

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Saúde Reprodutiva Feminina – estudo de uma amostra populacional de dadoras de óvulos

Tatiana Filipa Santos Oliveira

M

2022



Saúde Reprodutiva Feminina – estudo de uma amostra populacional de dadoras de óvulos

Estudante

Nome: Tatiana Filipa Santos Oliveira

Nº de aluno: 201606037

Correio Eletrónico: tatiana14oliveira@hotmail.com

Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Orientador

Nome: Dr. Emídio André do Vale Fernandes

Assistente Hospitalar de Ginecologia/Obstetrícia do Centro Hospitalar Universitário do Porto,
EPE

Co-orientador

Nome: Doutor Hélder Ferreira

Assistente Graduado de Ginecologia/Obstetrícia do Centro Hospitalar Universitário do Porto,
EPE

Abril, 2022

Tatiana Oliveira

Tatiana Filipa Santos Oliveira



Dr. Emídio André do Vale Fernandes



Doutor Hélder Ferreira

Abril, 2022

Agradecimentos

Ao meu orientador, Dr. Emídio Vale Fernandes, o meu obrigada por todos os ensinamentos e apoio ao longo da elaboração deste trabalho.

Agradeço ainda ao Doutor Hélder Ferreira pela coorientação deste trabalho.

O meu agradecimento vai também para a minha família, namorado e amigos, que fizeram de tudo para que estes seis anos se tornassem mais fáceis. Sou grata principalmente aos meus pais e avós por serem o meu pilar, desde sempre.

Resumo

A procriação medicamente assistida tem como objetivo contornar um dos maiores problemas de saúde reprodutiva: a infertilidade. A infertilidade traduz-se na impossibilidade de obter filhos após relações sexuais frequentes e desprotegidas, durante um ano, e pode ser idiopática ou dever-se a causas femininas, masculinas ou mistas.

Os tratamentos com recurso a doação de ovócitos são uma das formas de aplicabilidade desta tecnologia e podem ser utilizados por casais com ciclos de procriação medicamente assistida sem sucesso por qualidade ovocitária, em casos de insuficiência ovárica prematura ou risco de transmissão de anomalia genética grave à descendência.

A caracterização e análise de parâmetros favoráveis de candidatas a dadoras, assim como de aspetos de exclusão, permitirão uma seleção satisfatória das mesmas com o objetivo de acelerar o processo de doação, uma vez que a lista de espera a nível nacional tem vindo a aumentar.

No presente trabalho, as dadoras (mulheres saudáveis) do Banco Público de Gâmetas, entre 2011 e 2021, servem de exemplo de amostra populacional para que os resultados obtidos possam ser utilizados como indicador nacional de fertilidade.

Na amostra populacional estudada verificou-se que a um maior doseamento de hormona anti-mülleriana corresponde um maior número de folículos antrais e de ovócitos obtidos. Foi demonstrado ainda que com o aumento da idade diminui o número de ovócitos recolhidos. O *cutoff* sugerido para o valor de hormona anti-mülleriana para que a doação seja concluída é de 1,12 ng/mL.

Abstract

Medically assisted procreation aims to circumvent one of the biggest reproductive health problems: infertility. Infertility translates into the impossibility of having children after frequent and unprotected intercourse for a year, and can be idiopathic or due to female, male or mixed causes.

Treatments using oocyte donation are one of the ways of applicability of this technology and can be used by couples with medically assisted procreation cycles without success due to egg quality, in cases of premature ovarian failure or risk of transmission of a serious genetic abnormality to the offspring.

The characterization and analysis of favorable parameters of candidate donors, as well as aspects of exclusion, will allow for a satisfactory selection of them with the aim of accelerating the donation process, since the national waiting list has been increasing.

In the present work, the donors (healthy women) of the Public Bank of Gametes, between 2011 and 2021, serve as an example of a population sample so that the results obtained can be used as a national fertility indicator.

In the population sample studied, it was found that a higher dose of anti-müllerian hormone corresponds to a higher number of antral follicles and oocytes obtained. It was also shown that with increasing age, the number of oocytes collected decreases. The suggested cutoff for the anti-müllerian hormone value to complete the donation is 1,12 ng/mL.

Lista de Abreviaturas

AMH – hormona anti-mülleriana

BPG – Banco Público de Gâmetas

BG – Banco de Gâmetas

CFA – contagem de folículos antrais

CHUP – Centro Hospitalar Universitário do Porto

FIV – fertilização *in vitro*

FSH – hormona folículo-estimulante

GnRH – hormona libertadora de gonadotrofinas

hCG – gonadotrofina coriônica humana

IMC – índice de massa corporal

LH – hormona luteinizante

PMA – procriação medicamente assistida

Índice

Índice de Tabelas	vi
Índice de Figuras	vii
Introdução	1
A importância da Saúde Sexual e Reprodutiva	1
Fisiologia do Aparelho Reprodutor Feminino	1
Gravidez	4
Infertilidade feminina	5
Epidemiologia	5
Causas de Infertilidade	6
Marcadores de Reserva Ovária	7
Procriação Medicamente Assistida	9
Diário da República	9
Aplicabilidade dos tratamentos com recurso a doação de ovócitos	9
Tipos de técnicas	10
Fertilização In Vitro e Protocolo de Estimulação Ovária	11
Bancos de Gâmetas	12
Banco Público de Gâmetas Português	13
Seleção das candidatas a dadoras de óvulos	14
Objetivos	16
Material e Métodos	17
Colheita de dados	17
Análise Estatística	18
Resultados	19
Descrição sociodemográfica	19
História ginecológica e obstétrica e estilo de vida das candidatas	19
Protocolo de estimulação	20
Análise estatística do doseamento de hormona anti-mülleriana	20
Análise estatística do número de ovócitos obtidos	21
Valor de cutoff de hormona anti-mülleriana	22
Discussão	23
Limitações	25
Conclusão	26
Apêndices	27
Tabelas	27
Figuras	35
Referências bibliográficas	38

