E.M; Hendriks,D.J; Bancsi, L.F.J.M.M.; Mol, B.W.J.; Broekmans, F.J.M. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Human Reprod* 2008; 14: 95- 100.

..
.