

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Reserva Ovária: Avaliação, Utilidade Clínica e o Impacto da Contraceção Hormonal

Filipa Braz da Cruz Faria Curinha

M

2021



Reserva Ovária: Avaliação, Utilidade Clínica e o Impacto da Contraceção Hormonal

Dissertação de Mestrado | Artigo de Revisão Bibliográfica

Filipa Braz da Cruz Faria Curinha

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Número mecanográfico: 201308184

Endereço eletrónico: filipaccurinha@gmail.com

Orientador: Dr^a. Márcia Sofia Alves Caxide e Abreu Barreiro

Assistente Graduada de Ginecologia/Obstetrícia no Centro Hospitalar Universitário do Porto, EPE

Diretora do Centro de Procriação Medicamente Assistida do Centro Materno-Infantil do Norte

Endereço: marciabarreiro@sapo.pt

Co-orientador: Prof. Dr. Hélder Bruno Carvalho Ferreira

Assistente Graduado de Ginecologia/Obstetrícia no Centro Hospitalar Universitário do Porto, EPE

Coordenador da Unidade de Cirurgia Minimamente Invasiva Ginecológica e Endometriose do Centro Materno-Infantil do Norte

Endereço: helferreira@hotmail.com

Estudante

Filipa Cruz Cozinha

Orientadora

Maria Pais

Co-Orientador

Helena Rosa

Porto, maio de 2021

Agradecimentos

Presto o meu especial agradecimento à Dr^a. Márcia Barreiro por ter abraçado o desafio de orientar a presente Dissertação, neste que foi um ano marcado por contactos físicos minimizados, bem como pela confiança, acompanhamento e incentivo, ao longo da elaboração da mesma. Deixo ainda o meu agradecimento ao Prof. Dr. Hélder Ferreira pela disponibilidade e auxílio.

Gostaria de agradecer, de igual forma, à minha família, por todo o suporte emocional proporcionado durante o meu percurso estudantil, em especial, neste último ano letivo, caracterizado por numerosas responsabilidades académicas. Aos meus Pais e às minhas Avós por tornarem possível a concretização de um sonho, à Ana por se fazer sempre presente e pelo exemplo de determinação e dedicação e ao João pelo apoio incondicional e altruísmo.

Por fim, agradeço aos meus pares, Cris, Ju e Leo, que tornaram estes anos, de intensa dedicação à minha formação, mais leves, gratificantes e menos morosos, bem como aos que comigo trabalharam de mãos dadas na iMEDium, nestes últimos dois anos, especialmente, Nuno, Rita, membros do Departamento Pedagógico, Rui, Miguel e Filipe.

Resumo

Introdução: Às 24 semanas de idade gestacional, o feto feminino possui 7 milhões de ovogónias, contudo, a mulher atinge a menarca com 300.000 a 400.000 folículos primordiais. Dada a interferência da quantidade basal de folículos primordiais, taxa de atresia, fatores genéticos ou ambientais e eventuais intervenções ováricas realizadas, o decréscimo da reserva ovárica com o avançar da idade não é linear, o que constitui um desafio no estudo da fertilidade feminina.

Propósito e Metodologia: Compreender o papel da reserva ovárica na fertilidade feminina, apurar os marcadores de reserva ovárica com maior utilidade clínica e o potencial dos mesmos, com enfoque na abordagem da subfertilidade ou infertilidade. Adicionalmente, estudar o impacto do recurso prolongado a contraceptivos hormonais na reserva ovárica. Para tal, procedeu-se à análise de estudos científicos recentes, disponibilizados em plataformas online, bem como dados científicos publicados por entidades Portuguesas e Europeias de Ginecologia ou Medicina da Reprodução.

Desenvolvimento: No estudo da fertilidade feminina, a reserva ovárica funcional (ROF) aparenta ser o parâmetro de maior relevo, podendo ser avaliada através dos marcadores de reserva ovárica (MRO). Segundo os critérios POSEIDON, um valor de hormona anti-mülleriana (AMH) $\geq 1,2$ ng/mL e uma contagem de folículos antrais (CFA) ≥ 5 refletem a ROF normal. A reserva ovárica diminuída apresenta um impacto negativo sobre a fertilidade individual e associa-se a uma maior probabilidade da mulher desenvolver uma má resposta à estimulação ovárica controlada (EOC). A avaliação dos MRO, previamente ao tratamento da subfertilidade, além de revelar a ROF individual, permite averiguar a probabilidade de uma mulher vir a desenvolver uma má resposta à EOC, perante uma AMH < 1 ng/mL ou uma CFA < 7 . Neste âmbito, os critérios POSEIDON otimizaram a estratificação do baixo prognóstico reprodutivo. Os contraceptivos hormonais (CH) aparentam não condicionar um impacto negativo na fertilidade, quando utilizados a longo prazo, no entanto, parecem estar associados a um atraso concecional a curto prazo, de 3 meses, à exceção dos injetáveis que se associam a um atraso superior. A AMH e a CFA sofrem um declínio após a utilização de CH durante ≥ 12 meses, não obstante, parecem recuperar para níveis normais após descontinuação dos CH.

Conclusão: A ROF constitui o parâmetro mais importante no estudo da fertilidade feminina e é avaliada através da AMH e da CFA. Aquando da Procriação Medicamente Assistida, procede-se à avaliação destes MRO com o intuito de prever a probabilidade de má resposta ovárica. Quanto aos contraceptivos hormonais, a longo prazo, parecem não afetar negativamente a fertilidade individual.

Palavras-chave: “reserva ovárica”, “marcadores de reserva ovárica”, “hormona anti-mülleriana”, “contagem de folículos antrais”, “foliculogénese”, “infertilidade” e “contraceção hormonal”.

Abstract

Introduction: At 24 weeks of gestational age the female fetus has 7 million ovogonias and woman reaches menarche with 300,000 to 400,000 primordial follicles. The decrease in ovarian reserve with advancing age is not linear given the interference of additional factors such as the basal quantity of primordial follicles, atresia rate, genetic or environmental factors and eventual ovarian interventions, which is a challenge in the study of female fertility.

Purpose and Methods: Understand the role of ovarian reserve in female fertility, identify the markers of ovarian reserve with the greatest clinical utility, and understand their potential in addressing subfertility or infertility. Additionally, this study aims to investigate the impact of the prolonged use of hormonal contraceptives on the ovarian reserve. For this purpose, recent scientific studies available on online platforms, as well as information provided by Portuguese and European entities of Gynaecology or Reproductive Medicine were analysed.

Development: The functional ovarian reserve (FOR) seems to be the most relevant parameter in the field of female fertility and can be assessed by the ovarian reserve markers (ORM). According to the POSEIDON criteria, a normal FOR is reflected by a serum anti-müllerian hormone (AMH) value ≥ 1.2 ng / mL and an antral follicle count (AFC) value ≥ 5 . A diminished ovarian reserve has a negative impact on individual fertility and is also associated with a poor response to controlled ovarian stimulation (COS). The assessment of the ORM prior to the Assisted Reproductive Technology treatment, in addition to revealing the individual FOR, allows for the evaluation of the probability of a woman to develop a poor ovarian response to COS, if AMH value < 1 ng/mL or AFC < 7 . In this context, the POSEIDON criteria optimized the stratification of the low reproductive prognosis. Hormonal contraceptives (HC) have shown an absence of a negative impact of long term use on fertility. However, it appears that there is a short-term conceptual delay, of 3 months, with the exception of injectable contraceptives which are associated with a higher delay. AMH and AFC decline after using HC during ≥ 12 months. However it has been shown that ORM recover to normal values about 12 months after the HC discontinuation.

Conclusion: The FOR seems to be the most important parameter in the study of female fertility and it can be assessed using AMH and AFC. During Assisted Reproductive Technology these ORM are evaluated in order to predict the probability of poor ovarian response. As for hormonal contraceptives, prolonged use does not seem to negatively affect individual fertility.

Keywords: “ovarian reserve”, “ovarian reserve markers”, “anti-müllerian hormone”, “antral follicle count”, “folliculogenesis”, “infertility” and “hormonal contraception”.

Lista de Abreviaturas

17-OHP – 17-hidroxiprogesterona

AMH – *Anti-Müllerian Hormone* / Hormona Anti-Mülleriana

CFA – Contagem de Folículos Antrais

CHC – Contracetivos Hormonais Combinados

CHO – Contraceção Hormonal Oral

COC – Contracetivos Orais Combinados

CPMA-CHUP – Centro de Procriação Medicamente Assistida do Centro Hospitalar Universitário do Porto

DHEA – Desidroepiandrosterona

DIU – Dispositivo Intrauterino

DSL – Ensaio *Diagnostic Systems Lab*

E2 – Estradiol Endógeno

EE - Etinilestradiol

EOC – Estimulação Ovária Controlada

ESHRE – *European Society of Human Reproduction and Embryology* / Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia

FIV – Fertilização *In Vitro*

FOI – *Follicle-to-Oocyte Index* / Índice Folicular-Ovocitário

FORT – *Follicular Output Rate* / Taxa de *Output* Folicular

FSH – *Follicle-Stimulating Hormone* / Hormona Folículo-Estimulante

GnRH – *Gonadotrophin-Releasing Hormone* / Hormona Libertadora de Gonadotrofinas

hCG – *human Chorionic Gonadotropin* / Gonadotrofina Coriônica humana

IBC – Ensaio *Immunotech Beckman Coulter*

ICSI – *IntraCytoplasmic Sperm Injection* / Microinjeção Intracitoplasmática de Espermatozoide

IMC – Índice de Massa Corporal

IOP – Insuficiência Ovária Primária

IOPO – Insuficiência Ovária Primária Oculta

LARCs – *Long-Acting Reversible Contraceptives* / Métodos Contracetivos Reversíveis de Longa Duração

LH – *Luteinizing Hormone* / Hormona Luteinizante

LIN – Limite Inferior da Normalidade

MRO – Marcadores de Reserva Ovária

OSI – *Ovarian Sensitivity Index* / Índice de Sensibilidade Ovárica

PMA – Procriação Medicamente Assistida

POP – *Progestogen-Only Pill* / Contracetivos Orais Progestativos

POSEIDON – *Patient-Oriented Strategies Encompassing IndividualizeD Oocyte Number*

ROD – Reserva Ovárica Diminuída

ROF – Reserva Ovárica Funcional

SHEO – Síndrome de Hiperestimulação Ovárica

SIU-LNG – Sistema Intrauterino de libertação de Levonorgestrel

TRO – Testes de Reserva Ovárica

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP – Valor Preditivo Positivo

Conteúdos

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Abstract	iii
Lista de Abreviaturas	iv
Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Fisiologia Ovária.....	1
1.1.1. Desenvolvimento Folicular	1
1.1.2. Ciclo Menstrual.....	3
1.1.2.1. Fase Folicular ou Proliferativa	3
1.1.2.2. Fase Lútea ou Secretora.....	4
1.1.2.3. Variabilidade Intra e Interpessoal do Ciclo Menstrual	5
2. PROPÓSITO.....	7
3. METODOLOGIA	8
4. DESENVOLVIMENTO	9
4.1. Reserva Ovária.....	9
4.1.1. Conceito de Reserva Ovária	9
4.1.2. Métodos de Avaliação da Reserva Ovária	9
4.1.2.1. Contextualização Histórica	9
4.1.2.2. Envelhecimento Ovário e Qualidade Ovocitária	10
4.1.2.3. Reserva Ovária Diminuída e Testes de Reserva Ovária	11
4.1.2.4. Doseamento da Hormona Anti-Mülleriana	13
4.1.2.5. Contagem de Folículos Antrais	15
4.2. Testes de Reserva Ovária e Procriação Medicamente Assistida.....	15
4.2.1. Má Resposta Ovária.....	17
4.2.1.1. Marcadores de Reserva Ovária e Má Resposta Ovária.....	19
4.2.1.2. Critérios POSEIDON (<i>Patient-Oriented Strategies Encompassing IndividualizeD Oocyte Number</i>).....	20
4.2.1.3. Análise do Potencial Ovário	21
4.2.1.3.1. Índice Folicular-Ovócitário e Taxa de “Output” Folicular	22
4.2.1.3.2. Índice de Sensibilidade Ovária.....	23
4.2.2. Resposta Ovária Excessiva.....	25
4.3. Reserva Ovária e Contraceção Hormonal	26
4.3.1. Tipos de Contraceptivos Hormonais	26
4.3.2. Impacto da Contraceção Hormonal na Reserva Ovária.....	27
4.3.2.1. Impacto da Contraceção Hormonal na Fertilidade	27
4.3.2.2. Impacto da Contraceção Hormonal nos Marcadores de Reserva Ovária	30
4.3.2.2.1. Avaliação da Reserva Ovária Funcional em Mulheres que pretendem utilizar Contraceptivos Hormonais	34
4.3.3. Contraceção Hormonal Oral e Procriação Medicamente Assistida.....	35
4.3.3.1. Pré-Tratamento com Contraceptivos Hormonais Orais em Protocolos de Estimulação Ovária Controlada	35

4.3.3.2.	Preservação da Fertilidade e Contraceção Hormonal	37
5.	DISCUSSÃO	39
6.	CONCLUSÃO	44
	Apêndice: Tabelas.....	45
	Apêndice: Figuras	47
	Referências Bibliográficas	54

Lista de Tabelas

Tabela I. Heterogeneidade de critérios utilizados para definir Reserva Ovária Diminuída. Baseado num estudo de Cohen *et al.* (2015).45

Tabela II. Classificação *Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number*. .46

Lista de Figuras

Figura 1. Foliculogénese: Folículo Primordial, Folículo Primário e Ovócito Primário, Folículos em desenvolvimento, Folículo Maduro e Ovócito Secundário, Ovulação, Luteinização, Corpo Lúteo e Corpo <i>Albicans</i> . Adaptado.	47
Figura 2. Ciclo Menstrual: Dinâmica das Hormonas Hipofisárias e das Hormonas Ováricas. Adaptado.	48
Figura 3. Impacto da Hormona Anti-Mülleriana (AMH) na Foliculogénese: efeito inibitório no recrutamento inicial de Folículos Primordiais, na maturação folicular dependente da Hormona Folículo-Estimulante (FSH), na seleção do folículo dominante e na expressão de aromatase induzida pela FSH nas células da granulosa. Adaptado de Azziz and cols (2016).	49
Figura 4. Síntese Folicular de Estrogénios. Adaptado.	50
Figura 5. Alterações Hormonais na Menopausa.	51
Figura 6. Variação da AMH sérica entre a Infância e a Adolescência [A] e entre o Período Pré-Pubertário e o Pós-Pubertário [B]. Baseado numa análise sistemática. Adaptado.	52
Figura 7. Proposta de Kushnir <i>et al.</i> (2014) para a abordagem prévia de mulheres jovens que pretendam iniciar a toma de contraceptivos hormonais, procurando apurar a respetiva Reserva Ovárica Funcional. Adaptado.	53

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fisiologia Ovária

Os ovários consistem em glândulas endócrinas e são os locais de produção das células germinativas, ao longo da vida reprodutiva da mulher. A síntese hormonal e a gametogénese feminina decorrem na unidade funcional do ovário, o folículo, constituído pelo ovócito, rodeado por camadas de células especializadas que compõem a granulosa e a teca. Numerosos folículos são encontrados no córtex ovárico, em diversos estádios do desenvolvimento.¹

A função endócrina destes órgãos associa-se à produção de estrogénios e progesterona, os quais permitem a comunicação biológica entre o hipotálamo, a hipófise e as gónadas, assegurando uma libertação regular de um gâmeta capaz de ser fecundado.¹

1.1.1. Desenvolvimento Folicular

O desenvolvimento folicular tem início por volta das 15 semanas de gestação, sendo que o feto do sexo feminino, às 24 semanas de idade gestacional, possui cerca de 7 milhões de células germinativas. Assim, a foliculogénese compreende processos com início na vida fetal, que se traduzem morfológicamente no aumento do tamanho do ovócito e acréscimo do número de células da camada granulosa.^{1,2}

Ao nascimento, a mulher possui cerca de 2 milhões de folículos primordiais, chegando à menarca com 300.000 a 400.000, sendo este decréscimo resultante dos processos naturais de atresia folicular e, a partir desse momento, a diminuição da *pool* folicular decorre adicionalmente das sucessivas ovulações.^{1,3} Aos 30-35 anos, ocorre um aumento da depleção ovocitária, pelo que, perto dos 40 anos, a mulher possui cerca de 25.000 folículos.⁴ A partir desse momento da vida reprodutiva, inicia-se a perimenopausa, isto é, o período de transição entre a fase fértil e a última menstruação, precedendo a menopausa em 2 a 8 anos. A idade de início da menopausa é condicionada tanto pela quantidade inicial de células germinativas quanto pela taxa de depleção das mesmas ao longo da vida, influenciada por fatores endógenos e exógenos.¹

Postula-se que a idade contribuirá em 80 % para a variação numérica dos folículos primordiais e é ainda fator determinante de redução da qualidade ovocitária, que se pensa estar

associada a uma disfunção mitocondrial fisiológica. De facto, a dinâmica mitocondrial individual interfere com o tamanho da *pool* folicular basal e a taxa de atresia folicular, pelo seu impacto na biogénese embrionária e participação nos mecanismos de sobrevivência e apoptose celular.^{1, 5} Assim, salienta-se que o decréscimo da reserva ovárica com o avançar da idade não é linear, dada a interferência de fatores adicionais como a taxa de atresia folicular, fatores genéticos ou eventuais regimes terapêuticos realizados, constituindo um desafio no estudo da fertilidade feminina.¹

Ao longo da vida fetal, as células germinativas entram em meiose, tornando-se ovócitos. A maioria destes, numa fase em que não se encontram rodeados individualmente por células somáticas, entra em apoptose.⁶ A partir do momento em que o ovócito primário, em repouso em meiose I, passa a estar rodeado por uma camada de células epiteliais, as células da granulosa, constitui o folículo primordial, com cerca de 25 µm de diâmetro.² Este processo ocorre durante a segunda metade do desenvolvimento fetal. O folículo constitui um encapsulamento para o ovócito, protegendo-o dos fenómenos de atresia e permitindo o contacto direto entre o mesmo e fatores inibidores da meiose, de forma a garantir o bloqueio da divisão celular até à puberdade. A *pool* primordial representa a população finita de ovócitos em repouso, a partir da qual uma coorte prossegue para os mecanismos de maturação.^{1, 6}

O recrutamento folicular divide-se em duas fases, a ativação inicial de folículos primordiais, que decorre continuamente até à menopausa, e, uma vez iniciada a puberdade, o recrutamento cíclico de um número limitado de pequenos folículos, pertencentes à coorte em crescimento, a partir da qual um subgrupo é selecionado para os processos subsequentes de maturação.⁶

Na puberdade, decorre a maturação do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, que desencadeia a secreção pulsátil de gonadotrofinas, a hormona folículo-estimulante (FSH, *Follicle-Stimulating Hormone*) e a hormona luteinizante (LH, *Luteinizing Hormone*). Estas são sintetizadas pela hipófise e a sua secreção culmina em processos cíclicos de obtenção de folículos maduros, ovulação e dinâmica menstrual.⁷ A secreção das gonadotrofinas é diretamente regulada pela hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH, *Gonadotrophin-Releasing Hormone*), produzida pelo hipotálamo.²

Concretamente, na foliculogénese pré-antral, a ativação do folículo primordial é progressiva e caracteriza-se pela proliferação das células da granulosa, sendo que, quando estas formam uma camada que envolve o ovócito na sua totalidade, o folículo passa a denominar-se por primário. Após uma intensa atividade mitótica das células da granulosa, com a formação de várias camadas, atinge-se o estadio de folículo secundário. Posteriormente, através do recrutamento de células somáticas do tecido intersticial adjacente, é formada a teca, que se diferencia em teca interna e teca externa, momento em que o folículo atinge 100-200 µm de diâmetro.^{1, 7} Este crescimento pré-antral é

independente das gonadotrofinas, contudo, a partir do momento em que o folículo desenvolve a teca interna, o funcionamento das células tecais passa a ser regulado pela LH.⁶ De seguida, inicia-se o estadio terciário, em que o folículo desenvolve uma cavidade no seu interior, passando a denominar-se por antral.²

A transição do desenvolvimento pré-antral para o antral marca a alteração de uma regulação essencialmente intraovárica para uma regulação extraovárica, a par da maturação do eixo reprodutor feminino. Apesar dos folículos pré-antrais serem responsivos à FSH, é no desenvolvimento antral que esta hormona se torna essencial para prevenir a atresia folicular e a apoptose das células da granulosa e para estimular a proliferação dessa camada e a produção hormonal.⁶ Entre os folículos antrais, distinguem-se duas populações, uma de dimensões > 8 mm (grandes folículos) e outra de dimensões inferiores (pequenos folículos).² É a comunicação entre as hormonas ováricas e as hipofisárias que coordena a maturação e seleção folicular subsequentes.⁶ Atingida a maturação folicular, na fase pré-ovulatória, o folículo, por vezes denominado por folículo de Graaf, mede 20 a 28 mm.¹ Na Figura 1 encontra-se ilustrado o desenvolvimento folicular.