Índice de Tabelas

Tabela I - Avaliação da candidata a dadora de óvulos	14
Tabela II - Critérios de exclusão de candidatas a dadoras	15
Tabela III - Caracterização sociodemográfica de amostra populacional de dadoras de gâmetas	28
Tabela IV - Caracterização antropométrica da amostra de candidatas a dadoras de gâmetas ..	28
Tabela V - Fenótipo da amostra populacional de candidatas a dadoras de gâmetas	29
Tabela VI - Motivos de rejeição de candidatas a dadoras de óvulos.....	29
Tabela VII - Caracterização antropométrica da amostra de dadoras efetivas	29
Tabela VIII - Fenótipo da amostra de dadoras efetivas	30
Tabela IX - Estudo genético da amostra de dadoras efetivas.....	30
Tabela X - História ginecológica e obstétrica	31
Tabela XI - Fatores de risco	31
Tabela XII - Protocolo de estimulação	32
Tabela XIII - Comparação entre o número de ovócitos criopreservados e usados a fresco entre 2011 e 2021.....	32
Tabela XIV - Análise estatística de AMH	32
Tabela XV - Relação dos valores de AMH com a idade, IMC, dias e dose de estimulação, tamanho de folículos, número de folículos antrais e ovócitos obtidos	33
Tabela XVI - Relação dos valores de AMH com hábitos tabágicos, história psiquiátrica, médica e familiar	33
Tabela XVII - Relação do número de ovócitos obtidos com a idade, IMC, dias e dose de estimulação, tamanho de folículo e número de folículos antrais	33
Tabela XVIII - Relação do número de ovócitos obtidos com hábitos tabágicos, história médica e familiar	34
Tabela XIX - Relação do valor de AMH com doação de gâmetas concluída e baixa reserva ovárica	34
Tabela XX - Relação entre o valor de AMH e a conclusão da doação.....	34

Índice de Figuras

Figura 1 - Ciclo ovário, ciclo endometrial e influência hormonal (adaptado de Richards, J.S., 2018)	3
Figura 2 - Processo de implantação endometrial (adaptado de Vogazianou, A., 2019)	4
Figura 3 - Prevalência da infertilidade feminina primária (adaptado de Mascarenhas et al., 2012)	5
Figura 4 - Prevalência da infertilidade feminina secundária (adaptado de Mascarenhas et al., 2012)	6
Figura 5 - Desenvolvimento folicular (adaptado de Parry et al., 2019)	8
Figura 6 - Percentagem de gravidezes bem-sucedidas com recurso a óvulos usados a fresco e criopreservados nos Estados Unidos da América (adaptado de Nagy et al., 2020)	10
Figura 7 - Número de procedimentos de FIV com recurso à criopreservação de óvulos nos Estados Unidos da América (adaptado de Nagy et al., 2020)	12
Figura 8 - Área sob a curva de ROC relativa à relação do valor de AMH com a conclusão da doação	22

Introdução

A importância da Saúde Sexual e Reprodutiva

A saúde sexual tem vindo a ser motivo de discussão durante décadas, tendo sido divulgada a sua primeira definição em 1975, sofrendo desde então alterações. Atualmente, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, este tema envolve os componentes físico, emocional, mental e social dos indivíduos, tendo em especial consideração os seus direitos sexuais.¹ Além disso, à aliança da saúde sexual com os direitos sexuais, deve juntar-se o prazer sexual, estabelecendo um triângulo harmonioso.²

Em 1994 foi feito um apelo para o acesso universal à saúde reprodutiva na quarta Conferência Internacional sobre População e Desenvolvimento, no Cairo. No entanto, é algo que continua a ser uma utopia, sendo as mulheres as mais afetadas por este problema, uma vez que, anualmente, cerca de meio milhão de mulheres morrem devido a complicações decorrentes da gravidez ou do parto e pós-parto. Além disso, as infeções sexualmente transmissíveis continuam a ser um tópico de discussão, principalmente nos países em desenvolvimento. Assim, é demonstrada a importância que uma boa saúde sexual e reprodutiva pode ter na qualidade de vida da mulher.³

Fisiologia do Aparelho Reprodutor Feminino

Todas as mulheres apresentam uma reserva ovárica ao nascimento, que vai decrescendo ao longo da vida com a ovulação e com os folículos que entram em atresia, que ocorre todos os meses.⁴

O ciclo menstrual da mulher resulta de uma interação entre o eixo hipotálamo-hipófise e as alterações sequenciais na secreção de esteroides pelo ovário. O hipotálamo secreta a hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) que, por sua vez, regula a libertação da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH) pela hipófise. Estas gonadotrofinas são responsáveis pela estimulação dos ovários com consequente secreção de estradiol e progesterona e, estando estes em elevada concentração, exercem *feedback* negativo sobre a secreção de GnRH.⁴

O ciclo menstrual, com duração média de aproximadamente 28 dias, divide-se em dois ciclos: ciclo ovárico composto pela fase folicular (altos níveis de FSH), fase ovulatória e fase lútea

(alta concentração de estradiol e progesterona) e ciclo endometrial formado pela fase proliferativa, fase secretora e fase menstrual, esta última com diminuição dos níveis de estradiol e progesterona se a gravidez não ocorrer (Figura 1).^{4,5}

Os níveis de LH e FSH permanecem baixos até à puberdade, altura em que ocorre o desenvolvimento de características sexuais secundárias e da capacidade de reprodução com aparecimento da menarca, telarca e pubarca. Após a maturidade sexual e o fim da puberdade, durante a fase folicular do ciclo ovário, que tem a duração de cerca de 14 dias, verifica-se um recrutamento de alguns folículos primários e o seu crescimento e transformação em folículos secundários por intermédio de FSH. Deste processo resulta apenas um folículo dominante. Durante o final da fase folicular em que ocorre atresia dos restantes folículos como consequência da queda da concentração de FSH, o endométrio vai sofrendo alterações, começando por uma fase proliferativa com aumento da espessura da mucosa endometrial e das glândulas presentes e com desenvolvimento de vasos tortuosos. O aumento da síntese de estradiol pelo folículo dominante desencadeia um *feedback* positivo com aumento da libertação de LH e FSH pelo estímulo da secreção de GnRH ao nível do hipotálamo. Seguidamente, surge a fase ovulatória que resulta na libertação de um ovócito e é o momento do ciclo em que se dá o pico do nível de LH. Caso não ocorra fertilização entre 12 a 24 horas, o óvulo degenera. O folículo dominante passa a denominar-se corpo lúteo com a libertação do óvulo, determinando a fase lútea que tem a duração de aproximadamente 14 dias e termina com o início do cataménio. Durante a fase lútea, decorre a fase secretora do ciclo endometrial devido à elevada concentração de estradiol e progesterona, ambos produzidos pelo corpo lúteo, sendo esta última especialmente produzida em elevadas quantidades. A secreção endometrial durante este período passa por citocinas, fatores de crescimento e moléculas de adesão celular. Desta forma, é atingido o grau máximo de desenvolvimento do endométrio que se torna espesso e vascularizado para criar as condições ótimas para nutrição e implantação do possível zigoto. No final desta fase são obtidas as concentrações mais baixas de FSH e LH e, caso não ocorra gravidez, o corpo lúteo degenera em corpo albicans, também conhecido como corpo amarelo, ocorrendo a fase menstrual. Por outro lado, se houver fertilização, a gonadotrofina coriónica humana mantém o corpo amarelo funcionante.^{4,5}

Este processo repete-se, em média, cerca de 300 a 400 vezes durante a vida reprodutiva da mulher.⁴

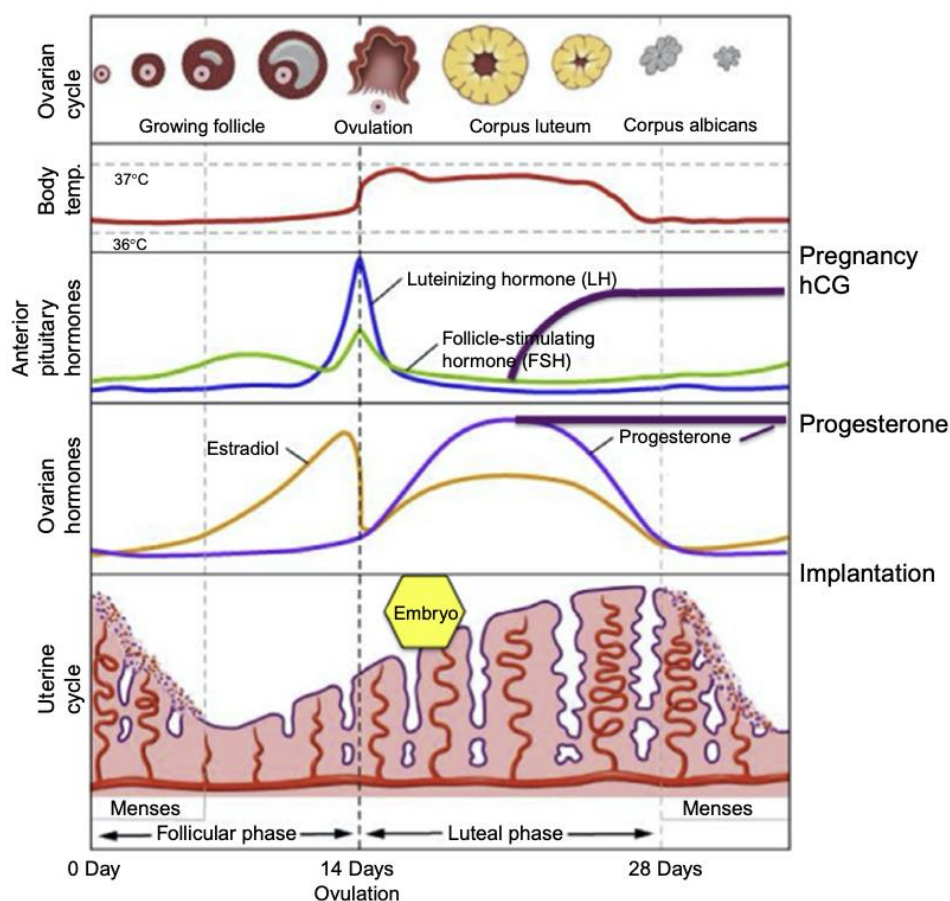


Figura 1 - Ciclo ovárico, ciclo endometrial e influência hormonal (adaptado de Richards, J.S., 2018)