Os folículos pré-antrais e os pequenos folículos antrais são os principais produtores da hormona anti-mülleriana (AMH, *Anti-Müllerian Hormone*), a qual assume um papel essencial ao longo da foliculogénese, através de uma ação autócrina e parácrina.⁸

1.1.2. Ciclo Menstrual

1.1.2.1. Fase Folicular ou Proliferativa

A Figura 2 representa a dinâmica hormonal verificada ao longo do ciclo menstrual.

O ciclo ovulatório tem início no primeiro dia da menstruação e marca o começo da fase folicular ou proliferativa, durante a qual ocorre o desenvolvimento dos folículos ováricos recrutados, terminando com a ovulação.^{2, 9} No ciclo precedente, ocorre uma elevação da FSH, a qual é responsável pelo recrutamento de parte dos folículos pertencentes à *pool* folicular primária, sendo que, entre esses, apenas um está destinado a ovular no ciclo menstrual seguinte (fenómeno de seleção), que será denominado por folículo dominante. Nesta seleção, pensa-se que atua a AMH, a qual parece ter um efeito regulador da FSH ao nível dos pequenos folículos antrais, além de inibir a ativação de outros folículos primordiais (Figura 3).²

O aumento inicial da FSH advém do declínio na produção esteroide e de inibina A, por parte do corpo lúteo (fonte de progesterona, estradiol endógeno – E2 – e inibina A) e do aumento da GnRH, secundário à diminuição dos níveis séricos de E2 e progesterona, que se verifica no final do ciclo precedente.^{2,9} Uma vez iniciada a menstruação, ocorre uma diminuição da FSH, por *feedback* negativo, exercido pelo estrogénio e pela inibina B, produzidos pelo folículo em desenvolvimento.²

Uma das funções da FSH consiste na ativação da enzima aromatase, presente nas células da granulosa, responsável pela conversão de androgénios em estrogénios (Figura 4).² Assim, a diminuição da FSH resulta num aumento do microambiente androgénico no interior dos folículos adjacentes ao folículo dominante, que contribui para uma redução na atividade mitótica das respetivas células da granulosa, por défice de estrogénios. Adicionalmente, as células da camada granulosa do folículo dominante secretam péptidos com ação autócrina e parácrina, importantes para a inibição do desenvolvimento dos restantes folículos recrutados.^{1,2} Em consonância, o folículo dominante é capaz de produzir elevadas quantidades de estrogénio, pela presença de elevados níveis de aromatase. Esse microambiente estrogénico, no folículo destinado a ovular, contribui para a sua seleção e dominância.²

É na fase folicular que surge o pico máximo de concentração de E2, uma vez que a sua produção, concretizada pelo folículo dominante, vai aumentando ao longo da maturação do mesmo, isto é, à medida que aumenta o número de células da camada granulosa. O pico sérico de E2 dura cerca de 36-50 horas, tendo um valor médio entre 130 e 200 pg/mL. Este valor máximo de E2, produzido pelo folículo pré-ovulatório, estimula a secreção súbita da LH, iniciada 24 a 36 horas antes da ovulação.^{2,9} Concretamente, na presença do valor máximo de E2, a FSH estimula a secreção de pequenas quantidades de progesterona e 17-hidroxiprogesterona (17-OHP), responsáveis por um mecanismo de *feedback* positivo na hipófise, resultando num aumento exponencial da libertação de LH. A LH estimula as células da teca a produzir androstenediona e, com menor intensidade, testosterona. A androstenediona é transportada para as células da camada granulosa, onde é convertida em E2.²

1.1.2.2. Fase Lútea ou Secretora

A ovulação, que ocorre 10 a 12 horas após o pico de concentração da LH, e a subsequente formação do corpo lúteo marcam o início da fase lútea ou secretora. A LH contribui para a luteinização das células da granulosa e é responsável pela reativação da divisão celular e,

consequentemente, pela liberação do primeiro corpo polar ovocitário. Em resposta à LH, ocorre ainda o aumento da produção de progesterona, prostaglandinas e enzimas proteolíticas. As prostaglandinas e as enzimas proteolíticas digerem o colagénio da parede folicular, sendo que as primeiras estimulam, adicionalmente, a contração do músculo liso do ovário. Estes mecanismos potenciam a liberação súbita do ovócito.^{2, 6} Após a ovulação, o valor sérico de E2 diminui significativamente.⁹

Com a liberação do ovócito, as células da granulosa remanescentes continuam a aumentar de tamanho, tornam-se vacuolizadas e acumulam um pigmento amarelado, a luteína. Estas células, juntamente com as da teca, associam-se a parte do estroma do ovário, formando o corpo lúteo.²

O corpo lúteo constitui um órgão endócrino transitório, produtor essencialmente de progesterona, mas também de E2 e inibina A, sendo que esta produção está diretamente dependente dos pulsos de secreção de LH.^{2, 9} Tem como principal função a preparação do endométrio para a implantação do óvulo eventualmente fertilizado (processo de decidualização).¹⁰ Deste modo, durante a fase lútea, ocorre um aumento dos níveis de progesterona e E2 até um valor máximo sustentado durante 5-6 dias, a cerca de 5-10 dias da menstruação seguinte. Neste período, a progesterona atinge um valor máximo de 10-20 ng/mL e, por sua vez, o E2 atinge níveis de 100-150 pg/mL.⁹

Na fase lútea tardia, ocorre a regressão do corpo lúteo, exceto mediante a produção de gonadotrofina coriônica, em caso de gravidez. Esta diminuição da funcionalidade do corpo lúteo reflete-se numa menor produção hormonal. Assim, sob influência do E2 e de prostaglandinas, este forma uma cicatriz denominada por corpo *albicans*. Após este período, reinicia-se o ciclo menstrual, marcado pela menstruação seguinte.^{2, 9}

1.1.2.3. Variabilidade Intra e Interpessoal do Ciclo Menstrual

Apesar da sequência do ciclo menstrual ser comum a todas as mulheres, o momento exato em que cada evento menstrual ocorre e os níveis hormonais atingidos são altamente variáveis de mulher para mulher. Também a duração de cada ciclo pode variar e, inclusivamente, o período clássico de 28 dias apenas se verifica em 15 % das mulheres. Ciclos ovulatórios considerados normais podem durar entre 24 e 35 dias, sendo que uma duração superior ou inferior torna pouco provável a ocorrência de ovulação. Constata-se que grande parte das variações advêm da duração da fase folicular, uma vez que a fase lútea decorre ao longo de um período relativamente fixo de 13-15 dias,

à exceção de mulheres com > 40 anos e atletas, em que esta fase poderá ser mais curta. Ao longo do envelhecimento, o ciclo menstrual vai sendo gradualmente encurtado até aos 25 anos de idade ginecológica (isto é, 25 anos após a menarca), principalmente pelo encurtamento da fase folicular. Por outro lado, é de salientar que há mulheres com ciclos menstruais irregulares.⁹

Também a amplitude hormonal varia interpessoalmente, refletindo tanto o contributo genético na produção e metabolismo dos esteroides, como o impacto ambiental, nomeadamente, a dieta individual, atividade física e fatores de *stress*. Neste âmbito, postula-se que o determinante dos níveis hormonais de maior relevo será a idade reprodutiva, pelas repercussões ao nível da regularidade do ciclo menstrual, probabilidade de ciclos anovulatórios e concentrações séricas das diferentes hormonas.⁹

Contudo, os eventos hormonais não são condicionados unicamente pela idade, sendo de salientar que o ponto máximo de funcionalidade das fases ovulatória e lútea ocorre entre os 20 e os 35 anos de idade. A maturidade reprodutiva feminina está associada à proporção de ciclos ovulatórios. Nesse sentido, Metcalf e Mackenzie (1980), através de um estudo envolvendo 254 mulheres, verificaram que a ovulação ocorria em cada ciclo em 62 % das mulheres com 20 a 24 anos, 88 % das mulheres com 25 a 29 anos e em 91 % das mulheres com 30 a 34 anos.⁹

É ainda importante ter em consideração que alguns fármacos podem interferir com a dinâmica do ciclo menstrual, destacando-se os contraceptivos hormonais enquanto a classe com maior impacto neste âmbito, mas também os antipsicóticos, os estabilizadores do humor e os anticonvulsivantes.⁹

2. PROPÓSITO

A presente Dissertação teve por objetivo a concretização de uma revisão bibliográfica no âmbito da fertilidade feminina, em concreto, no que concerne à reserva ovária. Postula-se que a reserva ovária reflete a fertilidade individual, ao representar a quantidade de folículos presentes nos ovários de uma mulher em idade fértil. Deste modo, pensa-se que este será um parâmetro de elevada utilidade na prática médica, em especial, no estudo reprodutivo de casais que procuram apoio médico diferenciado. Contudo, a respetiva avaliação e interpretação clínica será complexa, dada a influência de fatores endógenos e exógenos nos marcadores de reserva ovária. Salienta-se a possível interferência do recurso prolongado à contraceção hormonal, dado o envolvimento direto na dinâmica hormonal reprodutiva, nomeadamente, no estrogénio, progesterona e, consequentemente, gonadotrofinas circulantes, hormonas estas inerentes aos processos biológicos naturais da foliculogénese e ovulação.

Assim, a Dissertação foi estruturada segundo estas principais temáticas: o conceito e métodos de avaliação da reserva ovária, utilidade dos testes de reserva ovária na abordagem da subfertilidade e estudo do impacto da contraceção hormonal na fertilidade feminina.

3. METODOLOGIA

A elaboração deste estudo teve por base a análise de resultados e conclusões de projetos científicos recentes, com enfoque neste tema, fruto da pesquisa de artigos científicos, maioritariamente originais, através das plataformas *PubMed*, *Science Direct*, *Scientific Electronic Library Online* e *Google Académico*, com recurso a palavras-chave e dando preferência a documentos em inglês ou português. Foram ainda analisados dados científicos disponibilizados pela Associação Portuguesa de Fertilidade, Sociedade Portuguesa de Ginecologia, Sociedade Portuguesa de Medicina da Reprodução, Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida e Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia.

As palavras-chave utilizadas foram as seguintes: “reserva ovárica”, “marcadores de reserva ovárica”, “hormona anti-mülleriana”, “contagem de folículos antrais”, “foliculogénese”, “infertilidade” e “contraceção hormonal”, tendo resultado na seleção de 103 artigos para a realização da presente revisão bibliográfica.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1. Reserva Ovária

4.1.1. Conceito de Reserva Ovária

O termo “reserva ovária” surgiu inicialmente para descrever o potencial reprodutivo feminino, que compreende o número e a qualidade de ovócitos que uma mulher possui. Contudo, os biomarcadores atualmente utilizados para inferir acerca da reserva ovária, apesar de serem úteis a nível quantitativo, não são bons preditores da qualidade ovocitária. Deste modo, hoje em dia, o termo é usado apenas para traduzir o número de ovócitos remanescentes.⁴

A reserva ovária resulta de um processo biológico complexo, condicionado pela idade reprodutiva da mulher, fatores genéticos e variáveis ambientais.¹¹ A verdadeira reserva ovária, isto é, a *pool* de folículos primordiais basal, é definida aos 5-6 meses de idade gestacional. Por sua vez, considera-se a reserva ovária funcional (ROF) a população de pequenos folículos passível de ser recrutada pela FSH.¹²

Apesar do número de ovócitos e a respetiva qualidade diminuírem com o avançar da idade, constata-se que a fertilidade feminina varia significativamente entre mulheres de idade comparável. Uma vez que atualmente se verificam números crescentes de casais que procuram aconselhamento no âmbito da fertilidade, os testes de avaliação da reserva ovária (TRO) têm vindo a assumir um papel de relevo cada vez maior neste contexto, na tentativa de prever o potencial reprodutivo do casal. Assim, estes testes constituem um dado adicional de prognóstico durante o planeamento familiar.³

4.1.2. Métodos de Avaliação da Reserva Ovária

4.1.2.1. Contextualização Histórica

Os TRO começaram a ser explorados no final da década de 80, durante o desenvolvimento de técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA), na tentativa de averiguar a responsividade

à estimulação ovárica, procurando identificar uma má resposta ou resposta excessiva às gonadotrofinas, e eventual sucesso de gravidez clínica.⁴

Os TRO englobam métodos bioquímicos e imagiológicos.⁴ Os bioquímicos incluem doseamentos hormonais basais, isto é, de FSH, LH, E2, inibina B e AMH, que refletem a biologia do envelhecimento ovárico, bem como testes provocativos, como o teste do desafio com o citrato de clomifeno. A inibina B e a AMH, sendo glicoproteínas produzidas por pequenos folículos, constituem medidas diretas da *pool* folicular.³ Por sua vez, o doseamento de FSH, LH e E2 constituem medidas indiretas, pois a regulação da sua secreção está dependente de mecanismos de *feedback*.¹³

Os métodos imagiológicos utilizados neste âmbito, a contagem de folículos antrais (CFA) e a avaliação do volume ovárico, recorrem à ecografia transvaginal.³

Verificou-se que alguns dos TRO apresentam um baixo valor preditivo, por serem medidas indiretas da reserva ovárica ou pela variabilidade intra/interciclos. Em paralelo, os testes provocativos deixaram de ser utilizados, pelos custos associados e por ser necessária mais do que uma monitorização para serem efetuados. Assim, o doseamento da AMH e a CFA passaram a ser os mais utilizados.⁴

4.1.2.2. Envelhecimento Ovárico e Qualidade Ovocitária

Uma idade reprodutiva avançada, além de estar associada a uma maior incidência de infertilidade e interrupção médica de gravidez, traduz-se numa redução da reserva ovárica, pelo que resulta em menores taxas de sucesso das técnicas de PMA, fruto do declínio ovocitário quantitativo e qualitativo.¹⁴ Nesse sentido, apurou-se que a probabilidade de conceção por ciclo diminui de 25 %, aos 25 anos, para 12 %, aos 35 anos e cerca de 6 % aos 42 anos.⁵

A menopausa constitui o estadio final do processo de envelhecimento ovárico, contudo, consiste num processo biológico que não depende apenas da idade da mulher, daí a elevada variabilidade interpessoal no início deste evento.⁵ No entanto, os mecanismos inerentes ao envelhecimento ovárico estão ainda por clarificar, principalmente pela multifatoriedade verificada, sendo que o principal fator parece tratar-se do *stress* oxidativo intraovário.¹⁵

Ao longo da perimenopausa, aumenta o número de ciclos anovulatórios e, na fase mais tardia, verifica-se uma maior irregularidade dos ciclos menstruais, constatando-se, inclusivamente, amenorreia em parte destes.⁹

Contrariamente ao que seria expectável, inicialmente ocorre um aumento da produção de E2, fruto de uma súbita elevação da concentração de FSH. Este aumento será resultante da menor produção de inibina B e AMH, que se repercute, de igual forma, num aumento secundário da LH, por estimulação da libertação de GnRH (Figura 5). O decréscimo da produção de E2 surge numa fase mais tardia da perimenopausa.^{9, 16}

Por sua vez, a redução na qualidade dos ovócitos resulta de mecanismos complexos e não totalmente esclarecidos, na atualidade. Um dos fatores que parece contribuir para este evento reside na acumulação de danos em células de folículos primordiais, paralela ao envelhecimento feminino, os quais incluem anomalias ao nível do genoma nuclear e a deterioração da funcionalidade citoplasmática.^{5, 14} Postula-se ainda que o ambiente hormonal local seja um fator adicional, isto é, níveis superiores de FSH, ao interferir com a maturação folicular, resultam numa maior taxa de aneuploidia dos ovócitos remanescentes.¹⁴

4.1.2.3. Reserva Ovária Diminuída e Testes de Reserva Ovária

O termo “reserva ovária diminuída” (ROD) consiste num fenómeno verificado em mulheres com idade próxima dos 40 anos, por vezes mais cedo, que resulta num declínio da *pool* folicular e da qualidade ovocitária. Esta condição poderá contribuir de forma significativa para a subfertilidade ou infertilidade feminina, dada a potencial associação a uma menor taxa de ovulações e, caso a mulher recorra a técnicas de PMA, a menor resposta à estimulação ovária controlada (EOC).¹⁷

Na maioria dos casos, o fator responsável pela ROD é desconhecido, não havendo ainda consenso quanto a considerar este evento um processo patológico, resultado de uma taxa de atresia folicular anormalmente elevada, perante uma *pool* ovocitária normal, ou resultado de uma *pool* basal anormalmente reduzida.³

Um ambiente hormonal anómalo, como um eventual aumento da concentração sérica da FSH, fruto de uma reserva ovária quantitativamente reduzida, afeta o desenvolvimento do ovócito selecionado e resulta numa maior incidência de aneuploidia ao nível dos ovócitos remanescentes. Assim, mulheres jovens com ROD, podem desenvolver um declínio da qualidade ovocitária, semelhante ao verificado em idade reprodutiva avançada.¹⁴

A ROD pode ainda estar associada à exposição a quimioterápicos, radiação pélvica (durante um tratamento oncológico) ou a anomalias genéticas (como Síndrome de Turner), contudo, não parece estar associada ao estilo de vida individual, com a possível exceção do tabagismo.³

Deste modo, a ROD diferencia-se dos conceitos de má resposta ovárica à EOC, menopausa e insuficiência ovárica primária (IOP).³ Não obstante, a definição clínica da ROD não é ainda universal. Uma análise científica de Cohen *et al.* (2015) constatou que, entre 121 artigos com referência a ROD, publicados de 1990 a 2015, 107 não apresentavam uma definição clara deste conceito. Entre os 14 restantes, verificou-se uma heterogeneidade significativa na definição clínica de ROD (Tabela I).¹⁸

O principal objetivo de recorrer a um TRO, na avaliação pré-tratamento, consiste na identificação de mulheres com risco de terem uma ROD, as quais apresentam uma maior probabilidade de desenvolver uma má resposta à estimulação das gonadotrofinas, isto é, de ter menos sucesso na gravidez clínica.^{3, 4} Podem ainda permitir identificar, previamente, mulheres com elevado risco de desenvolver Síndrome de Hiperestimulação Ovárica (SHEO).⁴

O TRO ideal deverá ser não invasivo, acessível, rapidamente interpretável, reprodutível e ter uma variabilidade mínima intra e interciclos. Deve ainda ser um teste válido, ou seja, com uma sensibilidade e especificidade satisfatórias.⁴

Uma especificidade elevada do TRO associa-se a um valor preditivo negativo (VPN) com utilidade clínica, o qual traduz a probabilidade de uma mulher que apresente um teste negativo tenha efetivamente uma reserva ovárica normal. Isto permite evitar o recurso a intervenções desnecessárias em mulheres com reserva ovárica normal, ou seja, diminuir a porção de falsos positivos. Ao aumentar a especificidade, diminui a sensibilidade, o que significa que nem todas as mulheres com ROD serão identificadas.^{3, 4}

É de salientar que o facto de uma mulher apresentar ROD não significa que seja incapaz de ter sucesso na gravidez clínica, mas que a probabilidade de o conseguir é menor.⁴ Inclusivamente, as evidências científicas revelam que mulheres com ROD não apresentam um risco de interrupção médica da gravidez ou anomalias fetais superiores às mulheres com reserva ovárica normal e que, perante o recurso à PMA, não apresentam taxas de aneuploidia superiores.¹⁹

É ainda de ressaltar que os TRO não devem ser utilizados de forma transversal em toda a população. A principal vantagem dos mesmos consiste na identificação de ROD em mulheres com elevado risco de apresentar uma verdadeira ROD. Esta avaliação está dependente do conhecimento da prevalência desta condição na população a que certa mulher pertence, o que constitui uma dificuldade no recurso a estes testes na prática médica, uma vez que a prevalência de ROD por população é desconhecida. Assim, alguns investigadores aconselham a que a avaliação da reserva ovárica não seja efetuada caso não tenha sido identificado um contexto de infertilidade do casal, pelo risco de resultar num elevado número de falsos positivos (baixo valor preditivo positivo, VPP).³

4.1.2.4. Doseamento da Hormona Anti-Mülleriana

A AMH consiste numa glicoproteína pertencente à família do fator de crescimento transformador-beta (TGF- β).⁸ É produzida quase exclusivamente pelas células da granulosa de folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais. Cerca de 60 % é fruto de mecanismos bioquímicos que ocorrem no interior de folículos antrais com 4 a 8 mm, dada a maior dimensão dos mesmos, logo, maior quantidade de células da granulosa.^{8, 12, 20}

A produção de AMH tem início após a ativação folicular e diferenciação dos folículos primordiais em folículos primários, por volta das 36 semanas de idade gestacional. Esta vai aumentando gradualmente e é mantida até atingirem o estádio antral, sendo que os folículos pré-ovulatórios e os folículos em atresia não sintetizam esta hormona em quantidade significativa.^{8, 20, 21} Assim, quando os folículos assumem maiores dimensões, a produção de AMH é reduzida, o que permite que os mesmos se tornem mais sensíveis à FSH, favorecendo a diferenciação do folículo dominante.²² Deste modo, o tamanho da *pool* de folículos em desenvolvimento constitui o principal determinante da concentração sérica desta hormona ovárica.^{21, 23, 24} Ao ser produzida na fase inicial da foliculogénese, a AMH reflete a foliculogénese independente da ação das gonadotrofinas, uma vez que o crescimento e a maturação de folículos pré-antrais e antrais de dimensões entre 2 e 5 mm são independentes da FSH.^{4, 12, 25}

A forte correlação entre os níveis da AMH e o número de folículos em crescimento é verificada pela evidência de quantidades elevadas da mesma no contexto de tumores ováricos ou ovários poliquísticos, contrastando com os níveis reduzidos observados em idade pós-menopáusia ou em mulheres com Síndrome de Turner (em que uma das manifestações consiste na IOP).¹³

De facto, a AMH assume um papel preponderante no recrutamento folicular inicial e seleção do folículo dominante, ao ser um regulador parácrino negativo da foliculogénese precoce, uma vez que tem como função inibir o recrutamento de folículos pertencentes à *pool* primária, e, a partir da puberdade, inibir a seleção folicular efetuada pela FSH e a ação da aromatase.^{4, 26} Assim, contribui para a conservação da reserva ovárica (Figura 3).¹³

Dado que as flutuações da AMH ao longo do ciclo menstrual parecem ser *minor* e aleatórias, e que não sofre oscilações significativas com o ritmo circadiano, acredita-se que esta hormona não seja influenciada pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovário.^{23, 27, 28} Deste modo, é passível de ser doseada em qualquer fase do ciclo menstrual, com valor clínico significativo.^{4, 12}

Segundo uma análise sistemática, realizada por Bhide *et al.* (2019), vários estudos demonstraram a variabilidade dos valores de AMH ao longo da idade pediátrica. Concretamente, constatou-se que ocorre um aumento durante a infância, ligeira diminuição na puberdade e níveis relativamente constantes durante a adolescência. No entanto, não são ainda conhecidos os mecanismos biológicos responsáveis por esta variação após o nascimento.¹² Hagen *et al.* (2012, 2015) demonstraram um aumento da AMH de 17 % entre o estadio pré-pubertário e a puberdade (2,8-3,36 ng/mL ou 20-24 pmol/L).²⁹ Quanto à fase pubertária, concluíram que a AMH sérica diminui 30 % durante os 2 primeiros anos (de 2,8 ng/mL ou 20 pmol/L para 1,96 ng/mL ou 14 pmol/L).³⁰ Tais achados foram corroborados por Jeffery *et al.* (2015) e Cui *et al.* (2016).¹² A Figura 6 [A] reflete a variação dos níveis de AMH entre a infância e a adolescência e a Figura 6 [B] a variação entre o estadio pré-pubertário e o pós-pubertário.