Ao nível do eixo hipotálamo-hipófise, com a diminuição do número de ovócitos ao longo dos anos, há uma diminuição do *feedback* negativo sobre a FSH devido à diminuição da secreção de inibina B pelos folículos dos ovários, o que leva a uma perda folicular mais rápida. Assim, ocorre uma diminuição dos níveis de estrogénio e progesterona com a idade. Quando não existe qualquer reserva ovárica, não é registada nenhuma resposta por parte dos ovários. Sendo assim, quando este processo de ovulação cessa e a mulher se apresenta, pelo menos, com 12 meses de amenorreia consecutivos, deixa de ter capacidade reprodutiva e inicia a menopausa, que tem início, em média, por volta dos 51 anos de idade.⁶ É ainda de referir que o período pós-menopausa é caracterizado por níveis elevados de FSH e LH devido à insuficiência ovárica.⁴ Além disso, certos fatores de risco estão associados a uma idade precoce de falência ovárica definitiva como é o caso do tabagismo, baixo índice de massa corporal e nuliparidade. A sintomatologia típica engloba sintomas vasomotores como ondas de calor e perturbação do sono por esse motivo, alterações emocionais, fadiga, ganho de peso, secura vaginal, sintomas do trato urinário inferior e dispareunia. Alguns estudos sugerem que na origem destes sintomas esteja o défice

de estrogénio. Para colmatar estes efeitos, existe a terapia hormonal de substituição, em que pode ser direcionada uma terapia de estrogénios a mulheres que foram submetidas a histerectomia e uma terapia combinada de estrogénios e progesterona a mulheres com útero, uma vez que a terapia isolada de estrogénios pode provocar hiperplasia do endométrio.⁶

Gravidez

Caso ocorra fertilização do óvulo, este passa a denominar-se zigoto e sofre um processo de divisão celular, na trompa de Falópio, durante dois a três dias até à condição de mórula que possui entre 16 a 32 células.⁷ Três a seis dias após fertilização, quando já se encontra no útero, transforma-se em blastocisto (Figura 2).⁴

Para o sucesso da implantação é necessário haver uma boa interação entre o blastocisto, que secreta substâncias de forma a aprimorar o processo, e o endométrio que se encontra em maturação.⁴

Com a implantação, o corpo lúteo não é degenerado, uma vez que o embrião secreta hCG, impedindo esse desfecho. Consequentemente, o corpo amarelo continua a produzir progesterona, sendo esta responsável pelo espessamento do endométrio e prosseguimento da gestação. Entre a sétima e a nona semanas de gestação, a produção de progesterona passa a ser da responsabilidade da placenta.⁴

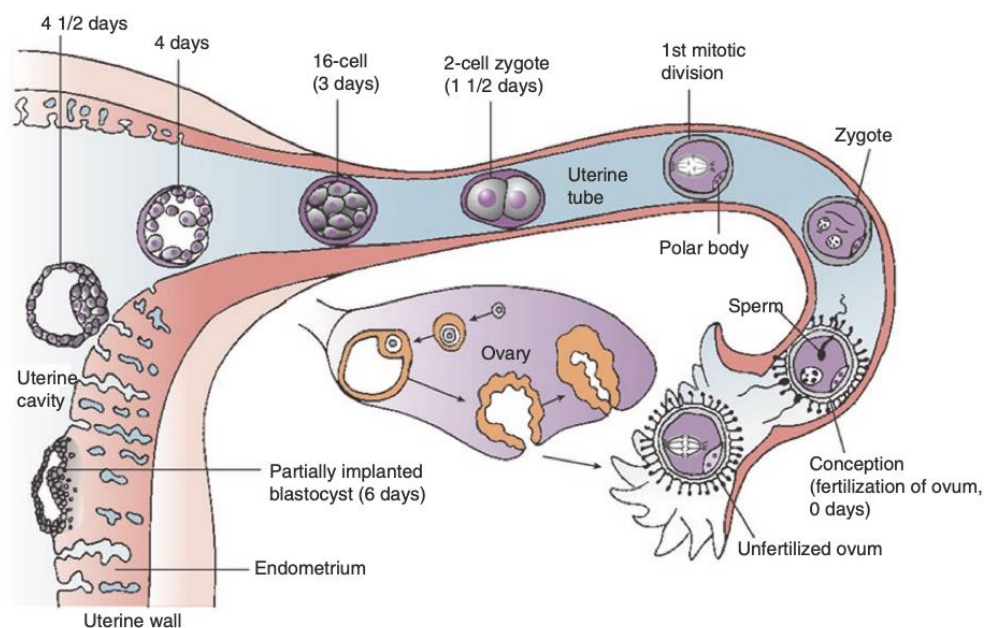


Figura 2 - Processo de implantação endometrial (adaptado de Vogazianou, A., 2019)

Infertilidade feminina

Epidemiologia

A infertilidade é estabelecida quando há ausência de gravidez após um ano de relações sexuais frequentes e desprotegidas, afetando cerca de 8-12% dos casais mundialmente.⁸

O casal pode sofrer de infertilidade primária, caso nunca tenha sido capaz de engravidar, ou de infertilidade secundária, na impossibilidade de gerar uma nova gravidez após, pelo menos, uma gravidez anterior mal ou bem-sucedida.⁸ Quanto à infertilidade primária, esta afeta especialmente as regiões da Europa Oriental, África, Oceânia e Ásia com taxas maioritariamente superiores a 2% (Figura 3). A infertilidade secundária é a que mais afeta o sexo feminino e pensa-se que esta se deva a infeções pós-abortamento ou pós-parto em regiões com precariedade de cuidados de saúde. Esta é mais prevalente na Ásia e Europa Oriental com taxas superiores a 13%, Oceânia e África (Figura 4).^{9,10}

De um modo geral, os países em desenvolvimento apresentam uma maior prevalência de infertilidade em contraste com os países desenvolvidos.⁸

O tempo decorrido de relações sexuais desprotegidas sem gravidez, a idade da mulher e a infertilidade associada a doença são fatores que se relacionam com a probabilidade de êxito de uma gestação.⁸