O aumento da AMH sérica ao longo da infância reflete o recrutamento folicular para a *pool* antral, independente das gonadotrofinas. Por outro lado, a diminuição verificada durante a puberdade será fruto de uma redistribuição folicular, uma vez que níveis crescentes de FSH e E2 levam ao maior recrutamento e maturação foliculares.¹²

Com isto, os valores de referência para a AMH sérica variam de acordo com a idade da mulher. O valor máximo de AMH é atingido entre os 24 e os 27 anos de idade, diminuindo a sua produção a partir desse momento, pelo que nesta idade ocorre o pico da fertilidade feminina.^{4, 13, 26} Assim, com a diminuição da quantidade de folículos antrais decorrente do envelhecimento (menor ROF), também a produção de AMH acaba por diminuir, passando para níveis indetetáveis após a menopausa.^{8, 21, 28}

Segundo Tal *et al.* (2017), o valor de referência considera-se o limite inferior da normalidade (LIN), por intervalos de 5 anos, isto é:

- 3,0 ng/mL aos 25 anos;
- 2,5 ng/mL aos 30 anos;
- 1,5 ng/mL aos 35 anos;
- 1,0 ng/mL aos 40 anos;
- 0,5 ng/mL aos 45 anos.

O ensaio AMH mais amplamente utilizado, Gen II (ensaio AMH Geração II), revelou, recentemente, valores médios cerca de 30-40 % superiores aos referidos.⁴

Contudo, é de salientar que os níveis de AMH são influenciados por fatores biológicos e ambientais. A título de exemplo, o tabagismo ativo e baixos índices de vitamina D associam-se a

baixos níveis de AMH.^{4, 31} Curiosamente, parece existir uma correlação negativa entre os níveis de AMH e a idade a que a mãe das mulheres atingiram a menopausa, o que poderá traduzir a componente genética envolvida na longevidade reprodutiva da mulher.²³

4.1.2.5. Contagem de Folículos Antrais

A CFA consiste na contabilização ecográfica dos folículos com dimensões entre 2 e 10 mm, em ambos os ovários, durante a fase folicular precoce do ciclo menstrual (dia 2 – dia 4). É um parâmetro acessível, com resultado imediato e tem uma boa fiabilidade interciclo, pelo que é considerado um excelente método para avaliar a reserva ovária.^{3, 4, 32}

Contudo, a CFA comporta algumas limitações. Deve ser estimada no início do ciclo menstrual, dada a variabilidade ao longo do mesmo (pela presença de folículos de maiores dimensões e corpos lúteos), é operador-dependente e pode variar consoante a tecnologia e os critérios de medição utilizados. Em paralelo, sobrestima tendencialmente o número de folículos sensíveis à FSH, uma vez que acaba por contabilizar, em conjunto, os folículos em atresia do mesmo tamanho.^{4, 13, 32}

Em mulheres com excesso de peso ou obesidade, parece haver uma variabilidade intra e interciclo, limitando o valor preditivo deste biomarcador nesta subpopulação. De salientar ainda que não é um bom TRO em caso de cirurgia ovárica prévia ou presença de quistos ováricos.^{4, 13}

Apesar das referidas limitações, verificou-se que uma CFA reduzida é altamente específica para uma má resposta ovárica à EOC. Perante a baixa sensibilidade deste teste, aconselha-se a combinação do mesmo com o doseamento da AMH, em doentes submetidas a técnicas de PMA.³

4.2. Testes de Reserva Ovárica e Procriação Medicamente Assistida

Na atualidade, constata-se a existência de uma elevada pressão, sobre os clínicos, para prever o potencial sucesso das técnicas de PMA ou qual a técnica mais promissora na abordagem do casal infértil.^{4, 8}

Um tratamento de PMA individualizado proporciona a criação de condições para a adaptação dos protocolos às características individuais, maximizando a probabilidade de sucesso e minimizando o risco de cancelamento de ciclo. Este processo conduz a numerosas vantagens ao nível do planeamento familiar de casais inférteis, nomeadamente, uma menor taxa de recorrência a técnicas de PMA por cada casal, logo, um menor impacto psicológico e sobrecarga física, maior adesão e menor taxa de abandono. Contudo, na prática clínica, torna-se complexo proceder a uma individualização apropriada dos tratamentos, dada a variedade de fármacos disponíveis. Mediante tentativas repetidas de gravidez clínica, torna-se cada vez mais simples instituir protocolos caso a caso, com base na resposta evidenciada num ciclo anterior.³³

No entanto, a PMA não constitui uma garantia de sucesso. A título de exemplo, o Relatório da Atividade em PMA de 2020, relativo ao ano de 2017, documentou que foram iniciados 6.123 ciclos de Fertilização *in Vitro* (FIV) e Microinjeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI, *IntraCytoplasmic Sperm Injection*), intraconjugal a fresco, tendo resultado em 1.366 gestações clínicas e 1.204 recém-nascidos vivos.³⁴

Neste âmbito, o parâmetro mais utilizado para avaliar a resposta ovárica à EOC consiste no número de ovócitos maduros obtidos, sendo classificada como má, subótima, normal ou excessiva resposta.³⁵ Um dos principais determinantes prognósticos reprodutivos consiste na escolha do protocolo de estimulação, nomeadamente, a dose inicial de gonadotrofina a administrar, dada a variabilidade interpessoal da ROF. Deste modo, torna-se benéfico apurar o potencial ovárico individual previamente à EOC.^{33, 36}

Apesar dos potenciais benefícios, fazer uma estimativa da *pool* de folículos primordiais propriamente dita é impraticável no quotidiano clínico. No entanto, os biomarcadores utilizados hoje em dia permitem estimar a *pool* de pequenos folículos em crescimento, com vantagens na prática médica, uma vez que parece haver uma boa correlação entre os mesmos e a *pool* primordial.¹²

Alguns estudos reportaram que a AMH e a CFA apresentam uma forte correlação, pelo que acabam por ser equivalentes a nível clínico.³⁷ Especialmente no âmbito da EOC, a avaliação combinada parece ser vantajosa para inferir acerca da provável resposta ovárica individual, permitindo maximizar a possibilidade de gravidez e tentar eliminar efeitos iatrogénicos da terapêutica instituída. Enquanto a AMH apresenta uma melhor avaliação de pequenos folículos, não atresícos, uma vez que deteta, inclusivamente, folículos pré-antrais com 0,4-2 mm, a CFA permite visualizar folículos em crescimento e apurar as respetivas dimensões, aspetos importantes na análise do progresso da estimulação.^{4, 13}

No entanto, 4 grandes ensaios multicêntricos prospectivos em pacientes sob FIV ou ICSI concluíram, em consonância, que a AMH constitui um melhor preditor da quantidade ovocitária obtida após EOC.⁴ Em adição, vários estudos comprovaram que a AMH é o biomarcador mais precoce e sensível neste âmbito.^{4, 37} Assim, perante a variabilidade na avaliação da CFA e a evidência crescente de vantagens no uso da AMH, esta última tem vindo a ser considerada o biomarcador de preferência para estudar a resposta ovárica.^{4, 38}

Em 2002, Seifer *et al.* reportaram, pela primeira vez, a relação entre a AMH sérica e a resposta ovárica à estimulação farmacológica. Concretamente, verificaram que, ao terceiro dia de estimulação, níveis superiores de AMH apresentavam uma correlação com uma maior quantidade de ovócitos obtidos, nomeadamente, mulheres com ≥ 11 ovócitos possuíam níveis médios de AMH 2,5 vezes superiores aos verificados em mulheres com ≤ 6 ovócitos. Este achado foi corroborado por vários estudos subsequentes.²² Em conformidade, Kwee *et al.* (2007, n = 110) demonstraram que, por cada micrograma/litro que a AMH aumenta, ocorre um aumento de 2,5 folículos.⁸

Deste modo, o doseamento da AMH sérica permite efetuar o aconselhamento pré-terapêutico, tendo em consideração que uma ROD está associada a uma maior probabilidade da mulher desenvolver uma má resposta ovárica, além de permitir diminuir significativamente o risco de desenvolvimento de SHEO.^{4, 32, 39} Contudo, o seu doseamento está associado a um reduzido valor preditivo de sucesso na gravidez clínica.⁴⁰

As *guidelines* da Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE, *European Society of Human Reproduction and Embryology*), de 2020, indicam que, na avaliação da resposta à EOC, pode ser utilizado quer o doseamento da AMH, quer a CFA.⁴¹

4.2.1. Má Resposta Ovárica

Uma resposta folicular diminuída à estimulação ovárica máxima, isto é, um número reduzido de ovócitos obtidos, é considerada uma má resposta ovárica.³ Verifica-se que esta condição biológica tem uma incidência de 10-20 % e a respetiva prevalência está dependente da idade da mulher, aumentado consideravelmente com o envelhecimento, sendo que mulheres com 43-44 anos apresentam uma prevalência aproximada de 50 %.³³

O próprio microambiente folicular pode ser desfavorável à estimulação farmacológica. Inclusivamente, vários estudos demonstraram que a foliculogénese pode ser influenciada pelo *stress* oxidativo e presença de radicais livres em excesso, com impacto na qualidade ovocitária e do próprio

embrião, condicionando um pior prognóstico reprodutivo.³⁵ Nesse sentido, Alviggi *et al.* (2016) demonstraram que a administração bidária de mio-inositol (fator de crescimento), associado a antioxidantes ativos (como a glutatona, selênio, vitamina C e E ou zinco), durante os 5 meses prévios à EOC, apresenta um efeito favorável ao aumentar o número de ovócitos maduros obtidos.⁴² Em adição, Xu *et al.* (2018) concluíram que o uso de coenzima Q10 (antioxidante), 200 mg três vezes por dia, durante os 60 dias prévios ao ciclo de FIV, estava associado a uma maior quantidade de ovócitos obtidos, taxa de fertilização e embriões de elevada qualidade.³⁵

Para prever uma má resposta ovárica, os clínicos baseiam-se no resultado desfavorável de tratamentos de PMA prévios, idade avançada da mulher, evidência de ciclos menstruais encurtados (uma das manifestações do envelhecimento ovárico), história de cirurgia ovárica e marcadores de reserva ovárica (MRO) diminuídos (AMH ou CFA).³³

De forma a uniformizar esta análise, em 2011, a ESHRE publicou os critérios de Bolonha, que permitem definir se uma má resposta à EOC traduz uma verdadeira resposta ovárica reduzida. Para tal, deverão estar presentes dois dos seguintes:

- Idade materna ≥ 40 anos ou outro fator de risco;
- História prévia de má resposta ovárica (≤ 3 ovócitos obtidos após estimulação ovárica máxima);
- MRO anormal (AMH $< 1,2$ ng/mL ou CFA < 5).^{3, 39}

A evidência de dois episódios de má resposta ovárica, após estimulação maximizada, é suficiente para definir uma má respondedora.³

Por outro lado, mulheres com uma má resposta ovárica podem ser categorizadas em 5 subgrupos:

- Má resposta ovárica prévia e ≥ 40 anos;
- Má resposta ovárica prévia e MRO $< \text{LIN}$;
- ≥ 40 anos e MRO $< \text{LIN}$;
- Má resposta ovárica prévia numa mulher com ≥ 40 anos e MRO $< \text{LIN}$;
- Dois episódios de má resposta ovárica após estimulação maximizada.³⁹

Esta categorização denota a correlação entre o prognóstico reprodutivo, MRO e dados clínicos, como a idade ou antecedentes de recurso a técnicas de PMA, os quais passam a ser integrados no conceito de má resposta ovárica.³⁹

Apesar do forte potencial desta abordagem, vários estudos concluíram a ausência de diferenças estatisticamente significativas na taxa de nascidos vivos após PMA, entre os diferentes subgrupos.³⁹ Inclusivamente, um estudo retrospectivo amplo, realizado por Bozdag *et al.* (2015), envolvendo 821 doentes enquadradas nos critérios de Bolonha, a taxa de nascimentos bem sucedidos na sequência de FIV foi de 2,3 a 8,7 %.⁴³

Contudo, é de salientar que o mesmo tipo de tratamento pode não estar otimizado para algumas mulheres consideradas más respondedoras, ainda que possam vir a evidenciar um prognóstico semelhante em relação às restantes.⁴⁴

4.2.1.1. Marcadores de Reserva Ovária e Má Resposta Ovária

Segundo uma análise sistemática realizada por La Marca *et al.* (2014), o *cut-off* de valores de AMH associados a uma má resposta ovária varia entre 0,1 e 2,97 ng/mL. No entanto, este intervalo inclui valores de AMH sérica considerados normais, em mulheres saudáveis.^{4, 33}

Por outro lado, os dois maiores estudos prospetivos publicados até ao momento, de Nelson *et al.* (2007) e Al-Azemi *et al.* (2011), incluíram 340 e 356 mulheres, respetivamente. O primeiro revelou que um *cut-off* de AMH de 0,7 ng/mL (5 pmol/L) está associado a uma má resposta ovária (ensaio *Diagnostic Systems Lab*, DSL), com uma sensibilidade de 75 % e uma especificidade de 91 %. Já o segundo, demonstrou que um valor de 1,36 ng/mL (9,7 pmol/L) apresenta uma sensibilidade de 75,5 % e especificidade de 74,8 % (ensaio *Immunotech Beckman Coulter*, IBC). Assim, de acordo com os dados publicados, parece ser aceitável assumir que um valor de AMH circulante de 0,7-1,3 ng/mL é indicativo de uma má resposta ovária.³³

De salientar que os estudos realizados neste âmbito tanto utilizaram o ensaio DSL como o IBC, pelo que, uma vez que são usados diferentes anticorpos contra a AMH consoante protocolo escolhido, é necessário ter em consideração este aspeto na análise dos resultados obtidos. Nos estudos mais recentes, este deixou de constituir um problema, dada a crescente utilização do ensaio Gen II, o qual conta com a especificidade do ensaio DSL e é ajustado de acordo com o IBC. Genericamente, os valores obtidos pelo recurso ao DSL podem ser comparados com valores de estudos realizados através do IBC, multiplicando os primeiros valores por 1,39. O ensaio Gen II terá valores similares ao IBC, permitindo uma comparação direta.³³

Em 2020, Ana Isabel Braga Reis, uma estudante do Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, realizou um estudo observacional retrospectivo que

incluiu a análise de 204 ciclos de EOC realizados no Centro de Procriação Medicamente Assistida do Centro Hospitalar Universitário do Porto (CPMA-CHUP). Os doseamentos de AMH que teve por base foram realizados com recurso ao ensaio Gen II. Na sua análise, concluiu que o *cut-off* de AMH ideal para diferenciar mulheres com previsível má resposta ovárica, tratadas no CPMA-CHUP, é de 0,3 ng/mL (2,14 pmol/L), com uma especificidade de 98,2 %, sensibilidade de 24,2 %, VPP de 72,7 % e VPN de 87,0 %.⁴⁵

No que concerne à CFA, não existe concordância quanto ao *cut-off* a ter em consideração. A título de exemplo, Chang *et al.* (1998) definiram um *cut-off* < 3, enquanto Melo *et al.* (2009) sugeriram um valor < 12. Uma possível explicação para este facto reside na ausência de métodos *standard* de medição de folículos antrais, perante a evidência de diferentes populações de folículos. Estudos mais recentes revelaram ser aceitável considerar um valor < 5-7 folículos recuperados para ser considerada uma má resposta ovárica.³³

Através de um processo de construção de um consenso validado, La Marca *et al.* (2016) inferiram que o risco de má resposta ovárica é significativo perante uma AMH sérica < 1 ng/mL ou CFA < 7, além da idade materna ≥ 40 anos.⁴⁶ Contudo, ressalva-se que uma AMH reduzida constitui um parâmetro com maior importância na previsão da má resposta ovárica.³²

A identificação de uma baixa probabilidade de resposta ovárica associa-se a um risco de um reduzido número de ovócitos obtidos, após estimulação, e de embriões a implantar.³⁹ Nesse sentido, torna-se possível preparar o casal para o prognóstico do tratamento, nomeadamente, quanto à necessidade de protocolos prolongados e, em caso de desfecho desfavorável, reduzir o abandono dos tratamentos e o impacto psicológico.³³

4.2.1.2. Critérios POSEIDON (*Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number*)

Em 2016, o Grupo de Trabalho POSEIDON (*Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number*) definiu critérios que permitem estratificar o baixo prognóstico reprodutivo feminino, os critérios POSEIDON. Estes surgiram na sequência de se verificar uma heterogeneidade biológica e clínica entre as doentes consideradas más respondedoras, na tentativa de melhorar a definição da estratégia terapêutica em doentes com maior probabilidade de vir a evidenciar uma má resposta à estimulação ovárica, através da identificação de subgrupos mais homogêneos.³⁹

Assim, estes critérios otimizaram a categorização deste grupo de mulheres, de acordo com a idade, ROF e resposta ovárica. Tendo por base os principais MRO, dividem as doentes em duas populações principais, consoante apresentem uma reserva ovárica basal normal ou diminuída, e em quatro perfis prognósticos.⁴⁷

Deste modo, segundo a classificação POSEIDON (Tabela II), mulheres com uma ROD pré-estimulação, isto é, AMH < 1,2 ng/mL ou CFA < 5, são consideradas “expectáveis más respondedoras ováricas”, dividindo-se em grupo 3 ou 4 consoante tenham idade < ou ≥ 35 anos, respetivamente. Estes dois grupos terão como principal diferença a qualidade ovocitária. De facto, estima-se que a taxa de euploidia embrionária diminui cerca de 2,4 % por ano e a taxa de euploidia do blastocisto é de 60 % aos 35 anos e 30 % aos 40 anos, com um subsequente declínio do potencial de implantação com o avançar da idade.³⁹ Haahr *et al.* (2018) apuraram que mulheres incluídas no grupo 3 necessitam de 4 a 7 ovócitos para obter pelo menos um embrião euploide, enquanto mulheres pertencentes ao grupo 4 necessitam de, pelo menos, 12.⁴⁸

Já os grupos 1 e 2, englobam mulheres com uma má resposta ovárica não expectável, de idade < ou ≥ 35 anos, respetivamente, ou seja, aquelas em que, apesar de possuírem uma ROF satisfatória (CFA ≥ 5 e AMH ≥ 1,2 ng/mL), apresentam um número de ovócitos reduzido (< 9).³⁹

Estes critérios enfatizam a importância de se ter em consideração a qualidade ovocitária, nesta avaliação.⁴⁷ Comparativamente aos critérios de Bolonha, têm maior utilidade clínica e estima-se que 47 % das mulheres que são submetidas a tratamentos de PMA podem ser enquadradas numa das categorias POSEIDON.⁴⁴

Contudo, esta estratégia carece ainda de validação preponderante, por ensaios clínicos prospetivos.³⁹ Apesar desta limitação, constituirá uma vantagem no acompanhamento de casais com história de perda de gravidez recorrente, assumindo um papel de relevo neste contexto, uma vez que se estima que cerca de 2-5 % das mulheres inférteis sofrem ≥ 3 episódios de perda de gravidez.⁴⁷

4.2.1.3. Análise do Potencial Ovárico

As medidas quantitativas para avaliar a reserva ovárica refletem-na de forma estática, contudo, o crescimento folicular em resposta à EOC consiste num processo dinâmico.³⁵

A sensibilidade ovárica à estimulação farmacológica pode ser amplamente influenciada por fatores genéticos. A título de exemplo, o recetor de FSH apresenta polimorfismos genéticos e o

próprio ritmo pulsátil de secreção desta hormona sofre uma regulação endógena individual e complexa, tendo estes eventos especial impacto no recrutamento e crescimento folicular, que pode condicionar um resultado inesperado após EOC.⁴⁹

Neste âmbito, urgiu a necessidade de definir parâmetros que refletissem de forma mais fidedigna a dinâmica do desenvolvimento folicular, em resposta às gonadotrofinas exógenas. Estes incluem o Índice Folicular-Ovotário (FOI, *Follicle-to-Oocyte Index*), a Taxa de *Output* Folicular (FORT, *Follicular Output Rate*), e o Índice de Sensibilidade Ovária (OSI, *Ovarian Sensitivity Index*).⁴⁹

4.2.1.3.1. Índice Folicular-Ovotário e Taxa de “Output” Folicular

O FOI, calculado pelo quociente entre o número total de ovócitos obtidos no final do protocolo de estimulação e a CFA basal, tem utilidade na análise da resistência ovária à EOC. Considera-se um FOI normal se esta relação for $> 50\%$ e um FOI baixo se for $\leq 50\%$.³⁵

O FOI pode ainda ser útil para prever a probabilidade de sucesso na técnica de PMA instituída. Em concreto, um FOI reduzido implica que apenas uma pequena porção dos folículos antrais resultou na obtenção de ovócitos e poderá induzir o clínico a adotar protocolos de estimulação distintos em eventuais tentativas de PMA subsequentes.³⁵

Esta metodologia encontra-se atualmente sob avaliação, num estudo italiano multicêntrico (*Impact of Gonadotropin GENetics Profile and OvArian Reserve on Controlled Ovarian Stimulation, the GENACOS study*) e pensa-se que, no futuro, poderão ser incluídas variáveis adicionais aquando do recurso a este parâmetro biológico, como a dose de gonadotrofina exógena utilizada.³⁵

A FORT, definida pelo quociente entre o número de folículos pré-ovulatórios obtidos após administração de FSH e a CFA basal, é igualmente considerada um marcador qualitativo de resposta ovária. Uma FORT $< 0,30$ indica uma baixa sensibilidade ovária, entre 0,30 e 0,80, normal e $> 0,80$, uma sensibilidade elevada. A par do FOI, reflete a dinâmica do crescimento folicular em resposta à gonadotrofina exógena e auxilia a abordagem de mulheres que possam beneficiar de terapêutica farmacológica para melhorar o comportamento folicular. De facto, ambos estão positivamente relacionadas com os resultados da FIV, contudo, há ainda poucos resultados científicos a especificar os respetivos valores associados aos quatro grupos POSEIDON.⁴⁴

Chen *et al.* (2020), através de um estudo retrospectivo envolvendo a análise de 32.128 ciclos de FIV, constataram que os valores de FORT e FOI eram superiores no grupo 3, seguido do 1 e 4 e o

grupo com menores valores foi o 2. Isto significa que, apesar do grupo 2, de mulheres com ≥ 35 anos, apresentar uma ROF normal, os resultados da estimulação ovárica são menos favoráveis quando comparado com o grupo 3, que inclui mulheres com < 35 anos com uma ROD. Comparando os grupos 3 e 1, verificou-se que o grupo 3 tinha FORT e FOI ligeiramente superiores. Estes achados estão concordantes com os critérios POSEIDON, sendo expectável uma menor sensibilidade ovárica nos grupos 1 e 2 do que nos grupos 3 e 4. O facto do grupo 3 ter apresentado FORT e FOI superiores, mediante a utilização de doses de gonadotrofina semelhantes entre os diferentes grupos, sugere que não haverá benefício adicional, no que concerne à sensibilidade ovárica, ao aumentar a dose de gonadotrofina durante a EOC. Em relação aos grupos 2 e 4, dado haver uma menor atividade da LH com o avançar da idade, essas mulheres poderão beneficiar da administração de LH. Neste âmbito, deve ser igualmente ponderado o recurso a suplementos como coenzima Q10, multinutrientes, hormona de crescimento ou desidroepiandrosterona (DHEA), na tentativa de melhorar a qualidade ovocitária, apesar de ser ainda escassa a evidência do benefício no recurso aos mesmos. Por fim, Chen *et al.* concluíram que as mulheres com uma baixa sensibilidade ovárica beneficiam de ajustes no protocolo de estimulação, enquanto mulheres com sensibilidade ovárica normal terão resultados mais satisfatórios perante um ajuste da dose de gonadotrofina. Contudo, nos casos com FORT $< 0,30$, parte das mulheres não apresenta uma melhoria da sensibilidade ovárica, apesar dos ajustes no protocolo de estimulação e na dose de gonadotrofina, o que poderá refletir o impacto de eventuais polimorfismos e mutações genéticas envolvidos.⁴⁴

4.2.1.3.2. Índice de Sensibilidade Ovárica

Desde que se apurou que a obtenção de 15 a 18 ovócitos está associada a *outcomes* da FIV mais satisfatórios, tem-se vindo a investir na exploração dos protocolos para atingir esses valores. Contudo, uma vez que o potencial ovárico máximo advém de doses máximas de gonadotrofina exógena, não é de negligenciar o risco de ocorrência de SHEO. Assim, não sendo seguro administrar doses máximas de gonadotrofina, uma porção significativa das mulheres sob EOC apresenta um número de ovócitos recuperados que não reflete adequadamente o respetivo potencial ovárico máximo, nem a verdadeira sensibilidade às gonadotrofinas.⁴⁹

Nesse sentido, o OSI constitui um marcador adicional do potencial ovárico, obtido pela razão entre o número de ovócitos recuperados e a dose total de gonadotrofina administrada, expressando as unidades de gonadotrofinas necessárias para a obtenção de cada ovócito. Este parâmetro permite estimar a sensibilidade ovárica às gonadotrofinas exógenas e pode ser utilizado para ajustar o

protocolo de EOC em ciclos subsequentes de FIV, após a primeira estimulação, proporcionando o ajuste individual dos fármacos a administrar.⁴⁹

Huber *et al.* (2013), mediante a análise de 7.520 ciclos de estimulação ovárica, demonstraram que a taxa de gravidez é comparável entre mulheres com ≥ 16 ovócitos recuperados após receber alta dose de gonadotrofina e mulheres com < 6 ovócitos recuperados após uma estimulação de baixa dose, de 25,4 *versus* 27,2 %, respetivamente.⁵⁰ Estes achados sugerem a existência de algum efeito prejudicial do uso de elevadas doses de gonadotrofinas na qualidade ovocitária ou ao nível do endométrio. Pode ainda depreender-se que mulheres com ovários pouco responsivos, com necessidade de estimulação através de uma dose elevada, são *a priori* menos propensas a desenvolver gravidez, pois podem eventualmente obter um maior número de ovócitos, contudo, estes serão de qualidade reduzida.⁴⁹

Um estudo realizado por Revelli *et al.* (2020), que envolveu 3.353 ciclos de FIV, demonstrou que o OSI apresenta uma correlação significativa com os biomarcadores atualmente utilizados para prever a resposta ovárica, como a idade, índice de massa corporal (IMC), CFA e AMH sérica, apresentando uma correlação inversa com os dois primeiros e direta com os dois últimos. Adicionalmente, evidenciou que mulheres com OSI elevado apresentam uma taxa de gravidez clínica significativamente superior, independentemente da idade, sugerindo que as mulheres com uma alta sensibilidade ovárica têm um bom prognóstico reprodutivo, mesmo que apresentem idade reprodutiva avançada. Deste modo, estes dados indicam que o OSI reflete a responsividade ovárica, e até a taxa de gravidez, melhor do que a quantidade de ovócitos recuperados e representa um preditor independente de sucesso.⁴⁹

No estudo referido acima, 209 das mulheres incluídas foram submetidas a dois ciclos de FIV, um utilizando um agonista da GnRH e outro utilizando um antagonista da GnRH. Nestas, observou-se que o OSI foi consistente em 82 % das mesmas e que este parâmetro não é afetado de forma significativa pelo protocolo de EOC utilizado. Assim, este estudo denota uma provável associação do OSI às características individuais da mulher, tendo os fármacos administrados um menor impacto aparente. Concluiu-se que o OSI reflete com boa precisão a sensibilidade ovárica às gonadotrofinas e representa um biomarcador fiável de responsividade ovárica, com potencial para estimar a probabilidade de gravidez após FIV, em mulheres submetidas a diferentes protocolos de EOC. Por outro lado, poderá ser integrado nos modelos utilizados para calcular, de forma precisa, a dose ideal de gonadotrofinas a instituir durante a EOC.⁴⁹

4.2.2. Resposta Ovária Excessiva

É de especial importância prever com precisão se uma mulher apresenta alta probabilidade de responder excessivamente à EOC, pois este é o principal fator que predispõe ao desenvolvimento de SHEO. Esta condição pode ser ameaçadora de vida, caracterizando-se por um aumento ovárico, decorrente de lesões quísticas, e por uma perda dramática e abrupta do fluido intravascular para o terceiro espaço, com risco de disfunção hepática e renal, hemorragia ovárica e até tromboembolismo. Por outro lado, a obtenção de um elevado número de ovócitos pode, por si só, condicionar um mau prognóstico, uma vez que a proporção de ovócitos imaturos resultante será superior.³³

Uma resposta ovárica excessiva ocorre em cerca de 7 % dos ciclos de FIV e, considerando apenas mulheres com < 30 anos, o risco de hiperestimulação aumenta para 15 %. Traduz-se pela obtenção de > 15 (La Marca *et al.*, 2010; Broer *et al.*, 2011) ou > 20 (Nelson *et al.*, 2007) ovócitos após EOC.³³ Os principais fatores de risco para a SHEO consistem num baixo IMC, idade jovem e Síndrome do Ovário Poliquístico, no entanto, o fator com maior valor prognóstico consiste na presença de ≥ 15 folículos de diâmetro > 10 mm, no dia da administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG, *human Chorionic Gonadotropin*).²²

Dada a utilidade adicional do doseamento de AMH no estudo do risco de desenvolvimento de SHEO, está aconselhado o recurso a este teste na escolha do protocolo de PMA a adotar em cada caso.^{22, 32}

De acordo com a análise sistemática de La Marca *et al.* (2013), poucos foram os estudos que publicaram resultados relativos à probabilidade de uma resposta ovárica excessiva. Os que se basearam no ensaio IBC, reportaram um *cut-off* de AMH de 2,6-4,83 ng/mL, os que recorreram ao ensaio DSL, apresentaram um *cut-off* de 1,59-5 ng/mL e os dois estudos que utilizaram o Gen II apuraram um *cut-off* de 3,9/3,52. Lee *et al.* (2008) demonstraram que um valor de 3,36 ng/mL (ensaio DSL) é bom preditor de SHEO, sendo comparável ao número de folículos ováricos presentes no dia da administração de gonadotrofina, o que permite o uso fidedigno deste valor de referência na prática clínica, especialmente durante a avaliação pré-tratamento.³³ La Marca *et al.* demonstraram que um *cut-off* de 3,36-5,0 ng/mL está associado a uma sensibilidade > 53 % e uma especificidade > 70 %.⁵¹

Segundo Ana Reis (2020), o *cut-off* de 4,05 ng/mL (28,90 pmol/L) deve ser o considerado para mulheres tratadas no CPMA-CHUP, por apresentar uma especificidade de 89,9 % e uma sensibilidade de 37,1 %.⁴⁵

No que concerne à CFA, há ainda menos estudos que reportem a probabilidade de uma hiper-resposta ovárica. O maior estudo prospectivo até então publicado incluiu 159 mulheres submetidas a FIV, realizado por Aflatoonian *et al.* (2009), os quais apuraram um *cut-off* > 16, associado a uma sensibilidade de 89 % e uma especificidade de 92 %.³³

O consenso de La Marca *et al.* (2016) concluiu que o risco de hiper-resposta ovárica é significativo quando a AMH assume um valor > 3 ng/mL ou a CFA é > 14.⁴⁶

4.3. Reserva Ovárica e Contraceção Hormonal

4.3.1. Tipos de Contraceptivos Hormonais

O grupo dos contraceptivos hormonais engloba o contraceptivo oral, o sistema intrauterino, o anel vaginal, o adesivo contraceptivo, o implante subcutâneo e a injeção anticoncepcional. Na sua maioria, exercem a sua ação inibindo a ovulação e, parte destes, previnem adicionalmente a implantação do zigoto e/ou contribuem para a manutenção do espessamento do muco cervical.⁵²

Os contraceptivos orais combinados (COC) surgiram em 1958.²³ Estes constituem o método contraceptivo mais utilizado no mundo ocidental, sendo que até 50 % das mulheres em idade fértil são utilizadoras habituais do mesmo e a prevalência ao longo da vida é superior. Em conformidade, verifica-se que cerca de um terço das mulheres que recorrem a consultas de fertilidade são utilizadoras de COC.⁵³

Os contraceptivos combinados não orais incluem o adesivo e o anel vaginal que, tal como os COC, contêm etinilestradiol (EE) e progestina. Há ainda contraceptivos compostos por progestagénio isoladamente, como os contraceptivos orais progestativos (POP, *Progestogen-Only Pill*), o sistema intrauterino de libertação de levonorgestrel (SIU-LNG), a contraceção progestativa injetável e o implante subcutâneo.⁵⁴

Os métodos contraceptivos reversíveis de longa duração (LARCs, *Long-Acting Reversible Contraceptives*) são aqueles que permitem uma contraceção efetiva a longo prazo, administrados

com uma periodicidade superior a 4 ou 12 semanas, segundo o NICE (*National Institute for Health and Care Excellence*) e o ACOG (*American College of Obstetrics and Gynecology*), respetivamente. Deste modo, são apenas considerados nesta categoria o injetável, o subcutâneo e o intrauterino, assim como o dispositivo intrauterino de cobre (DIU).⁵⁵

4.3.2. Impacto da Contraceção Hormonal na Reserva Ovária

4.3.2.1. Impacto da Contraceção Hormonal na Fertilidade

Os contraceptivos hormonais atualmente disponíveis são seguros e parecem não afetar negativamente a probabilidade de gravidez futura, quando utilizados de forma prolongada.^{56, 57}

Contudo, vários estudos reportaram um atraso de cerca de 3 meses no retorno à fertilidade após ser cessada a toma de contraceptivos hormonais.^{58, 59} Uma meta-análise realizada por Girum *et al.* (2018, n = 14.884) permitiu verificar que esse atraso concecional é extremamente reduzido 12 meses após o término de contraceptivos hormonais e que aos 24 meses parece não haver qualquer repercussão dos mesmos na concepção. Em concreto, os investigadores verificaram uma taxa de gravidez de 83,1 % nos primeiros 12 meses após interrupção dos contraceptivos.⁵⁷ Por sua vez, Doll *et al.* (2001) reportaram que a fertilidade das utilizadoras de contraceção hormonal oral (CHO), 42 meses após interromper a toma, é estatisticamente indistinguível das utilizadoras de outros contraceptivos hormonais ou métodos de barreira.⁵⁹

Curiosamente, alguns estudos constataram que mulheres com história de uso prolongado de CHO apresentavam uma fecundabilidade (probabilidade de alcançar uma gravidez num único ciclo menstrual) superior, em relação às utilizadoras por curtos períodos.⁵⁸ Nomeadamente, um estudo prospetivo realizado por Farrow *et al.* (2002, n = 8.497), revelou uma redução significativa do risco de atraso concecional após o uso prolongado de CHO, bem como um aumento independente da fecundidade, paralelo ao aumento da duração do uso do contraceptivo oral, havendo uma associação mais forte após ≥ 5 anos de tratamento.⁶⁰

Em conformidade, Mikkelsen *et al.* (2013, n = 3.727) demonstraram a ausência de um efeito deletério na capacidade de fecundação após cessada a toma prolongada de COC, embora tenha evidenciado um atraso de curto prazo. Inclusivamente, detetaram uma fecundabilidade superior em

mulheres com história de uso de CHO durante ≥ 4 anos, em comparação com utilizadoras por ≤ 2 anos.⁶¹

Cronin *et al.* (2009), através de um ensaio clínico de fase IV, envolvendo 2.064 utilizadoras de COC, concluíram que a dose de EE contida nas formulações (20 μg *versus* 30 μg) não afetou significativamente as taxas de gravidez inicial ou 12 meses após suspensão dos fármacos.⁶²

Ao longo dos últimos anos, tem-se verificado uma utilização crescente de LARCs, sendo que na Europa, em 2019, 9 % das mulheres em idade reprodutiva recorriam a este tipo de anticoncepcionais.⁵⁸ O uso recente de sistemas intrauterinos ou anticoncepcionais injetáveis parece estar associado a um atraso concecional superior.⁶³⁻⁶⁵ Em relação a métodos menos utilizados, há ainda poucos estudos robustos, neste âmbito.⁵⁸ Girum *et al.* (2018) constataram que o tipo de progestina que compõe o contraceptivo não aparenta ter uma repercussão diferencial na taxa de gravidez a curto e longo prazo, tal como o tipo de contraceptivo hormonal e duração da sua utilização.⁵⁷

Yland *et al.* (2020) realizaram um amplo estudo prospectivo envolvendo 17.954 mulheres com história de tentativas de gravidez. Os investigadores concluíram que o retorno à fertilidade normal varia consoante o anticoncepcional utilizado, havendo, no entanto, um atraso concecional, a curto prazo, transversal a todas as utilizadoras de contraceptivos hormonais, comparativamente ao uso de métodos de barreira ($n = 5.497$). As utilizadoras de contraceptivos injetáveis ($n = 94$) foram as que demonstraram um atraso superior, de 5 a 8 ciclos menstruais, enquanto as utilizadoras de dispositivos ($n = 717$)/sistemas ($n = 1.401$) intrauterinos ou implantes ($n = 186$) demonstraram um atraso inferior, de 2 ciclos. Os CHO ($n = 6.735$) e o anel vaginal ($n = 477$) associaram-se a um atraso concecional de 3 ciclos e os adesivos contraceptivos ($n = 76$) de 4 ciclos. Comparando o último método utilizado por cada mulher e a taxa de fecundabilidade, tendo como referência métodos de barreira, obtiveram valores próximos entre o uso de adesivo (1,02), de implante subcutâneo (1,03) e de SIU-LNG (1,14) e entre CHO (0,94) e anel vaginal (0,92), enquanto o uso de anticoncepcional injetável foi associado a uma fecundabilidade significativamente inferior (0,65). Comparando o SIU-LNG com o DIU, a fecundabilidade revelou ser ligeiramente superior no primeiro (1,18). Contudo, os investigadores inferiram que a utilização a longo prazo destes anticoncepcionais não parece prejudicar a fertilidade individual. Inclusivamente, a fecundabilidade aparenta ser mais satisfatória após o uso prolongado de CHO (≥ 4 -5 anos *versus* ≤ 2 anos).⁵⁸ Estes resultados foram consistentes com os de estudos prévios.⁶³⁻⁶⁵

No que concerne aos anticoncepcionais injetáveis, os resultados do estudo anterior são concordantes com evidências de outros estudos que inferiram um atraso três vezes superior ao

verificado para utilizadoras de métodos de barreira, de 4 a 10 meses.^{65, 66} Mansour *et al.* (2011), através de uma análise prospetiva de 17 artigos científicos publicados até setembro de 2009, reportaram que apenas 2 destes apresentaram taxas de gravidez relativas a utilizadoras de contraceptivos injetáveis, tendo revelado um valor de 51,6-78,2 % para mulheres que tinham cessado o uso dos mesmos 12 meses antes.⁶⁷

A maioria dos estudos sobre dispositivos/sistemas intrauterinos e fecundabilidade não concretizou uma análise por tipo de contraceptivo, segundo Yland *et al.* (2020).⁵⁸ Um ensaio randomizado, realizado em 1993, detetou uma taxa de gravidez ligeiramente superior em mulheres com SIU-LNG, em comparação com o DIU, contudo, a diferença não se revelou estatisticamente significativa.⁶⁸ Este achado foi corroborado por Mansour *et al.* (2011), tendo apurado uma taxa de gravidez, 12 meses após término do tratamento com SIU-LNG, de 79-96 % (sobreponível à das utilizadoras de CHO), enquanto as utilizadoras de DIU apresentaram uma taxa de gravidez de 71-91 %. Quanto ao atraso concecional, registaram um valor de 4 meses nas utilizadoras de SIU-LNG e 2-3,7 meses para utilizadoras de DIU.⁶⁷