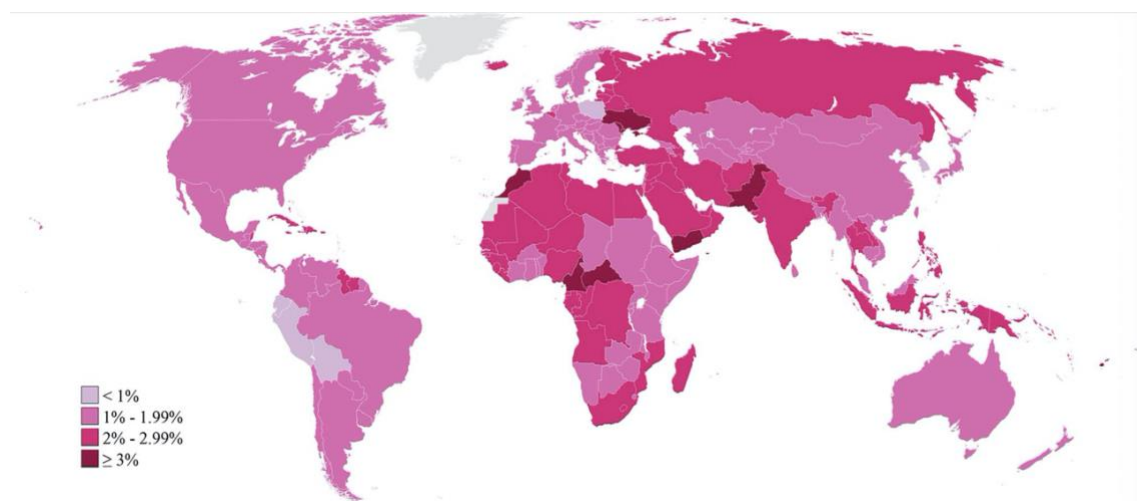


Figura 3 - Prevalência da infertilidade feminina primária (adaptado de Mascarenhas et al., 2012)

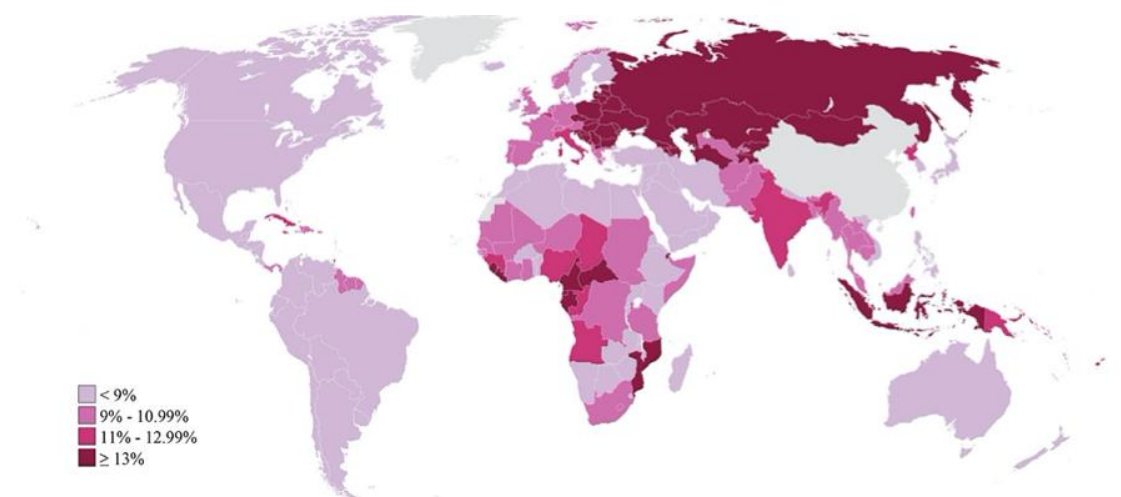


Figura 4 - Prevalência da infertilidade feminina secundária (adaptado de Mascarenhas et al., 2012)

Causas de Infertilidade

A infertilidade pode ser idiopática ou dever-se a causas femininas, masculinas ou mistas. Pode cursar com certas doenças como por exemplo: hipogonadismo hipogonadotrófico que leva a uma estimulação gonadal incompetente pela LH e FSH devido a uma secreção insuficiente de GnRH ou a uma hipófise comprometida; hiperprolactinemia pela ação conhecida da prolactina na inibição da secreção de GnRH; distúrbios da função ciliar, nomeadamente na trompa de Falópio que funciona como um meio de deslocação para o sucesso da implantação do zigoto; fibrose quística que se relaciona com uma secreção anormal de muco cervical espesso que prejudica a difusão dos espermatozóides após ejaculação; infeções sexualmente transmissíveis, sendo o agente infeccioso causador de infertilidade mais comum a *Chlamydia trachomatis* (no entanto, *Neisseria gonorrhoeae* é outro patógeno a ter em conta); doenças sistémicas, nomeadamente doenças autoimunes e síndrome metabólica e, em contraste, distúrbios de restrição da alimentação; insuficiência ovárica prematura; síndrome do ovário poliquístico que contempla pelo menos dois critérios entre ovulação pouco frequente ou ausente, achados ecográficos de quistos ováricos e hiperandrogenismo; endometriose, visto que se trata de um processo inflamatório do qual pode resultar aderências e fibrose do aparelho reprodutor feminino; miomas ou pólipos uterinos, entre outros.⁸

Tabagismo, hábitos alcoólicos e consumo de estupefacientes são fatores de risco relacionados com o declínio da fertilidade.⁸

Marcadores de Reserva Ovária

A idade da mulher apresenta uma relação inversamente proporcional à fertilidade feminina, sendo que esta sofre um declínio significativo a partir dos 30 anos de idade.^{11,12} O índice de massa corporal (IMC) elevado é outro fator que afeta negativamente a fertilidade.¹²

O doseamento tanto de AMH como de FSH e a contagem de folículos antrais (CFA) têm sido usados como preditores da resposta ovária perante doação de gametas femininos.¹³

A AMH é produzida pelas células da granulosa dos pequenos folículos antrais, tendo uma ação estimuladora no recrutamento de folículos primordiais e uma ação reguladora negativa na foliculogênese derivada de FSH. Sendo assim, trata-se de um marcador indireto do tamanho do *pool* de folículos primordiais (Figura 5).^{14,15} Os seus valores permanecem altos até o folículo atingir um diâmetro de 8 milímetros, no entanto, ocorre um decréscimo do seu doseamento enquanto o diâmetro folicular aumenta.¹⁴ A AMH é considerada por muitos autores como o melhor marcador de reserva ovária, uma vez que apresenta um decréscimo precoce no seu doseamento com a idade, comparativamente com os restantes marcadores, e tem uma menor variação dos seus níveis ao longo do ciclo ovário, pelo que pode ser obtida em qualquer altura do mês.¹³

A progressão dos folículos antrais para dominantes é mediada por FSH (Figura 5), pelo que um doseamento elevado desta hormona pode indicar uma baixa reserva ovária, uma vez que são necessários maiores níveis de FSH para o desenvolvimento folicular.¹⁵ No entanto, o seu doseamento está dependente do laboratório em que é feito e os seus níveis apresentam variações ao longo do ciclo mensal da mulher, podendo ser limitações ao seu uso.¹³

O valor de CFA, que diminui com a idade, apresenta uma relação diretamente proporcional à reserva ovária, pelo que mulheres com baixa CFA tendem a não ter uma resposta favorável à estimulação ovária.¹⁵

Existem outros marcadores de reserva ovária, embora menos utilizados, como é o caso da inibina B secretada pelos folículos pré-antrais (Figura 5). Esta glicoproteína, que regula negativamente a secreção de FSH, é usada em detrimento da inibina A, visto que esta última surge tardiamente ao nível do folículo dominante. Os seus valores decrescem com a idade, indicando uma menor reserva ovária.¹⁵ O estradiol é outro marcador que poderá ser utilizado, uma vez que níveis aumentados se relacionam com baixa reserva ovária.¹³

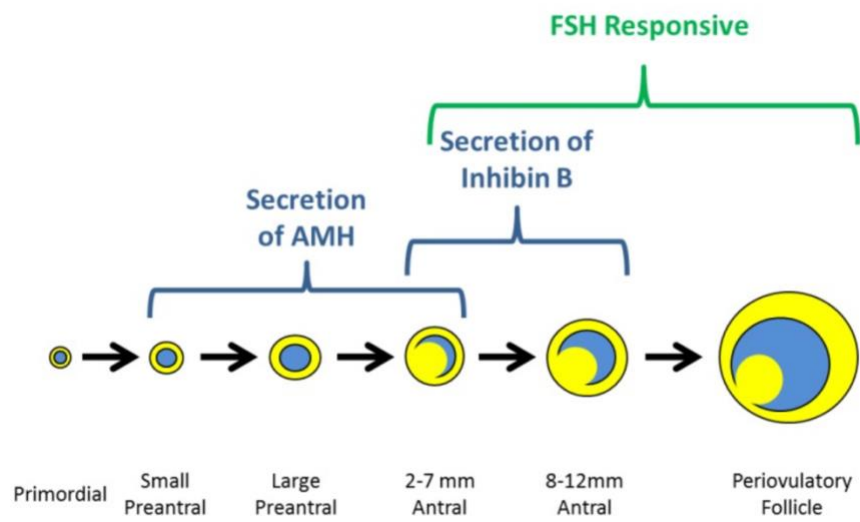


Figura 5 - Desenvolvimento folicular (adaptado de Parry et al., 2019)

Procriação Medicamente Assistida

A infertilidade feminina sempre foi alvo de reprovação social. O divórcio e o isolamento da mulher eram, muitas vezes, consequências indesejáveis, uma vez que a infertilidade masculina nunca era posta em causa.¹⁶

Para contornar este problema, surgiu a procriação medicamente assistida (PMA) como uma alternativa para os casais que não conseguem conceber, nomeadamente com os seus próprios gametas, tendo nascido a primeira criança através de doação de óvulos com sucesso em 1978.¹⁷

Diário da República

A PMA pode ser oferecida a todas as mulheres com pelo menos 18 anos de idade, quer se encontrem numa relação heterossexual, numa relação homossexual ou solteiras e que não apresentem uma vida reprodutiva satisfatória. Não é permitido manipular este procedimento de modo a obter certas características fenotípicas pretendidas.¹⁸

Uma das suas formas de aplicabilidade consiste na doação de gametas. Nesse caso, a dadora de óvulos não pode solicitar quaisquer direitos pela criança que nascer.¹⁸

Os beneficiários deverão dar o seu consentimento informado e todas as pessoas envolvidas neste processo deverão respeitar a confidencialidade que este acarreta.¹⁸

Ao fim de 5 anos, caso os óvulos não tenham sido doados, necessitarão de ser destruídos ou então utilizados numa investigação mediante consentimento dos envolvidos.¹⁸

Aplicabilidade dos tratamentos com recurso a doação de ovócitos

Os tratamentos com recurso a doação de ovócitos podem ser utilizados por casais com ciclos de PMA sem sucesso por qualidade ovocitária, em casos de insuficiência ovárica prematura e em casos de risco de transmissão de anomalia grave à descendência.^{19,20}

A insuficiência ovárica prematura trata-se de uma diminuição ou falência de toda a reserva ovárica da mulher antes dos 40 anos de idade, podendo resultar em menor capacidade ou impossibilidade de gravidez. A maior parte dos casos são de etiologia idiopática, mas também se podem dever a causas genéticas como a síndrome de X frágil, associar-se a doenças autoimunes, como síndrome poliglandular autoimune, ou serem secundários a tratamentos

gonadotóxicos, nomeadamente radioterapia ou quimioterapia.²¹ A terapêutica hormonal de substituição é, por norma, o tratamento efetuado.²⁰