Segundo Ahmaad *et al.* (2020, n = 20), o uso de implantes subcutâneos pode estar associado a um atraso concecional de 1-3 meses, tendo apurado um atraso estatisticamente significativo de 3,05 meses.⁶⁶ Mansour *et al.* (2011) reportaram um atraso concecional de 2,9-4,4 meses e uma taxa de gravidez, 12 meses após interrupção do uso de implantes anticoncepcionais, de 77-86 %, independentemente da composição dos mesmos.⁶⁷ Girum *et al.* (2018) revelaram uma taxa de 37,5-90 %, tendo feito a ressalva de que se o estudo que documenta a menor taxa concecional (37,5-48,8 %), relativo a mulheres indonésias, não for considerado, esta aumenta para um valor próximo do de restantes métodos (média de 83,1 %).⁵⁷ A mesma consideração foi registada por Mansour *et al.*⁶⁷

Embora esta recuperação biológica pareça ser aplicável à maioria das mulheres, cerca de 10 % das utilizadoras desenvolvem senescência ovárica prematura (9 % por insuficiência ovárica primária oculta, IOPO, e 1 % por IOP), condição esta que afeta negativamente a fertilidade individual. Caso seja identificado previamente o risco de desenvolver senescência ovárica prematura, essas mulheres poderão optar, atempadamente, por contraceptivos não hormonais e pelo seguimento médico regular, permitindo avaliações apropriadas da sua ROF.⁵⁶

4.3.2.2. Impacto da Contraceção Hormonal nos Marcadores de Reserva Ovária

Existindo uma *pool* de folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais que secretam AMH independentemente da secreção de FSH, o doseamento da AMH basal é passível de ser realizado em mulheres com gonadotrofinas suprimidas pelos contraceptivos hormonais.²⁵

Verifica-se que algumas mulheres com CFA diminuída, na sequência do uso prolongado de contraceptivos hormonais, podem apresentar um potencial ovário normal, contudo, a progressão para uma fase folicular antral pode estar comprometida. Assim, uma vez que os folículos antrais representam a porção de folículos suscetível à estimulação ovária induzida pelas gonadotrofinas, uma menor CFA pode estar associada a uma menor produção ovocitária.⁶⁹

A AMH e a CFA parecem ser igualmente influenciadas pela CHO.²³ Em concreto, vários estudos demonstraram uma redução de cerca de 30 % da AMH e da CFA e 50 % do volume ovário, apesar da variabilidade individual significativa.^{23, 25, 70, 71}

Num estudo envolvendo 909 mulheres com 19 a 46 anos, foram detetados níveis críticos de AMH (< 5 pmol/L) em 5 % das utilizadoras de CHO com idade < 30 anos. No entanto, a relação entre a dose de contraceptivo hormonal e os valores de AMH não foi estabelecida.²³

Por outro lado, uma análise sistemática de D'Arpe *et al.* (2016) revelou que utilizadoras de COC apresentam uma redução significativa no número de folículos antrais com > 6 mm e no volume ovário, enquanto o número de folículos com 2 a 6 mm parece não ser significativamente distinto.⁷² Estes achados estão em concordância com uma análise prospetiva realizada por Deb *et al.* (2012), que incluiu 38 utilizadoras de COC por um período ≥ 12 meses, e com um estudo retrospectivo de Bas-Lando *et al.* (2017), baseado na avaliação de 41 utilizadoras de contraceptivos hormonais durante ≥ 3 meses.^{73, 74}

Por sua vez, Amer *et al.* (2019) realizaram uma análise sistemática envolvendo 15 estudos focados no doseamento de AMH em 3.280 utilizadoras de diferentes contraceptivos hormonais. Os investigadores inferiram que esta foi a primeira meta-análise a investigar os MRO num elevado número de utilizadoras de contraceptivos hormonais. Verificou-se, de forma consistente, uma redução marcada da AMH circulante, da CFA e do volume ovário em utilizadoras de anticoncecionais hormonais. Em relação à CFA e ao volume ovário, 2 estudos de curta duração (2-3 semanas) demonstraram a ausência de discrepância na CFA, enquanto 1 estudo revelou uma redução no tamanho folicular e volume ovário; 2 estudos de média duração (2-6 meses)

demonstraram uma redução de ambos os parâmetros; quanto aos estudos de longa duração (> 1 ano), vários evidenciaram um declínio na CFA, havendo apenas diferenças nas conclusões relativas ao impacto no tamanho folicular, sendo que uns revelaram repercussões nos folículos de todas as dimensões, enquanto outros apuraram impacto restrito aos folículos de maiores dimensões; 2 desses estudos concluíram que uma descontinuação da contraceção resulta na recuperação da CFA e do volume ovárico. No que concerne à AMH, os estudos de curta e média duração não reportaram alterações em utilizadoras de contraceptivos hormonais combinados (CHC) durante 1-6 ciclos. Em contraste, 6 dos 7 estudos de longa duração revelaram um declínio acentuado da AMH, sendo que 3 desses (n = 1.324) evidenciaram a recuperação da AMH após descontinuação do contraceptivo. Concretamente, nas utilizadoras de longo prazo, a AMH parece sofrer uma diminuição entre 14 e 55 %. 1 estudo apurou uma associação linear inversa entre a duração da farmacoterapia e os MRO, enquanto outro reportou a ausência de efeito da duração da contraceção na magnitude do decréscimo de AMH, à exceção de mulheres com história de uso de contraceptivos hormonais durante ≥ 20 anos. Neste grupo de mulheres, coloca-se a hipótese do declínio na AMH ser resultado da supressão sustentada do eixo hipotálamo-hipófise-ovário por parte da contraceção hormonal. Amer *et al.* concluíram que a AMH não deve ser considerada um MRO fiável em mulheres com uso prolongado de contraceptivos hormonais, a não ser que sejam sujeitas a um período de descontinuação previamente ao doseamento.²⁷

Nesse sentido, um estudo realizado por Kucera *et al.* (2015), incluiu 149 mulheres com história de uso de contraceptivos hormonais durante ≥ 10 anos e, de forma a evitar um viés associado a potenciais efeitos reversíveis, a curto prazo, as mulheres estudadas tinham cessado o método contraceptivo pelo menos 1 ano antes. Este estudo revelou que, 12 meses após cessar a toma do contraceptivo hormonal, não há diferenças estatisticamente significativas ao nível dos valores de AMH sérica, quando comparadas mulheres com história de uso de contraceptivos hormonais durante 10 anos e mulheres que nunca recorreram a estes fármacos. Os investigadores concluíram, deste modo, que os contraceptivos hormonais não condicionam um impacto negativo nos níveis de AMH sérica, pelo que este biomarcador pode ser utilizado para fins de avaliação da reserva ovárica em mulheres com história prévia de uso prolongado desses fármacos, 1 ano após cessar a toma.²⁶

Van der Berg *et al.* (2010), através de um estudo envolvendo 25 utilizadoras de CHC, com uma idade média de 26 anos, concluíram que a interrupção dos CHC por 2 meses resultava num aumento médio da CFA de 4 folículos.⁷⁵ Em concordância, Landersoe *et al.* (2020), após um estudo prospetivo de 68 utilizadoras de COC durante 3-20 anos (média de 8 anos), verificaram um retorno da AMH e da CFA para valores normais, 2 meses após descontinuação.⁷⁶

Landersoe *et al.* (2020) realizaram um estudo que teve por base a análise da AMH e CFA em 1.548 utilizadoras de diferentes tipos de contraceptivos hormonais, com 19 a 46 anos (COC, n= 404; SIU-LNG, n = 90; POP, n = 55; anel vaginal, n = 16). Segundo se apurou, este foi apenas o segundo estudo que incluiu utilizadoras de contraceptivos unicamente progestativos. Os investigadores, além da redução na AMH de 31,1 % e na CFA de 31,3 % em utilizadoras de COC, verificaram alterações similares em utilizadoras de POP, em concreto, 35,6 % na AMH e 29,7 % na CFA, em comparação com o grupo de utilizadoras de contraceptivos não hormonais (n = 983). Nas utilizadoras de anel vaginal, não se observaram diferenças nesses MRO. Quanto a utilizadoras de SIU-LNG, observou-se uma redução de 17.1 % na AMH, no entanto, não se verificou uma diferença significativa na CFA. Adicionalmente, observaram-se níveis de AMH e CFA 20 % superiores nas utilizadoras de SIU-LNG, em relação a utilizadoras de COC. Por outro lado, verificou-se que todas as utilizadoras de contraceptivos, à exceção do grupo tratado com POP, exibiram uma maior proporção de folículos antrais com 2 a 4 mm, em comparação com o grupo de controlo, no qual essa população de folículos compunha 75 % da CFA. Em concreto, no grupo dos COC a percentagem de pequenos folículos era de 96 %, no grupo do anel vaginal era de 98 % e no grupo dos SIU-LNG era de 83 %. Relativamente ao volume ovário, apurou-se uma redução de 50 % apenas nos grupos utilizadores de contraceptivos combinados (COC e anel vaginal).⁵⁴

Em fevereiro de 2021, Bernardi *et al.* analisaram os níveis de AMH, com recurso a um ensaio imunoenzimático ultrassensível, em 1.693 mulheres afroamericanas com 23-35 anos, 460 das quais estavam sob tratamento com diferentes contraceptivos hormonais e 951 tinham história de uso prévio dos mesmos fármacos. Apuraram que o uso de COC, anel vaginal e contraceptivo injetável estava inversamente associado à concentração média de AMH (-24,0 %, -64,8 % e -26,7 %, respetivamente), independentemente da duração do tratamento e da dosagem do COC. Adicionalmente, verificou-se uma associação de níveis significativamente inferiores de AMH em utilizadoras de contraceptivo injetável durante ≥ 1 ano (-34,4 %). Pelo contrário, o SIU-LNG não se revelou significativamente associado a um menor valor da AMH, apesar de se ter observado uma tendência para níveis 13,8 % inferiores em utilizadoras durante ≥ 1 ano. Entre as mulheres com uso prévio destes anticoncecionais, os níveis de AMH aumentaram para o intervalo da normalidade ajustado à idade, 1 ano após o término dos fármacos, contudo, esta recuperação aparentou ser mais tardia em utilizadoras de anticoncecional injetável, em comparação com utilizadoras de COC.⁷⁷

Por sua vez, Petrie *et al.* (2011), realizaram dois ensaios clínicos em que 33 mulheres foram submetidas à toma de COC (20 µg EE + 100 µg levonorgestrel ou 30 µg EE + 150 µg levonorgestrel) e, subsequentemente, ao uso de anel vaginal (libertação diária de 15 µg EE + 120 µg etonogestrel), todos com um intervalo livre de hormonas de 7 dias. Os cientistas constataram que o anel vaginal

está associado a uma supressão folicular superior, em comparação com os COC, apesar da dose de EE inferior. Concretamente, foram identificados folículos de dimensões ≥ 8 mm em 61 % das utilizadoras de COC e 36 % das utilizadoras de anel vaginal. Quanto à espessura endometrial, os resultados foram sobreponíveis (média de $4,1 \text{ mm} \pm 1,4 \text{ mm}/1,6 \text{ mm}$, utilizando COC/anel vaginal). Contudo, a dose de COC não revelou estar correlacionada com o diâmetro folicular ou espessura endometrial e ressalva-se que 17 % das mulheres incluídas apresentavam uma toma de COC inconsistente. Assim, Petrie *et al.* concluíram que, entre as mulheres com um cumprimento irregular do anticoncepcional oral, o uso de anel vaginal será vantajoso.⁷⁸

Perante a supressão do eixo reprodutor feminino, na sequência do uso de contraceptivos hormonais, é necessária uma peculiar atenção na interpretação dos MRO destas mulheres, especialmente em utilizadoras de COC. Frequentemente, torna-se complicado distinguir uma verdadeira ROD de uma reserva ovárica diminuída pela contraceção hormonal. Tendo esta distinção um impacto relevante na abordagem clínica das mulheres que procuram aconselhamento reprodutivo, é fulcral o adequado diagnóstico diferencial. Destaca-se que uma verdadeira ROD pode associar-se a uma IOP e esta condição clínica poderá não ser identificada atempadamente mediante o uso prolongado de COC, sob risco da mulher entrar em menopausa numa fase precoce da sua vida.²⁵

Landersoe *et al.* (2020) realizaram um estudo multicêntrico, envolvendo 235 utilizadoras de COC, com o objetivo de avaliar se níveis de AMH reduzidos, secundariamente ao uso dos contraceptivos, estavam associados a menores concentrações de LH, FSH, E2 e androgénios, de forma a estabelecer uma ferramenta útil na diferenciação de níveis de AMH falsamente diminuídos de uma verdadeira ROD. No entanto, não obtiveram diferenças estatisticamente significativas nesta análise comparativa. Deste modo, os investigadores inferiram que será necessário suspender a toma dos COC durante 2-3 meses para reavaliar a sua hipótese. Esta análise assume especial importância nas mulheres que apresentaram níveis de AMH $<$ percentil 25 (expectável para a respetiva idade), uma vez que se verificou que mulheres com níveis normais de AMH, durante a contraceção, terão um valor igual ou até superior após cessar o tratamento. Ficou por explorar se mulheres com baixa AMH ajustada para a idade e forte supressão de gonadotrofinas terão um aumento superior dos níveis de AMH após descontinuação do fármaco, comparativamente às mulheres com menor supressão de gonadotrofinas. Isto permitirá concluir se uma AMH falsamente diminuída está relacionada com uma supressão excessiva das gonadotrofinas secundária à contraceção.²⁵

O facto de alguns estudos reportarem que a CHO não parece influenciar os MRO sugere que o tipo e dose de progestina incorporada irá afetar a maturação folicular de forma distinta, ou seja, o

impacto na ROF e na potencial produção de ovócitos será variável, de acordo com a formulação utilizada.³⁶

4.3.2.2.1. Avaliação da Reserva Ovária Funcional em Mulheres que pretendem utilizar Contracetivos Hormonais

Estando potencialmente comprometido o diagnóstico oportuno de distúrbios ovários em mulheres tratadas cronicamente com contracetivos hormonais, em que a avaliação precisa da ROF está dificultada, há cientistas a propor a realização de um rastreamento de risco para IOP em mulheres jovens, antes de iniciarem a contraceção hormonal.⁵⁶

Alguns investigadores defendem que o doseamento da AMH é suficiente para avaliar a ROF, com base nos intervalos de valores específicos para cada faixa etária.⁷⁹ Contudo, ressalva-se o impacto dos fatores ambientais neste MRO, nomeadamente, o IMC individual, pelo que a interpretação dos valores terá que ser cautelosa.⁵⁶ Apesar desta principal limitação, a AMH reflete a quantidade de folículos primordiais remanescentes, a qual se correlaciona com a longevidade da restante vida reprodutiva.⁸⁰

Neste contexto, os níveis de FSH específicos para a idade poderão auxiliar o estudo da ROF individual e, adicionalmente, foram identificadas mutações num gene, *FMR1* (*Fragile X Mental Retardation 1*), recentemente descritas como preditivas de envelhecimento ovário.⁵⁶ O gene *FMR1*, localizado no cromossoma X, parece exercer um controlo parcial sobre a reserva ovária, ao estar diretamente envolvido na regulação do recrutamento folicular.⁸¹⁻⁸³

Neste âmbito, Kushnir *et al.* (2014), apresentaram uma proposta de algoritmo de abordagem a mulheres jovens, previamente ao início da toma de contracetivos hormonais, procurando apurar a respetiva ROF, através do doseamento da AMH, FSH e estudo genético do *FMR1* (Figura 7). Em detalhe, mulheres identificadas com potencial risco de senescência ovária prematura, isto é, na presença de desvios do intervalo médio para a idade da AMH ou FSH, devem ser aconselhadas a não utilizar contracetivos hormonais a longo prazo, permitindo uma análise longitudinal dos valores de AMH e FSH até ao diagnóstico definitivo de IOPO ser confirmado ou excluído.⁵⁶ Concretamente, um aumento do desvio dos valores médios para a idade, ao longo do tempo, torna provável a IOPO e, segundo Barad *et al.* (2007) e Kelsey *et al.* (2011), consideram-se diagnósticos de IOPO níveis de AMH, FSH ou ambas fora dos limites normais para a idade, com um intervalo de confiança de 95 %.^{79,}

⁸⁴ Não obstante, atualmente não há ainda dados suficientes que favoreçam o recurso a este algoritmo, dado que, em populações de baixo risco, este rastreio terá uma quantidade importante

de falsos negativos e falsos positivos, sob risco de se assegurar falsamente a ausência de repercussões do adiamento da procriação natural ou serem instituídas intervenções inapropriadas. Assim, serão necessários estudos futuros que comprovem o seu benefício na prática médica.⁵⁶

4.3.3. Contraceção Hormonal Oral e Procriação Medicamente Assistida

4.3.3.1. Pré-Tratamento com Contracetivos Hormonais Orais em Protocolos de Estimulação Ovária Controlada

Com o crescente recurso, a nível mundial, a técnicas de PMA, especialmente à FIV, os contracetivos hormonais passaram a ser amplamente utilizados enquanto tratamento prévio à EOC (durante 12-28 dias), para a indução da ovulação.⁸⁵ O uso dos mesmos é vantajoso principalmente em mulheres com má resposta ovárica, nas quais um protocolo longo de agonista da GnRH parece ter um efeito supressor ovárico.³⁶ De facto, a CHO tem o potencial de controlar o início do ciclo menstrual através da supressão das gonadotrofinas, tendo-se tornado uma estratégia adotada durante o agendamento conveniente do ciclo, além, de proporcionar a redução da formação de quistos ováricos em mulheres submetidas a protocolos com agonista da GnRH.^{32, 36, 86} Nesse sentido, vários estudos sugeriram que a redução das gonadotrofinas circulantes permite otimizar a produção de ovócitos aquando da EOC, ao proporcionar a sincronização da foliculogénese.⁸⁷ Contrastando, um número crescente de estudos recentes tem reportado que a CHO prévia à estimulação ovárica pode comprometer o sucesso da gravidez clínica, após transferência de embriões a fresco.⁸⁸

Neste âmbito, Merviel *et al.* (2015) realizaram uma análise prospetiva envolvendo 440 mulheres consideradas más respondedoras (recuperação de < 4 ovócitos), após um primeiro ciclo de FIV mal sucedido, utilizando um protocolo longo de agonista da GnRH. Metade das mesmas integraram um protocolo de pré-tratamento com COC seguido de um ciclo curto de agonista da GnRH e as restantes um protocolo de antagonista da GnRH. Os investigadores verificaram que as taxas de implantação e gravidez em curso (desenvolvimento fetal com ≥ 12 semanas) não diferiram de forma significativa entre os dois grupos.⁸⁹ Achados concordantes foram obtidos por Al-Inany *et al.* (2016, n = 12.212).⁹⁰

Relativamente à recetividade endometrial, Bermejo *et al.* (2014) concluíram que, mediante uma administração do COC ao longo de um número restrito de dias, com um período de eliminação

semelhante ao do ciclo natural, o pré-tratamento pode não ter um efeito negativo sobre a mesma e o resultado da gravidez clínica pode ser comparável a outros protocolos.⁹¹

Por sua vez, Farquhar *et al.* (Cochrane Collaboration, 2017) realizaram uma meta-análise envolvendo 29 estudos randomizados controlados (n = 4.701), nos quais se realizou pré-tratamento com COC, progestagénios ou estrogénios, pré-tratamentos alternativos e protocolos sem pré-tratamento, com posterior EOC utilizando agonista ou antagonista da GnRH, em ciclos de FIV/ICSI. Constataram que, entre mulheres submetidas a estimulação com antagonistas da GnRH, o pré-tratamento com COC estava associado a menores taxas de nados vivos ou gravidez em curso, comparativamente aos protocolos sem pré-tratamento. Adicionalmente, verificaram que o pré-tratamento com progestagénios pode reduzir o risco de desenvolvimento de quistos ováricos em ciclos de agonista da GnRH e que os COC, em ciclos de antagonista da GnRH, podem reduzir o risco de perda de gravidez. Apesar da extensa análise e rigor na comparação dos dados, a qualidade da evidência revelou ser baixa a moderada, sendo que a principal limitação identificada consistiu na ausência de detalhe na descrição dos métodos utilizados na maioria dos estudos.⁸⁵

Em contraste, Xu *et al.* (2019) e Montoya-Botero *et al.* (2020), através de estudos retrospectivos, o primeiro envolvendo 5.609 ciclos de FIV com protocolo curto ou longo de agonista da GnRH e o segundo envolvendo 4.116 mulheres inférteis que iam realizar o seu primeiro ciclo de EOC usando antagonista da GnRH, demonstraram que mulheres integradas em protocolos com pré-tratamento com contraceptivos orais apresentavam uma taxa de nados vivos similar às mulheres sem pré-tratamento.^{92, 93}

Assim, é ainda controversa a utilização de CHO na pré-estimulação ovárica. Contudo, uma convicção transversal aos investigadores consiste na importância de se promover a sincronização e programação do ciclo para otimizar a FIV.⁸⁸