Tipos de técnicas

Existem diversas técnicas de PMA como é o caso da inseminação artificial, fertilização *in vitro*, injeção intracitoplasmática de espermatozóides, transferência de embriões, gâmetas ou zigotos, diagnóstico genético pré-implantação e outras técnicas laboratoriais de manipulação gamética ou embrionária equivalentes ou subsidiárias.¹⁸

A doação de gâmetas femininos é uma forma de contribuição para o sucesso da PMA. Esta ocorre a partir de mulheres saudáveis e férteis, que são submetidas a estimulação ovárica, de modo a preservar o direito reprodutivo de todas as mulheres e a melhorar o ambiente familiar e essencialmente a dinâmica social.^{22,23}

Este processo permitiu o estudo dos ovócitos e do útero da mulher separadamente, sendo que os gâmetas femininos podem ser utilizados a fresco ou criopreservados. Os óvulos a fresco são considerados o tratamento padrão desejável, apesar de se associarem a maior dificuldade em sincronizar dadoras e recetoras e o número escasso de dadoras disponíveis a qualquer momento poder atrasar o início do procedimento. Por estas razões, os óvulos criopreservados oferecem maior conveniência aos centros de PMA, pelo que têm sido cada vez mais utilizados (Figura 6).²⁴⁻²⁶

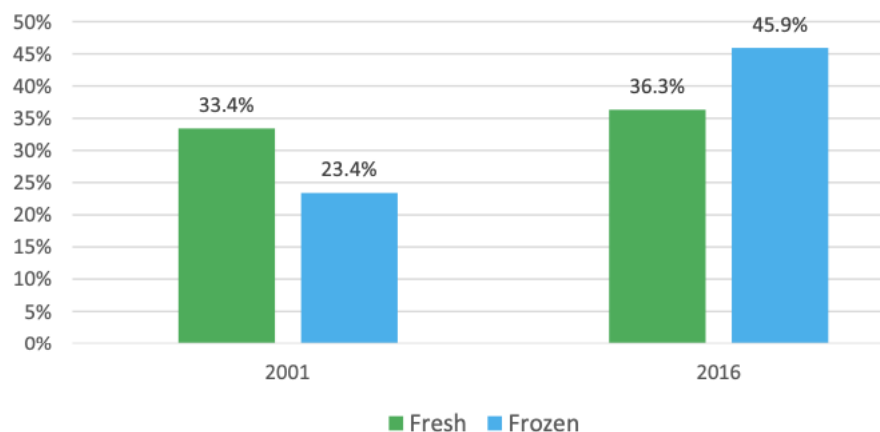


Figura 6 - Percentagem de gravidezes bem-sucedidas com recurso a óvulos usados a fresco e criopreservados nos Estados Unidos da América (adaptado de Nagy et al., 2020)

Fertilização In Vitro e Protocolo de Estimulação Ovárica

No caso específico da fertilização *in vitro* (FIV) com doação de gametas, as taxas de sucesso têm vindo a aumentar, perfazendo a tecnologia de reprodução assistida um a três por cento do total de gravidezes nos Estados Unidos e Europa. O protocolo agonista engloba três passos. O primeiro passo corresponde à administração de um análogo da GnRH sob a forma de injeção subcutânea, sendo que o objetivo é a supressão da hipófise por volta do dia 21 do ciclo menstrual da mulher para evitar o pico de LH correspondente à ovulação antes da punção folicular. A toma diária deve manter-se durante 10 a 14 dias. Após o início da menstruação, o segundo passo envolve a administração de injeção subcutânea diária de FSH. Este passo, à semelhança do anterior, deve ser repetido durante 10 a 14 dias. Quando os folículos primordiais atingirem um tamanho entre 18 e 20 milímetros, é iniciado o terceiro passo com administração por via subcutânea de hCG, de modo a simular o pico de LH endógeno para maturação do ovócito.^{27,28}

A partir da década de 1990, surgiram os antagonistas de GnRH, que apresentam como vantagens em relação aos agonistas de GnRH o facto de se obter supressão da hipófise mais rapidamente e de serem necessárias menos injeções subcutâneas. Não obstante, estes estão associados a maiores custos.^{27,29,30} Este protocolo, que tem vindo a ser cada vez mais utilizado em detrimento do anterior, exerce a sua função pelo antagonismo competitivo dos recetores hipofisários de GnRH, impedindo o mecanismo que leva ao pico de LH.³⁰

A punção folicular com extração dos ovócitos deve ser feita por punção aspirativa transvaginal guiada por ecografia em 34 a 38 horas após administração de hCG, sob sedação, sendo normalmente aproveitados cerca de 10 a 20 ovócitos. De seguida, os ovócitos são depositados num meio semelhante ao fluído das trompas de Falópio e incubados para que, posteriormente, se realize a fecundação mediante adição de espermatozóides, sendo esta tipicamente observada 12 a 20 horas após adição. Esse fim faz parte da chamada tecnologia de reprodução assistida em que ocorre manipulação de óvulos e espermatozoides *in vitro* em contexto laboratorial.²⁷

Os embriões com melhor grau morfológico são transferidos e implantados no útero da recetora com auxílio de um cateter transcervical flexível. Este processo ocorre normalmente três a cinco dias a seguir à fecundação.²⁷

Para aumentar a recetividade do endométrio da mulher recetora é administrada progesterona exógena após a punção folicular com prolongamento até, no mínimo, à oitava semana de gestação.²⁷