Em março de 2021, Lu *et al.* concretizaram um estudo que teve por objetivo a identificação de fatores preditivos de taxas de nados vivos satisfatórias, em ciclos de transferência de embriões a fresco após pré-tratamento com CHO, de forma a ser possível identificar, no futuro, boas candidatas a integrar este protocolo. Na sua análise, incluíram 814 mulheres com 20 a 35 anos, as quais foram submetidas a pré-tratamento com CHO e estimulação com agonista ou antagonista da GnRH. Os resultados indicaram que o pré-tratamento seguido da estimulação com antagonista da GnRH está associado a menor proporção de nados vivos, especialmente em mulheres com um espessamento endometrial < 9,5 mm no dia da administração da hCG, pelo que concluíram que deve ser ponderada a criopreservação dos embriões nesses casos.⁸⁸

As *guidelines* da ESHRE (2020) recomendam quer protocolos de antagonistas da GnRH, quer protocolos de agonistas da GnRH para más respondedoras. Indicam, adicionalmente, que o pré-tratamento com COC não está recomendado em protocolos de antagonista da GnRH, assim como o pré-tratamento com compostos estrogénicos em protocolos de antagonista da GnRH e compostos progestagénicos previamente à EOC.⁴¹ De salientar que uma toma de COC durante ≥ 30 dias pode suprimir a resposta ovárica à EOC, forçando a necessidade de aumentar a dose de gonadotrofinas a administrar e reduzindo o número de folículos recrutados, pelo que deve ser evitado.³²

4.3.3.2. Preservação da Fertilidade e Contraceção Hormonal

A preservação da fertilidade é cada vez mais uma preocupação de algumas mulheres, seja por motivos eletivos, seja por patologia do sistema reprodutor, a título de exemplo, a neoplasia do ovário.^{69, 94} A criopreservação de ovócitos ou embriões, nestes casos, deve ser encarada de forma distinta relativamente às mulheres que recorrem à consulta na sequência de várias tentativas de gravidez mal sucedidas, as quais, na maioria dos casos, já cessaram a toma de contraceptivos hormonais. De facto, a supressão do eixo hipotálamo-hipófise-ovário pode comprometer a colheita de ovócitos, uma vez que diminui o número de folículos passíveis de serem estimulados pela FSH.⁶⁹

Nesse sentido, Letourneau *et al.* (2017), no seguimento de um estudo longitudinal ($n = 743$), observaram que, entre as mulheres sob contraceptivos hormonais que pretendiam concretizar uma criopreservação eletiva, as que apresentavam uma CFA inferior ao esperado para a idade beneficiavam da suspensão dos contraceptivos alguns meses antes da estimulação ovárica, resultando numa CFA mais satisfatória e um potencial aumento da produção de ovócitos. Em concreto, demonstraram que a reversibilidade da supressão da CFA atinge um máximo 6 a 7 meses após a suspensão farmacológica, com um aumento médio de 6 folículos. Perante os resultados obtidos, os valores de referência apurados para uma vantagem na suspensão farmacológica foram: CFA < 21 em mulheres com < 30 anos, < 15 em mulheres com 31-35 anos, < 13 em mulheres com 36-40 anos e < 6 em mulheres com ≥ 41 anos. Dado que algumas mulheres apresentam uma recuperação ovárica mais cedo, é aconselhado repetir o estudo ecográfico a cada 1-2 meses, sendo que, caso a CFA aumente para pelo menos a mediana esperada para a idade ou se atinja um plateau após 3 medições, pode ser iniciada a EOC.⁶⁹ Dadas as evidências do sucesso na gravidez perante a criopreservação de 8 a 10 ovócitos, depreende-se que será benéfico aguardar pelo potencial máximo de ovócitos para se proceder à preservação da fertilidade feminina.⁹⁵

Em conformidade, um estudo retrospectivo realizado por Barad *et al.* (2013), envolvendo 43 dadoras de ovócitos, com $24,2 \pm 4,0$ anos, e 71 ciclos de FIV (em 25 dos quais, as mulheres estavam sob contraceptivos hormonais no mês anterior ao ciclo), revelou que uma alta exposição androgénica parece suprimir a ROF e, consequentemente, a produção de ovócitos. Assim, os investigadores concluíram que o uso de CHO previamente à FIV, especialmente uma formulação com progestina fortemente androgénica, tem o potencial de reduzir a resposta à EOC, resultando num número de ovócitos obtidos inferior ao expectável. Este dado assume especial importância no acompanhamento de mulheres com várias tentativas de gravidez mal sucedidas, as quais provavelmente terão uma ROF inferior à das dadoras de ovócitos.³⁶

5. DISCUSSÃO

Entre a vida fetal e a puberdade, ocorre a ativação folicular, em que numerosos folículos primordiais avançam para estádios mais avançados do seu desenvolvimento. Este evento, aliado aos processos de atresia folicular e, a partir da puberdade, ao recrutamento folicular cíclico e maturação, levam a uma redução substancial da *pool* primordial, ao longo da vida reprodutiva feminina.¹⁻³

A AMH, produzida pelos folículos em crescimento, tem como função a inibição do recrutamento folicular precoce e da seleção dos folículos ativados. Deste modo, contribui amplamente para a conservação da reserva ovárica.^{4, 13, 21, 25}

No estudo da fertilidade feminina, a ROF (quantidade de folículos ativados passíveis de serem recrutados pela FSH) aparenta ser o parâmetro de maior relevo.¹² Segundo os critérios POSEIDON (2016), um valor de AMH sérica $\geq 1,2$ ng/mL e uma CFA ≥ 5 refletem a ROF normal.³⁹ Segundo Tal *et al.* (2017), deve considerar-se como valor de referência o LIN da AMH, por intervalos de 5 anos, isto é, 3,0 ng/mL aos 25 anos; 2,5 ng/mL aos 30; 1,5 ng/mL aos 35; 1,0 ng/mL aos 40 e 0,5 ng/mL aos 45 anos.⁴

Contrariamente à vertente quantitativa da reserva ovárica, a qualitativa não se encontra necessariamente relacionada com o número de folículos antrais ou com os níveis séricos de AMH.⁴⁰

⁴⁰ Assim, apesar dos métodos quantitativos poderem ser influenciados por fatores endógenos e exógenos, na prática clínica estes tornam-se mais fidedignos.

Por sua vez, a ROD é uma condição fisiopatológica com impacto negativo sobre a fertilidade individual e, no âmbito da PMA, associa-se a uma maior probabilidade da mulher desenvolver uma má resposta ovárica à EOC.¹⁷ A definição clínica deste conceito não é ainda universal, o que constitui uma adversidade na interpretação dos resultados dos estudos científicos publicados.

A avaliação prévia ao tratamento da subfertilidade, recorrendo aos MRO, além de revelar a ROF individual, permite averiguar a probabilidade de uma mulher vir a desenvolver uma má resposta ovárica.^{3,4} Contudo, é de extrema importância salientar que os TRO apresentam algumas limitações, nomeadamente, o facto de não permitirem prever a probabilidade de sucesso de gravidez clínica, uma vez que não se relacionam com a qualidade ovocitária, pelo que não devem ser o fator decisivo para negar a possibilidade de determinado casal integrar um tratamento de PMA.

Os critérios de Bolonha permitem identificar uma resposta ovárica à EOC verdadeiramente reduzida, caso estejam presentes ≥ 2 : idade materna ≥ 40 anos, história prévia de má resposta ovárica (≤ 3 ovócitos obtidos) e/ou um MRO anormal (AMH $< 1,2$ ng/mL ou CFA < 5).^{3,39} Consta-se

que estes critérios agrupam a população de mulheres com uma má resposta ovárica sem ter em consideração a heterogeneidade deste grupo e o impacto diferencial da idade na qualidade ovocitária. No entanto, enalte-se a importância dos mesmos, uma vez que foram os primeiros a definir parâmetros claros para identificar más respondedoras.

Durante o protocolo de estimulação, os MRO permitem inferir acerca da probabilidade de resposta individual e, dessa forma, maximizar a possibilidade de gravidez, reduzir a taxa de cancelamento de ciclo e o impacto psicológico e ainda tentar eliminar efeitos iatrogénicos da terapêutica instituída. Apesar da AMH parecer ser o marcador mais precoce e sensível, a ESHRE recomenda tanto a utilização desta quanto da CFA.^{4, 13, 41, 46}

Não havendo ainda um consenso global quanto ao valor de AMH e/ou CFA a partir do qual se pode considerar uma elevada probabilidade de má resposta ovárica, deve ter-se como referência um valor obtido através de um estudo científico que reflita, tanto quanto possível, o cenário clínico, incluindo o tipo de ensaio de AMH utilizado (DSM, IBC ou Gen II).

Através de um processo de construção de um consenso validado, La Marca *et al.* (2016) reportaram que o risco de má resposta ovárica é significativo perante uma AMH < 1 ng/mL ou uma CFA < 7.⁴⁶ Os critérios POSEIDON (2016) vieram otimizar a estratificação do baixo prognóstico reprodutivo feminino, de acordo com a heterogeneidade biológica e clínica das mulheres consideradas más respondedoras.³⁹ Concretamente, tendo por base a idade (< ou ≥ 35 anos), os MRO pré-estimulação e a resposta ovárica, definiram quatro perfis prognósticos. De facto, a literatura reporta, de forma consensual, que aos 35 anos ocorrem mudanças biológicas não só a nível da quantidade, como também a nível da qualidade dos ovócitos de cada mulher.^{47, 48} Deste modo, estes critérios têm em consideração a importância da qualidade ovocitária neste âmbito e proporcionam uma categorização mais homogénea, pelo que uma abordagem clínica que os inclua será promissora. Em paralelo, estudos futuros que integrem os critérios POSEIDON, na tentativa de explorar diferentes estratégias terapêuticas aquando dos protocolos de PMA, poderão ser vantajosos e contribuir para uma abordagem mais adequada para mulheres consideradas más respondedoras.

Sendo um dos principais determinantes prognósticos reprodutivos a escolha do protocolo de estimulação, torna-se benéfico apurar o potencial ovárico individual.^{33, 36} Para tal, foram definidos parâmetros capazes de refletir a dinâmica do desenvolvimento folicular, em resposta às gonadotrofinas exógenas: o FOI, a FORT e o OSI.⁴⁹ Chen *et al.* (2020), evidenciaram que mulheres com ≥ 35 anos (grupos POSEIDON 2 e 4) apresentaram uma menor sensibilidade ovárica, principalmente as pertencentes ao grupo POSEIDON 2.⁴⁴ Este resultado poderá estar relacionado

com o facto de mulheres de idade superior terem uma função mitocondrial menos eficaz e maior taxa de apoptose das células da granulosa, quando comparadas com mulheres mais novas. Adicionalmente, a menor sensibilidade ovárica verificada para o grupo POSEIDON 2 reflete a eventual necessidade de se desenvolverem estratégias, a integrar nos protocolos de EOC, que permitam melhorar a qualidade ovocitária. O facto do OSI estar significativamente correlacionado com os principais MRO, ser um preditor independente de gravidez clínica, além da própria consistência interciclos (ainda que o protocolo de EOC utilizado seja distinto), sugere que este constituirá um fator de elevada utilidade clínica na previsão dos resultados da PMA.

No que concerne ao impacto dos contraceptivos hormonais na probabilidade de gravidez futura, estes parecem não assumir um impacto negativo, quando utilizados a longo prazo.^{56, 57} Curiosamente, a utilização de CHO ao longo de $\geq 4-5$ anos parece estar associada a uma fecundabilidade superior, em comparação com um uso ≤ 2 anos.^{58, 60, 61}

A curto prazo, os contraceptivos hormonais estão associados a um atraso concecional de cerca de 3 meses, após interrupção do respetivo uso, à exceção dos anticoncepcionais injetáveis, que parecem condicionar um atraso superior, de 4-10 meses.^{58, 59, 65, 66} Contudo, 12 meses após cessar o contraceptivo hormonal, o impacto na fertilidade aparenta ser extremamente reduzido.⁵⁷ A dose de EE e o tipo e composição de progestina utilizada não parecem exercer um impacto diferencial sobre as taxas de gravidez, 12 meses após a interrupção do fármaco.^{62, 67} Não obstante, as taxas de gravidez documentadas pelos diferentes artigos científicos não poderão ser diretamente comparadas, dada a heterogeneidade das amostras estudadas.

Apesar dos CHO terem um tempo de semivida curto, os respetivos efeitos podem persistir algum tempo após a interrupção da sua toma.⁵⁸ Com isto, a fecundabilidade mais satisfatória após o uso prolongado de CHO poderá ser fruto da inibição continuada do desenvolvimento folicular e da ovulação e de uma possível taxa de atresia inferior, processos estes que contribuirão, eventualmente, para a manutenção da reserva ovária.

Especialmente os contraceptivos combinados, quando utilizados durante um período ≥ 3 meses, condicionam uma supressão significativa das gonadotrofinas e, assim, do desenvolvimento folicular e da ovulação. Adicionalmente, levam à atenuação da resposta hipofisária à GnRH.⁶⁹ Por sua vez, os POP, o implante subcutâneo e o anticoncepcional injetável apresentam a capacidade de inibir a ovulação, dado o efeito supressor da progestina sobre a síntese hipofisária de LH.^{72, 96, 97} Deste modo, a fecundabilidade semelhante entre utilizadoras dos diferentes contraceptivos poderá resultar da similaridade do mecanismo de ação dessas formulações.

Relativamente aos contraceptivos injetáveis, contêm doses de progestina superiores, uma vez que se pretende uma manutenção da respetiva eficácia ao longo de ≥ 90 dias. O acetato de medroxiprogesterona (150 mg), composto mais comumente utilizado a nível global, e o único utilizado em Portugal, apresenta uma semivida de, aproximadamente, 50 dias.^{55, 98} Assim, o maior atraso concecional associado a este método, bem como a fecundabilidade inferior, serão concordantes com a farmacocinética prevista para esta formulação.

Ao contrário dos restantes anticoncepcionais, a principal ação dos SIU-LNG consiste na criação de um ambiente espermicida que suprime a fertilização e implantação, apresentando um efeito parcial sobre a ovulação, consoante a dosagem de progestina.⁹⁹ Este poderá ser o motivo pelo facto de ter sido um dos métodos associado a um menor atraso concecional (2 meses) no estudo de Yland *et al.* (2020). Contudo, teria sido importante averiguar a dosagem de progestina contida no SIU-LNG utilizado por cada mulher, procurando apurar se diferentes dosagens estarão associadas a um impacto diferencial sobre a conceção. De salientar que o facto da porção de utilizadoras de contraceptivos injetáveis, adesivos anticoncepcionais e implantes contraceptivos ser reduzida (0,52 %, 0,42 % e 1,04 %, respetivamente), poderá ter influenciado os resultados obtidos.

Quanto aos MRO, os CHO parecem influenciar de igual forma a AMH e a CFA, levando a uma redução dos mesmos de cerca de 30 %, enquanto a redução do volume ovárico atinge os 50 %.²³ Em relação ao anel vaginal e ao contraceptivo injetável, um ensaio imunoenzimático ultrasensível (2021) revelou uma diminuição da AMH de 64,8 % e 26,7 %, respetivamente, aumentando esta última percentagem para 34,4 % em utilizadoras de contraceptivo injetável ao longo de ≥ 12 meses. Em utilizadoras de COC, esta redução foi de 24,0 %. Por sua vez, os SIU-LNG não revelaram estar significativamente associados a um menor valor de AMH, apesar de ter sido documentada uma tendência para níveis 13,8 % inferiores mediante uma utilização ao longo de ≥ 12 meses.⁷⁷ De salientar que este estudo foi conduzido numa população de mulheres afroamericanas, pelo que os resultados poderão não ser diretamente extrapolados para a população em geral, dada a provável interferência da etnia e raça nos níveis de AMH.

Alguns investigadores demonstraram que o doseamento da AMH sérica pode ser efetuado para fins de avaliação da reserva ovárica em utilizadoras de contraceptivos hormonais, desde que tenham interrompido o uso dos mesmos pelo menos 12 meses antes. Contudo, destaca-se o atraso na recuperação dos níveis de AMH em utilizadoras de anticoncepcional injetável ao longo de ≥ 12 meses.^{27, 76, 77}

Landersoe *et al.* (2020) constataram que os COC e o anel vaginal, contrariamente aos POP, parecem condicionar um aumento da proporção da população antral com < 4 mm, a par de uma

redução do volume ovárico.⁵³ A diminuição da quantidade total de folículos antrais, a maior proporção de folículos de menores dimensões, o menor número de células da granulosa produtoras de AMH e a supressão da FSH constituem aspetos que permitem explicar os menores níveis de AMH verificados. A menor proporção de folículos de maiores dimensões também poderá justificar a redução acentuada do volume ovárico, além da ausência de um folículo pré-ovulatório.

Salienta-se que na Dinamarca, onde o estudo anterior decorreu, a formulação de POP utilizada contém 0,35 mg de noretisterona, a qual inibe apenas parcialmente a ovulação, o eixo hipotálamo-hipófise e a produção de E2, o que poderá justificar o facto dos POP não terem revelado um efeito diferencial sobre as populações foliculares.⁵³

O projeto de Petrie *et al.* (2011) demonstrou que o anel vaginal está associado a uma supressão folicular superior à observada para os COC, apesar da dose de EE inferior. O anel vaginal utilizado era composto por etonorgestrel, enquanto os COC continham levonorgestrel. Assim, o tempo de semivida superior do primeiro, de 30 horas *versus* 17 horas, será um dos fatores responsáveis pela maior supressão folicular.⁷⁸ Estes dados poderão explicar, em adição, o facto do anel vaginal provocar uma redução da AMH 2,7 vezes superior à diminuição provocada pelos COC. É de salientar que esta análise comparativa foi inovadora, uma vez que o mesmo grupo de mulheres foi submetido ao tratamento com os dois tipos de contraceptivos hormonais, de forma a eliminar um potencial viés inerente às características endógenas individuais.

A dosagem de progestina superior dos contraceptivos injetáveis, em comparação com os COC, também poderá ser o motivo pelo qual os primeiros condicionam uma maior redução dos níveis de AMH, em relação aos segundos. Adicionalmente, a inibição folicular continuada e o tempo de semivida da progestina poderão justificar o atraso na recuperação da produção hormonal em relação aos restantes contraceptivos hormonais, até que a biodisponibilidade das hormonas exógenas seja completamente eliminada.

Perante a análise dos 103 artigos selecionados para a presente revisão bibliográfica, foi possível constatar que os contraceptivos hormonais atualmente disponíveis poderão ser utilizados de forma prolongada, sem repercussões preponderantes na vida reprodutiva do casal. De facto, a subfertilidade individual aparenta ser maioritariamente influenciada pela idade materna, entre outros fatores endógenos, e não pelo uso continuado destes fármacos. A exceção será reservada para o pequeno grupo de mulheres que desenvolve senescência ovárica prematura, contudo, os mecanismos inerentes a este processo fisiopatológico não se encontram ainda esclarecidos.

Ao longo desta análise, verificou-se que parte dos resultados obtidos nos diferentes estudos pode ter sido enviesada por uma eventual subfertilidade não diagnosticada, entre as mulheres

incluídas. Adicionalmente, parte destes não discriminaram as dosagens utilizadas, o que torna a interpretação dos resultados complexa e, possivelmente, errónea. Como provável fruto destas limitações, há ainda informações contraditórias quanto ao impacto dos diferentes tipos de contraceptivos hormonais na fertilidade individual.

No futuro, seria importante a realização de uma análise prospetiva envolvendo os diferentes contraceptivos hormonais, instituídos de forma aleatória numa amostra de mulheres. Estas deveriam ser jovens, ter uma ROF conhecida e ausência de história de uso de qualquer contraceptivo hormonal ou de DIU nos 12-24 meses prévios ao início do estudo. O cumprimento dos contraceptivos deveria decorrer ao longo de um período devidamente estipulado, com posterior descontinuação, seguindo-se as tentativas de gravidez. Assim, este estudo teria potencial para fornecer dados mais fidedignos para a determinação das taxas de gravidez e atrasos concepcionais, minimizando eventuais fatores confundidores.

6. CONCLUSÃO

No estudo da fertilidade individual, o parâmetro de maior relevo consiste na ROF, isto é, a população de folículos pré-ativados passível de ser recrutada pela FSH. Para a avaliação da mesma, recorre-se a dois MRO, a AMH e a CFA. Procede-se à análise dos mesmos, aquando da PMA, para prever a probabilidade de uma mulher vir a desenvolver uma má resposta ovárica, com o fim de otimizar as condições terapêuticas e, assim, o sucesso da gravidez clínica. Postula-se que os MRO sejam influenciados por fatores endógenos e exógenos, nomeadamente, o uso prolongado de contraceptivos hormonais. No entanto, estudos recentes reportaram que esses fármacos não condicionam um impacto negativo sobre a fertilidade individual, apesar de estarem associados a um atraso concepcional, a curto prazo.

Apêndice: Tabelas

Tabela I. Heterogeneidade de critérios utilizados para definir Reserva Ovária Diminuída. Baseado num estudo de Cohen *et al.* (2015).¹⁸

Critérios utilizados para definir Reserva Ovária Diminuída
○ AMH < 1 ng/mL ou FSH sérica > 15 IU/L e CFA basal < 4 no dia 2 do ciclo menstrual; ○ CFA basal < 5 ou AMH < 1,1 ng/mL e uma má resposta ovária à EOC prévia; ○ FSH > 12 mIU/mL no dia 3 e CFA basal ≤ 3; ○ CFA basal < 6 por ovário; ○ FSH > 10 IU/L no dia 3 ou FSH/LH > 3 ou CFA basal < 5 ou má resposta ovária prévia; ○ FSH ≥ 12 IU/L no dia 3 e CFA basal ≥ 5; ○ CFA ≤ 10 e AMH ≤ 0,7 ng/mL; ○ FSH basal > 10 IU/L; ○ no dia 2 ou 3 do ciclo, FSH > 7,0 mIU/mL para mulheres com menos de 33 anos, > 7,9 entre os 33 e os 37 anos, > 8,4 entre os 38 e os 40 anos ou, para mulheres com menos de 40 anos, AMH < 0,8 ng/mL; ○ FSH basal > 10 IU/L ou rácio FSH/LH > 3; ○ FSH > 9,9 IU/L ou E2 > 74,9 pg/mL ou obtenção de < 7 ovócitos ou < 4 embriões num ciclo prévio.

AMH - Hormona Anti-Mülleriana; CFA - Contagem de Folículos Antrais; E2 – Estradiol; EOC – Estimulação Ovária Controlada; FSH – Hormona Foliculoestimulante; LH – Hormona Luteinizante.

Tabela II. Classificação *Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number*.

Categorização	Má resposta ovárica não expectável		Má resposta ovárica expectável	
MRO	AMH $\geq 1,2$ ng/mL e CFA ≥ 5		AMH $< 1,2$ ng/mL ou CFA < 5	
Grupo POSEIDON	1	2	3	4
Idade	< 35 anos	≥ 35 anos	< 35 anos	≥ 35 anos

AMH - Hormona Anti-Mülleriana; CFA - Contagem de Folículos Antrais; MRO - Marcadores de Reserva Ovárica; POSEIDON - *Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number*.

Apêndice: Figuras

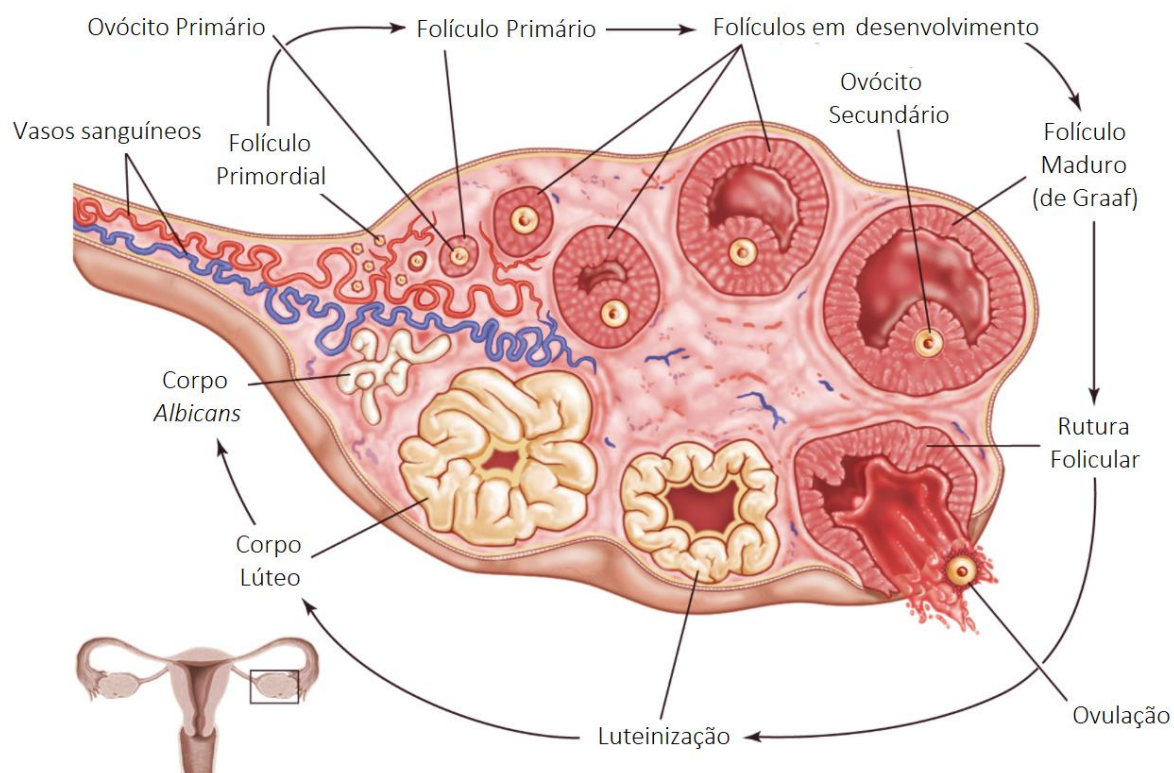
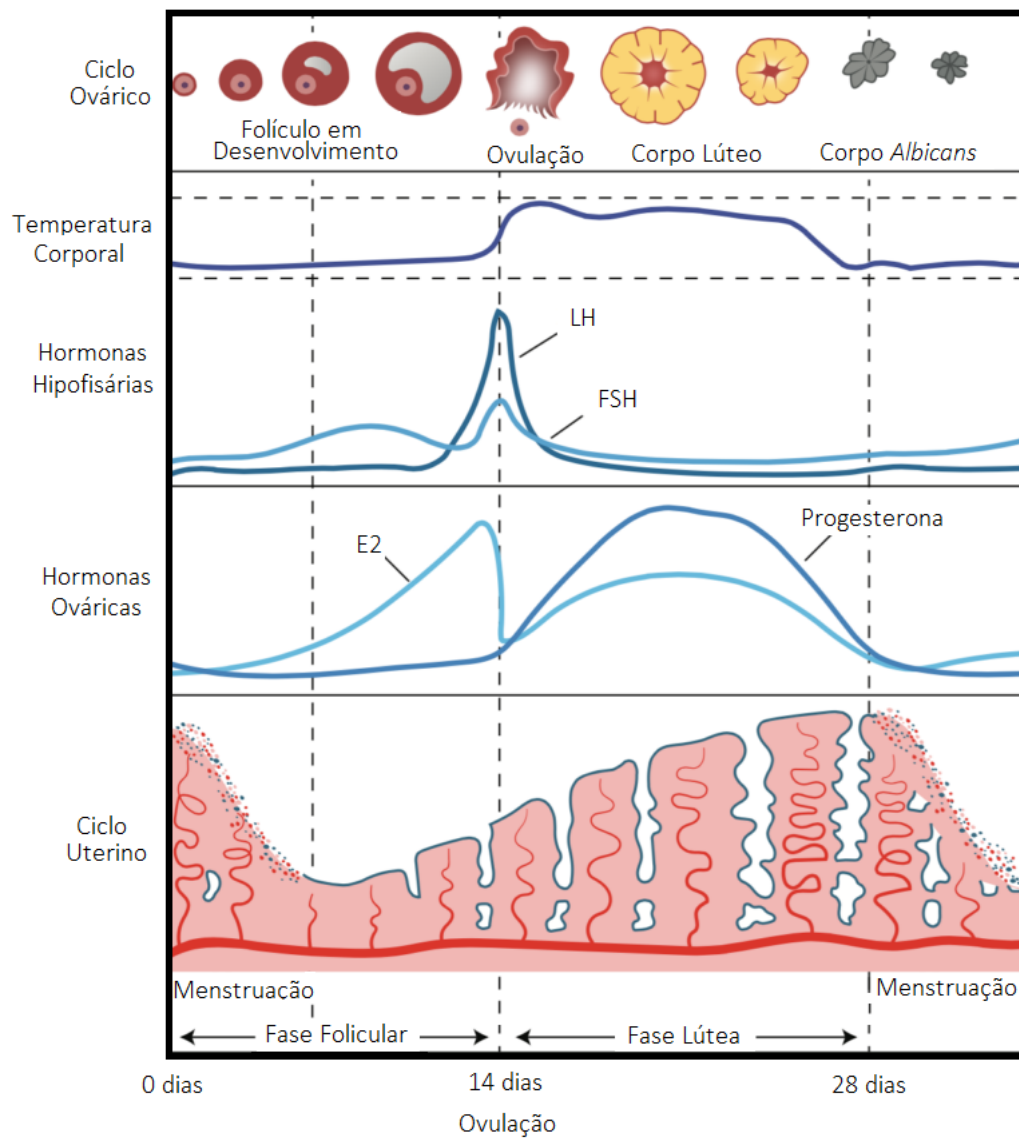


Figura 1. Foliculogênese: Folículo Primordial, Folículo Primário e Ovócito Primário, Folículos em desenvolvimento, Folículo Maduro e Ovócito Secundário, Ovulação, Luteinização, Corpo Lúteo e Corpo Albicans. Adaptado.¹⁰⁰



E2 - Estradiol; FSH - Hormona Folículo-Estimulante; LH - Hormona Luteinizante

Figura 2. Ciclo Menstrual: Dinâmica das Hormonas Hipofisárias e das Hormonas Ováricas. Adaptado.¹⁰¹

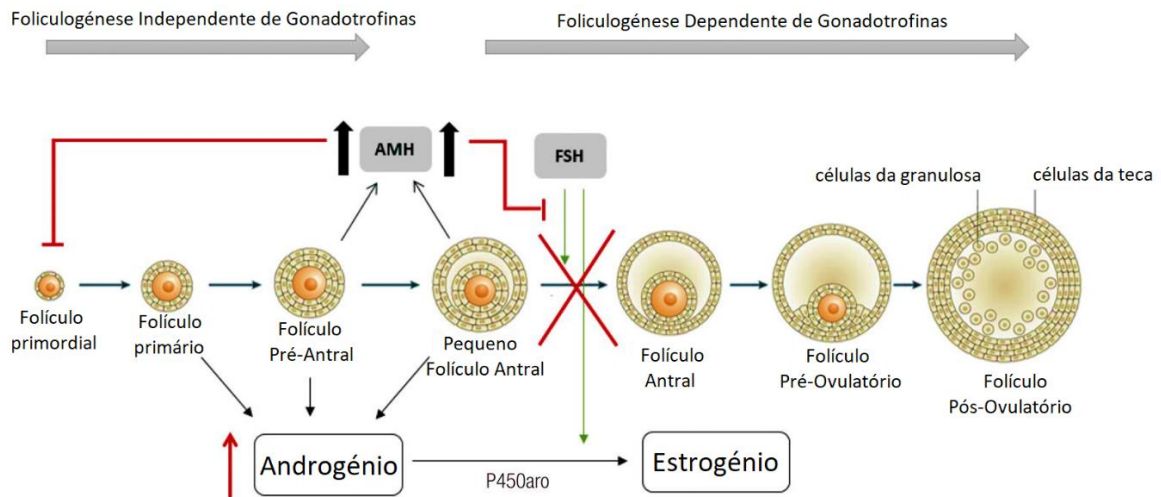
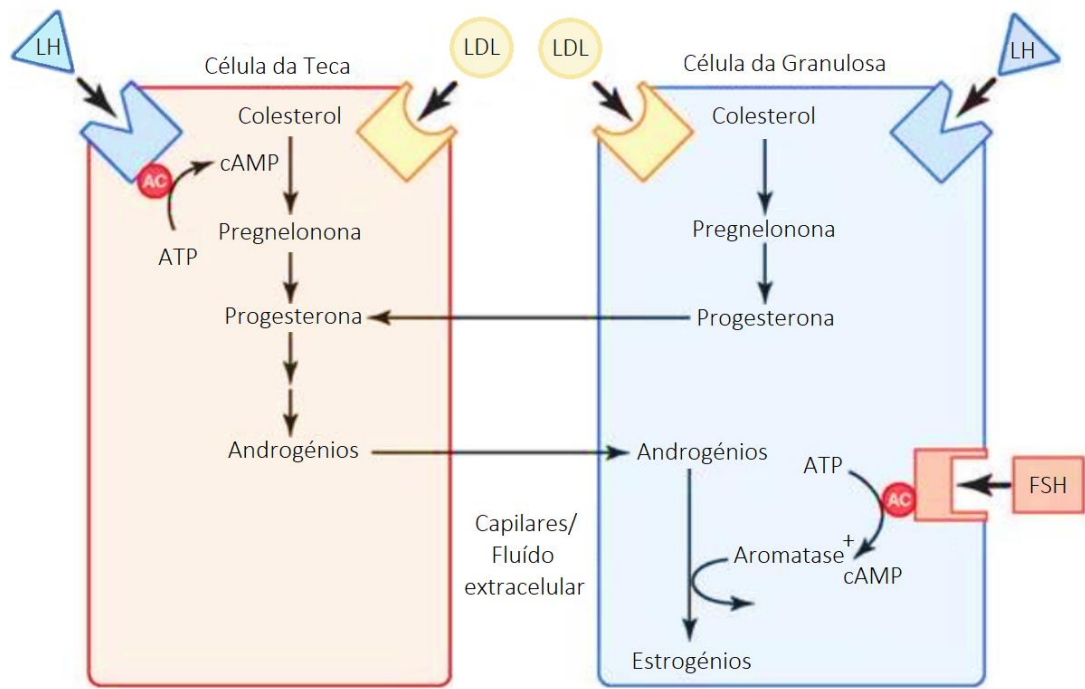
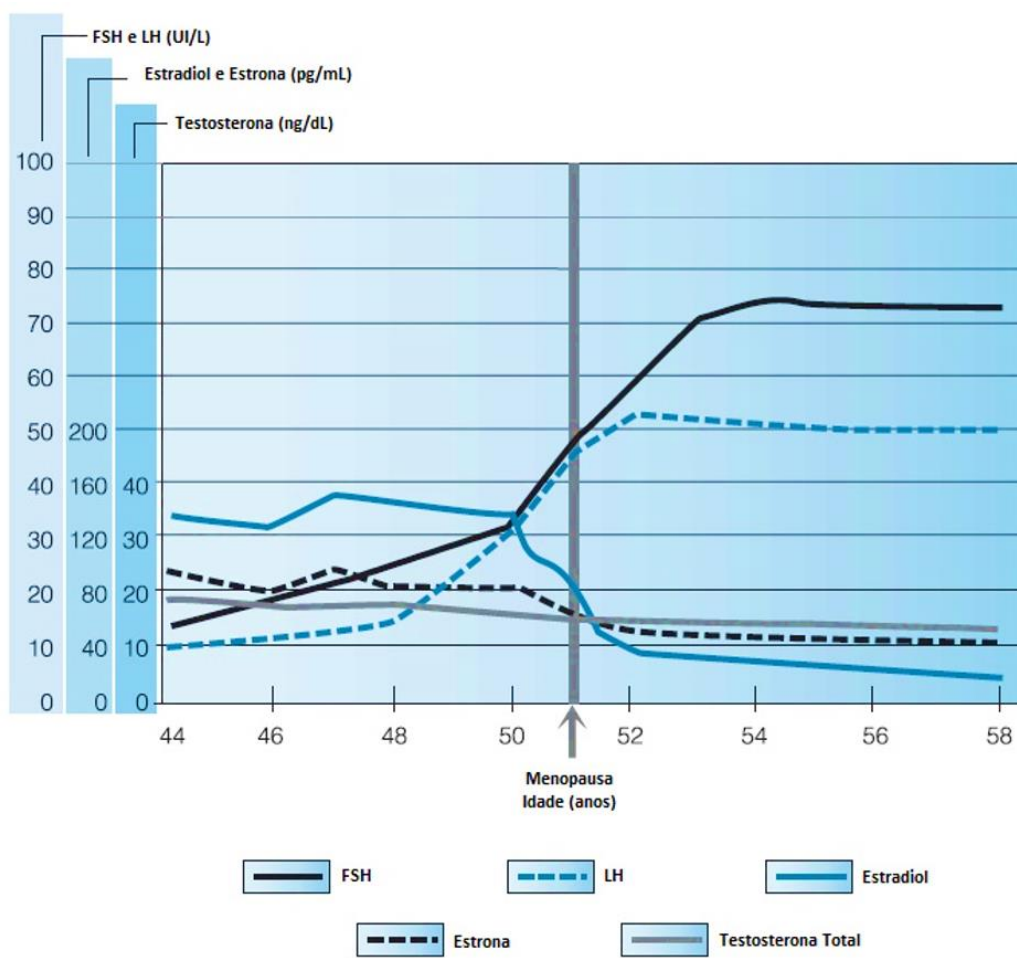


Figura 3. Impacto da Hormona Anti-Mülleriana (AMH) na Foliculogénese: efeito inibitório no recrutamento inicial de Foliculos Primordiais, na maturação folicular dependente da Hormona Foliculo-Estimulante (FSH), na seleção do foliculo dominante e na expressão de aromatase induzida pela FSH nas células da granulosa. Adaptado de Azziz and cols (2016).¹⁰²



cAMP - Adenosina 3',5'-Monofosfato Cíclico; ATP - Adenosina Trifosfato; FSH - Hormona Foliculo-Estimulante;
LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade; LH - Hormona Luteinizante

Figura 4. Síntese Folicular de Estrogénios. Adaptado.¹⁰³



FSH - Hormona Folículo-Estimulante; LH - Hormona Luteinizante

Figura 5. Alterações Hormonais na Menopausa.¹⁶

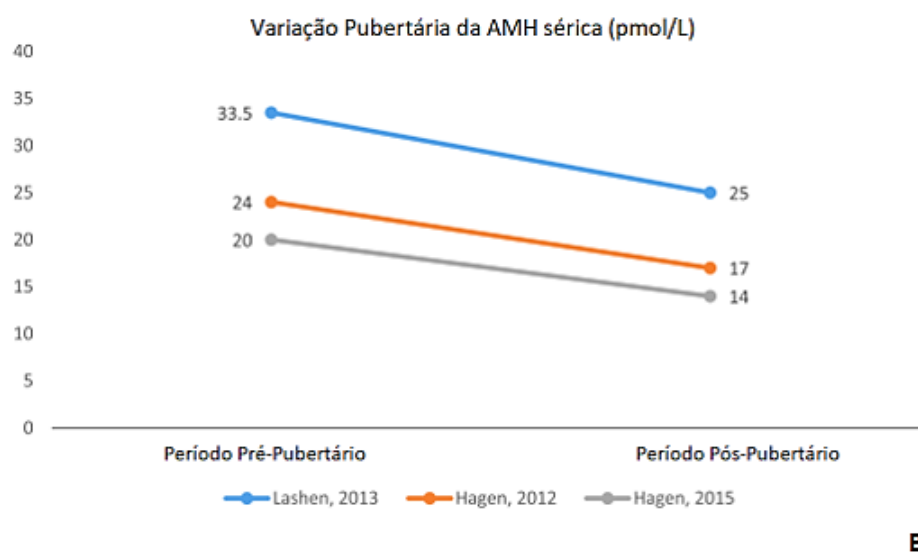
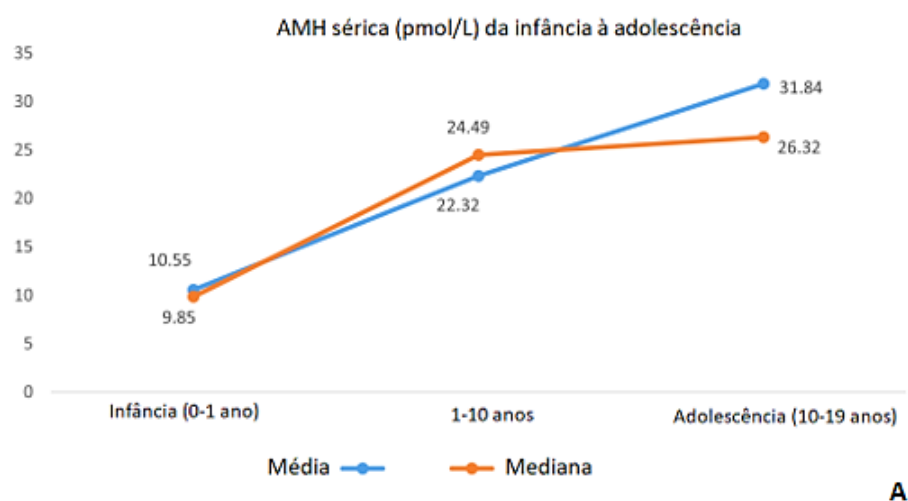
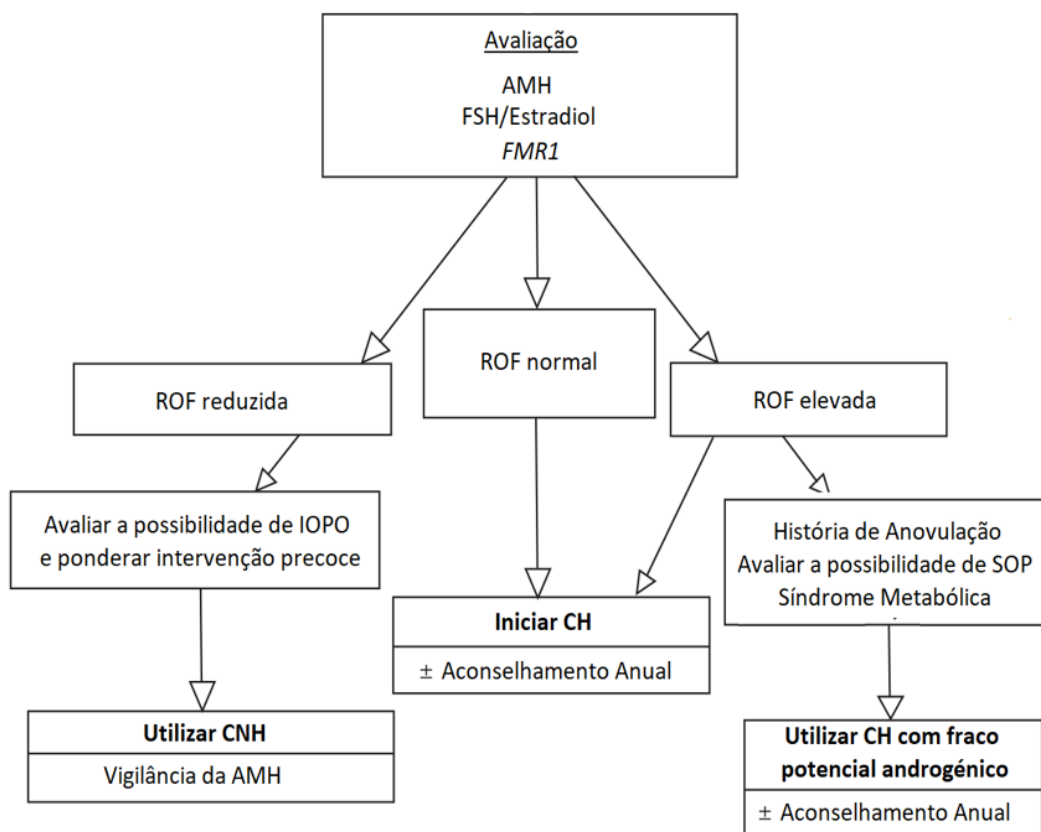


Figura 6. Variação da AMH sérica entre a Infância e a Adolescência [A] e entre o Período Pré-Pubertário e o Pós-Pubertário [B]. Baseado numa análise sistemática. Adaptado.¹²



AMH - Hormona Anti-Mülleriana; CH - Contraceção Hormonal; CNH - Contraceção Não Hormonal; FSH - Hormona Folículo-Estimulante; IOPO - Insuficiência Ovárica Primária Oculta; ROF - Reserva Ovárica Funcional; SOP - Síndrome do Ovário Poliquístico

Figura 7. Proposta de Kushnir *et al.* (2014) para a abordagem prévia de mulheres jovens que pretendam iniciar a toma de contraceptivos hormonais, procurando apurar a respetiva Reserva Ovárica Funcional. Adaptado.⁵⁶

Referências Bibliográficas

1. Santos T. Fisiologia do ovário e da Fecundação. *Oliveira CF. Manual de Ginecologia*. 2011.
2. Reed BG, Carr BR. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Singer F, Stratakis CA, Trencle DL, Wilson DP, eds. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc. Copyright © 2000-2021, MDTText.com, Inc.; 2000.
3. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertility and sterility*. 2015;103(3):e9-e17.
4. Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(2):129-140.
5. May-Panloup P, Boucret L, Chao de la Barca JM, et al. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles. *Hum Reprod Update*. 2016;22(6):725-743.
6. Edson MA, Nagaraja AK, Matzuk MM. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev*. 2009;30(6):624-712.
7. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum Reprod Update*. 2012;18(1):73-91.
8. 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 Steril*. 2008;90(3):737-743.
9. Hampson E. A brief guide to the menstrual cycle and oral contraceptive use for researchers in behavioral endocrinology. *Horm Behav*. 2020;119:104655.
10. Bhandari HM, Choudhary MK, Stewart JA. An overview of assisted reproductive technology procedures. *The Obstetrician & Gynaecologist*. 2018;20(3):167-176.
11. Tal R, Seifer DB. Potential mechanisms for racial and ethnic differences in antimüllerian hormone and ovarian reserve. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:818912.
12. Bhide P, Pundir J, Homburg R, Acharya G. Biomarkers of ovarian reserve in childhood and adolescence: A systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(5):563-572.
13. Jamil Z, Fatima SS, Ahmed K, Malik R. Anti-Mullerian Hormone: Above and Beyond Conventional Ovarian Reserve Markers. *Dis Markers*. 2016;2016:5246217.
14. Ata B, Seyhan A, Seli E. Diminished ovarian reserve versus ovarian aging: overlaps and differences. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2019;31(3):139-147.
15. Tesarik J, Galán-Lázaro M, Mendoza-Tesarik R. Ovarian Aging: Molecular Mechanisms and Medical Management. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(3):1371.
16. Reed SD, Sutton EL. VIII MENOPAUSE. *ACP Medicine*. 2011.
17. Jirge PR. Ovarian reserve tests. *J Hum Reprod Sci*. 2011;4(3):108-113.
18. Cohen J, Chabbert-Buffet N, Darai E. Diminished ovarian reserve, premature ovarian failure, poor ovarian responder--a plea for universal definitions. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(12):1709-1712.
19. Cox L, Liu JH. Primary ovarian insufficiency: an update. *Int J Womens Health*. 2014;6:235-243.
20. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, et al. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod*. 2013;19(8):519-527.
21. Pankhurst MW. A putative role for anti-Müllerian hormone (AMH) in optimising ovarian reserve expenditure. *J Endocrinol*. 2017;233(1):R1-r13.
22. Aleksandrova NV. Anti-Mullerian hormone and its predictive value for assessing oocyte quality. *Gynecology*. 2020;22(6):21-26.

23. Birch Petersen K, Hvidman HW, Forman JL, et al. Ovarian reserve assessment in users of oral contraception seeking fertility advice on their reproductive lifespan. *Hum Reprod.* 2015;30(10):2364-2375.
24. Tran ND, Cedars MI, Rosen MP. The role of anti-müllerian hormone (AMH) in assessing ovarian reserve. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):3609-3614.
25. Landersoe SK, Larsen EC, Forman JL, et al. Ovarian reserve markers and endocrine profile during oral contraception: Is there a link between the degree of ovarian suppression and AMH? *Gynecol Endocrinol.* 2020;36(12):1090-1095.
26. Kucera R, Ulcova-Gallova Z, Topolcan O. Effect of long-term using of hormonal contraception on anti-Müllerian hormone secretion. *Gynecol Endocrinol.* 2015;32(5):383-385.
27. Amer S, James C, Al-Hussaini TK, Mohamed AA. Assessment of Circulating Anti-Müllerian Hormone in Women Using Hormonal Contraception: A Systematic Review. *J Womens Health (Larchmt).* 2019;29(1):100-110.
28. Kruszyńska A, Słowińska-Srzednicka J. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Przegląd menopauzalny= Menopause review.* 2017;16(2):47.
29. Hagen CP, Aksglaede L, Sørensen K, et al. Individual serum levels of anti-Müllerian hormone in healthy girls persist through childhood and adolescence: a longitudinal cohort study. *Hum Reprod.* 2012;27(3):861-866.
30. Hagen CP, Mouritsen A, Mieritz MG, et al. Circulating AMH reflects ovarian morphology by magnetic resonance imaging and 3D ultrasound in 121 healthy girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):880-890.
31. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):941-945.
32. Dunne C, Havelock J. Assessment of Ovarian Reserve and Its Implications on Fertility. *Textbook of Assisted Reproduction:* Springer; 2020:21-30.
33. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Human reproduction update.* 2014;20(1):124-140.
34. Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida. Relatório Atividade Desenvolvida pelos Centros de PMA em 2017. (n), n.º 2 do artigo 30º da Lei n.º 32/2006, de 26 de julho. Setembro, 2020; <https://www.cnpma.org.pt/cnpma/Paginas/Relatorios-da-Atividade-em-pma.aspx>. Accessed 2021/03/10.
35. Alviggi C, Conforti A, Esteves SC, et al. Understanding ovarian hypo-response to exogenous gonadotropin in ovarian stimulation and its new proposed marker—the follicle-to-oocyte (FOI) index. *Frontiers in endocrinology.* 2018;9:589.
36. Barad DH, Kim A, Kubba H, Weghofer A, Gleicher N. Does hormonal contraception prior to in vitro fertilization (IVF) negatively affect oocyte yields? A pilot study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:28.
37. Toner JP, Seifer DB. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimüllerian hormone. *Fertil Steril.* 2013;99(7):1825-1830.
38. Moolhuijsen LM, Visser JA. Anti-Müllerian hormone and ovarian reserve: update on assessing ovarian function. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2020;105(11):3361-3373.
39. Grisendi V, Mastellari E, La Marca A. Ovarian reserve markers to identify poor responders in the context of poseidon classification. *Frontiers in endocrinology.* 2019;10:281.
40. Tokura Y, Yoshino O, Ogura-Nose S, et al. The significance of serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels in patients over age 40 in first IVF treatment. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30(6):821-825.

41. The ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Human reproduction open*. 2020;2020(2).
42. Alviggi C, Cariati F, Conforti A, et al. The effect of FT500 Plus® on ovarian stimulation in PCOS women. *Reproductive Toxicology*. 2016;59:40-44.
43. La Marca A, Grisendi V, Giulini S, et al. Live birth rates in the different combinations of the Bologna criteria poor ovarian responders: a validation study. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2015;32(6):931-937.
44. Chen L, Wang H, Zhou H, et al. Follicular Output Rate and Follicle-to-Oocyte Index of Low Prognosis Patients According to POSEIDON Criteria: A Retrospective Cohort Study of 32,128 Treatment Cycles. *Frontiers in endocrinology*. 2020;11.
45. Ana Isabel Braga Reis. *Hormona Anti-Mulleriana como Preditor do Número de Ovócitos Obtidos em Técnicas de PMA de 2ª Linha*, Universidade do Porto; 2020.
46. La Marca A, Ferraretti AP, Palermo R, Ubaldi FM. The use of ovarian reserve markers in IVF clinical practice: a national consensus. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(1):1-5.
47. Alviggi C, Esteves SC, Conforti A. Ovarian reserve tests: Are they only a quantitative measure? *Fertility and sterility*. 2020;113(4):761-762.
48. Haahr T, Esteves SC, Humaidan P. Individualized controlled ovarian stimulation in expected poor-responders: an update. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2018;16(1):1-9.
49. Revelli A, Gennarelli G, Biasoni V, et al. The Ovarian Sensitivity Index (OSI) Significantly Correlates with Ovarian Reserve Biomarkers, Is More Predictive of Clinical Pregnancy than the Total Number of Oocytes, and Is Consistent in Consecutive IVF Cycles. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(6):1914.
50. Huber M, Hadziosmanovic N, Berglund L, Holte J. Using the ovarian sensitivity index to define poor, normal, and high response after controlled ovarian hyperstimulation in the long gonadotropin-releasing hormone-agonist protocol: suggestions for a new principle to solve an old problem. *Fertil Steril*. 2013;100(5):1270-1276.
51. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update*. 2010;16(2):113-130.
52. Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). Contraception: Hormonal contraceptives. Updated 2017/06/29; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441576/>. Accessed 2021/02/20.
53. Landersoe SK, Petersen KB, Vassard D, et al. Concerns on future fertility among users and past-users of combined oral contraceptives: a questionnaire survey. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2019;24(5):347-355.
54. Landersoe SK, Forman JL, Birch Petersen K, et al. Ovarian reserve markers in women using various hormonal contraceptives. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2020;25(1):65-71.
55. Sociedade Portuguesa da Contraceção; Sociedade Portuguesa de Ginecologia; Sociedade Portuguesa de Medicina da Reprodução. *Consenso sobre contraceção 2020. Revisão científica da responsabilidade da Sociedade Portuguesa da Contraceção (SPDC)*. 2020.
56. Kushnir VA, Barad DH, Gleicher N. Ovarian reserve screening before contraception? *Reprod Biomed Online*. 2014;29(5):527-529.
57. Gorum T, Wasie A. Return of fertility after discontinuation of contraception: a systematic review and meta-analysis. *Contraception and reproductive medicine*. 2018;3(1):1-9.
58. Yland JJ, Bresnick KA, Hatch EE, et al. Pregravid contraceptive use and fecundability: prospective cohort study. *bmj*. 2020;371.
59. Doll H, Vessey M, Painter R. Return of fertility in nulliparous women after discontinuation of the intrauterine device: comparison with women discontinuing other methods of contraception. *BJOG*. 2001;108(3):304-314.
60. Farrow A, Hull MG, Northstone K, Taylor H, Ford WC, Golding J. Prolonged use of oral contraception before a planned pregnancy is associated with a decreased risk of delayed conception. *Hum Reprod*. 2002;17(10):2754-2761.

61. Mikkelsen EM, Riis AH, Wise LA, Hatch EE, Rothman KJ, Toft Sørensen H. Pre-gravid oral contraceptive use and time to pregnancy: a Danish prospective cohort study. *Human reproduction*. 2013;28(5):1398-1405.
62. Cronin M, Schellschmidt I, Dinger J. Rate of pregnancy after using drospirenone and other progestin-containing oral contraceptives. *Obstet Gynecol*. 2009;114(3):616-622.
63. Kaplan B, Nahum R, Yairi Y, et al. Use of various contraceptive methods and time of conception in a community-based population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;123(1):72-76.
64. Linn S, Schoenbaum SC, Monson RR, Rosner B, Ryan KJ. Delay in conception for former 'pill' users. *Jama*. 1982;247(5):629-632.
65. Hassan MA, Killick SR. Is previous use of hormonal contraception associated with a detrimental effect on subsequent fecundity? *Hum Reprod*. 2004;19(2):344-351.
66. Ahmaad S, Henukh D. DIFFERENCE IN LENGTH OF RETURN OF FERTILITY AFTER CONTRACEPTION WITH 3-MONTH OF DEPO MEDROXY PROGESTERON ACETATE INJECTION AND HORMONAL IMPLANT IN BAUMATA PUBLIC HEALTH SCENTER, KUPANG DISTRICT. 2020.
67. Mansour D, Gemzell-Danielsson K, Inki P, Jensen JT. Fertility after discontinuation of contraception: a comprehensive review of the literature. *Contraception*. 2011;84(5):465-477.
68. Andersson K, Batar I, Rybo G. Return to fertility after removal of a levonorgestrel-releasing intrauterine device and Nova-T. *Contraception*. 1992;46(6):575-584.
69. Letourneau JM, Cakmak H, Quinn M, Sinha N, Cedars M, Rosen M. Long-term hormonal contraceptive use is associated with a reversible suppression of antral follicle count and a break from hormonal contraception may improve oocyte yield. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(9):1137-1144.
70. Bentzen JG, Forman JL, Pinborg A, et al. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reprod Biomed Online*. 2012;25(6):612-619.
71. Kallio S, Puurunen J, Ruukonen A, Vaskivuo T, Piltonen T, Tapanainen JS. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertil Steril*. 2013;99(5):1305-1310.
72. D'Arpe S, Di Felicianantonio M, Candelieri M, Franceschetti S, Piccioni MG, Bastianelli C. Ovarian function during hormonal contraception assessed by endocrine and sonographic markers: a systematic review. *Reprod Biomed Online*. 2016;33(4):436-448.
73. Deb S, Campbell BK, Pincott-Allen C, Clewes JS, Cumberpatch G, Raine-Fenning NJ. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-Müllerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012;39(5):574-580.
74. Bas-Lando M, Rabinowitz R, Farkash R, et al. Prediction value of anti-Müllerian hormone (AMH) serum levels and antral follicle count (AFC) in hormonal contraceptive (HC) users and non-HC users undergoing IVF-PGD treatment. *Gynecological Endocrinology*. 2017;33(10):797-800.
75. van den Berg MH, van Dulmen-den Broeder E, Overbeek A, et al. Comparison of ovarian function markers in users of hormonal contraceptives during the hormone-free interval and subsequent natural early follicular phases. *Hum Reprod*. 2010;25(6):1520-1527.
76. Landersoe SK, Petersen KB, Sørensen AL, et al. Ovarian reserve markers after discontinuing long-term use of combined oral contraceptives. *Reproductive biomedicine online*. 2020;40(1):176-186.
77. Bernardi LA, Weiss MS, Waldo A, et al. Duration, recency, and type of hormonal contraceptive use and antimüllerian hormone levels. *Fertility and Sterility*. 2021.
78. Petrie KA, Torgal AH, Westhoff CL. Matched-pairs analysis of ovarian suppression during oral vs. vaginal hormonal contraceptive use. *Contraception*. 2011;84(5):e1-4.

79. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WH. A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS One*. 2011;6(7):e22024.
80. Broer SL, Broekmans FJ, Laven JS, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update*. 2014;20(5):688-701.
81. Gleicher N. Reproductive failure prior to the onset of clinical autoimmune disease. *Rheumatology (Oxford, England)*. 1999;38(6):485-487.
82. La Marca A, Marzotti S, Brozzetti A, et al. Primary ovarian insufficiency due to steroidogenic cell autoimmunity is associated with a preserved pool of functioning follicles. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(10):3816-3823.
83. Gleicher N, Weghofer A, Lee IH, Barad DH. FMR1 genotype with autoimmunity-associated polycystic ovary-like phenotype and decreased pregnancy chance. *PLoS One*. 2010;5(12):e15303.
84. Barad DH, Weghofer A, Gleicher N. Age-specific levels for basal follicle-stimulating hormone assessment of ovarian function. *Obstet Gynecol*. 2007;109(6):1404-1410.
85. Farquhar C, Rombauts L, Kremer JA, Lethaby A, Ayeleke RO. Oral contraceptive pill, progestogen or oestrogen pretreatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;5(5):Cd006109.
86. Ozgur K, Berkkanoglu M, Bulut H, Humaidan P, Coetzee K. Agonist depot versus OCP programming of frozen embryo transfer: a retrospective analysis of freeze-all cycles. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2016;33(2):207-214.
87. European Society of Human Reproduction and Embryology. OVARIAN STIMULATION FOR IVF/ICSI, Guideline of the ESHRE. 2019.
88. Lu Y, Niu Y, Wang Y, et al. Optimal candidates to do fresh embryo transfer in those using oral contraceptive pretreatment in IVF cycles. *Frontiers in physiology*. 2021;12.
89. Merviel P, Cabry-Goubet R, Lourdel E, et al. Comparative prospective study of 2 ovarian stimulation protocols in poor responders: effect on implantation rate and ongoing pregnancy. *Reproductive Health*. 2015;12(1):1-7.
90. Al-Inany HG, Youssef MA, Ayeleke RO, Brown J, Lam WS, Broekmans FJ. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;4:Cd001750.
91. Bermejo A, Iglesias C, Ruiz-Alonso M, et al. The impact of using the combined oral contraceptive pill for cycle scheduling on gene expression related to endometrial receptivity. *Hum Reprod*. 2014;29(6):1271-1278.
92. Montoya-Botero P, Martinez F, Rodríguez-Purata J, Rodríguez I, Coroleu B, Polyzos NP. The effect of type of oral contraceptive pill and duration of use on fresh and cumulative live birth rates in IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod*. 2020;35(4):826-836.
93. Xu L, Ding L, Jiang J, Liu P, Wei D, Qin Y. Effects of oral contraceptive pretreatment on IVF outcomes in women following a GnRH agonist protocol. *Reprod Biomed Online*. 2019;39(6):924-930.
94. Fox CW, Stanhiser J, Quaas AM. Evidence of profound ovarian suppression on combined hormonal contraception resulting in dramatically different ovarian reserve testing and oocyte retrieval outcomes: case report and review of the literature. *F&S Reports*. 2020;1(2):94-98.
95. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril*. 2016;105(3):755-764.e758.
96. Wright AA, Fayad GN, Selgrade JF, Olufsen MS. Mechanistic model of hormonal contraception. *PLoS computational biology*. 2020;16(6):e1007848.
97. Baerwald AR, Pierson RA. Ovarian follicular development during the use of oral contraception: a review. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2004;26(1):19-24.

98. Pfizer. DEPO-PROVERA- medroxyprogesterone acetate injection, suspension. 2020; https://www.pfizer.com/products/product-detail/depo_provera. Accessed 2021/03/30.
99. Lewis RA, Taylor D, Natavio MF, Melamed A, Felix J, Mishell D. Effects of the levonorgestrel-releasing intrauterine system on cervical mucus quality and sperm penetrability. *Contraception*. 2010;82(6):491-496.
100. Encyclopaedia Britannica. Anatomia e Fisiologia: Ovário | animal e humano. 2020/11/21; <https://delhipages.live/pt/saude-e-medicina/anatomia-e-fisiologia/ovary-animal-and-human>. Accessed 2020/12/02.
101. Vios Fertility Institute. The Menstrual Cycle. Updated 2016/12/20; <https://viosfertility.com/blog/the-menstrual-cycle/>. Accessed 2020/11/07.
102. Crespo RP, Bachega TA, Mendonça BB, Gomes LG. An update of genetic basis of PCOS pathogenesis. *Archives of endocrinology and metabolism*. 2018;62(3):352-361.
103. Profª. Drª. Mariana Kiomy Osako. Sistema Reprodutor Feminino. Updated 2019; <https://docplayer.com.br/86583763-Sistema-reprodutor-feminino-prof-a-dr-a-mariana-kiomy-osako.html>. Accessed 2021/01/11.