A FIV acarreta alguns riscos, sendo o mais alarmante a síndrome de hiperestimulação ovárica. Inicia-se por uma dor abdominal nos quadrantes inferiores, dias após extração dos ovócitos, e deve-se à presença de quistos ováricos funcionais. A sua gravidade relaciona-se com o aumento da permeabilidade vascular e consequentemente com algumas adversidades como desequilíbrios hidroeletrólíticos, ascite e insuficiência renal. Esta condição pode ser fatal devido a lesão de órgãos-alvo ou fenómenos tromboembólicos, mas, normalmente, tem resolução espontânea por volta das oito semanas de gestação com tratamento de suporte. Outro problema relaciona-se com a implantação de vários embriões no endométrio da recetora de forma a aumentar a probabilidade de ocorrência de gravidez.²⁷ Deste procedimento podem resultar gestações gemelares com risco de parto pré-termo, pelo que se aconselha a transferência de no máximo 2 embriões.^{27,31} Nos últimos anos, a escolha de óvulos de qualidade em detrimento da quantidade tem sido preferida devido, em grande parte, à possibilidade de criopreservação (Figura 7).²⁶

É ainda importante referir que, ao longo deste processo, a dadora vai sendo monitorizada ecograficamente e através de análises sanguíneas direcionadas, de forma a evitar complicações como as supramencionadas e para que se obtenha sucesso no final do procedimento.²⁸

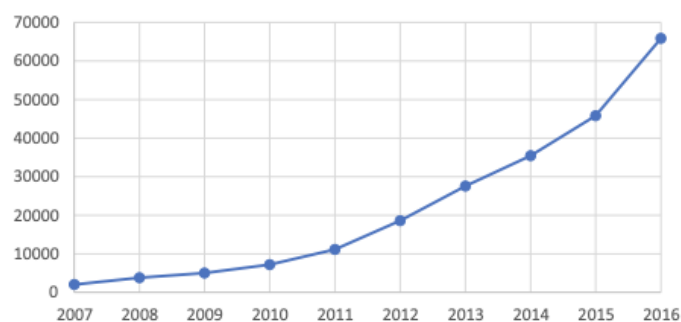


Figura 7 - Número de procedimentos de FIV com recurso à criopreservação de óvulos nos Estados Unidos da América (adaptado de Nagy et al., 2020)

Bancos de Gâmetas

A existência de bancos de gâmetas é relativamente recente. A doação de óvulos surgiu após a doação de espermatozóides, tendo o primeiro banco de gâmetas masculino surgido em 1964 nos Estados Unidos da América.³² Devido à complexidade de obtenção de ovócitos em relação à aquisição de espermatozóides, o estabelecimento de bancos com doação de gâmetas femininos atrasou algumas décadas.³³

Existem vários centros de gâmetas na Europa para além de Portugal, nomeadamente na Bélgica, Finlândia, Holanda, Espanha, Reino Unido e Rússia. É transversal a todos os bancos a necessidade das dadoras não manifestarem nenhuma alteração fenotípica desfavorável e não apresentarem certos fatores precipitantes de doença, como é o caso do tabagismo.³³ A compensação monetária varia dependendo da legislação em vigor de determinado país. No caso de Portugal, as dadoras são ressarcidas pelas despesas e possíveis danos físicos ou psicológicos que têm com o processo num valor equivalente a duas vezes o indexante de apoios sociais em vigor aquando da dádiva. Para além disso, as candidatas ficam isentas do pagamento de taxas moderadoras do Serviço Nacional de Saúde durante o período de três anos.³⁴

A escassez de dadoras de óvulos é algo comum na Europa.³³

Banco Público de Gâmetas Português

Em 2008, foi concebido o Projeto de Incentivos à PMA no âmbito do Programa Nacional de Saúde Reprodutiva da Direção-Geral da Saúde. Esta iniciativa levou a um aumento do número de ciclos de FIV nos Centros Públicos de PMA, o que fez com que o Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida tivesse necessidade de sugerir a criação de um Banco Público de Gâmetas. Em fevereiro de 2011 deu-se, então, a aprovação da criação do Banco de Gâmetas no Centro de Procriação Medicamente Assistida do Centro Hospitalar Universitário do Porto, no Centro Materno Infantil do Norte.³⁵

O acesso alargado a todos os casais e a todas as mulheres à PMA, independentemente do seu estado civil, orientação sexual ou diagnóstico de infertilidade, assim como o acesso à gestação de substituição, aprovados na Lei nº 17/2016 de 20 de junho, e na Lei nº 25/2016 de 22 de agosto, respetivamente, vieram aumentar a necessidade da criação de uma rede nacional de Centros Públicos de PMA afiliados ao Banco de Gâmetas. Assim, em janeiro de 2017, para além do CHUP com atividade no norte do país, associaram-se outros dois centros de colheita, o Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra e o Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central (Unidade de PMA da Maternidade Dr. Alfredo da Costa).^{35,36}

Para uma doação segura e sem intercorrências, há um conjunto de normas a cumprir transversais a todos os centros de doação de gâmetas. A candidata terá de ter entre 18 e 35 anos, não deverá ter doenças sexualmente transmissíveis nem doenças hereditárias para iniciar o processo, sendo que este garante o anonimato e cumpre critérios de confidencialidade para quem aceder à informação.^{34,37} No entanto, em 2018 deixou de estar garantida a confidencialidade das dadoras de gâmetas, uma vez que, atualmente, é possível obter

informação sobre a origem genética e identificação civil do dador para pessoas nascidas de procedimentos de PMA com idade igual ou superior a 18 anos, assim como autorização ao conhecimento de impedimento legal a programado casamento para idade igual ou superior a 16 anos.³⁸

Os tratamentos de infertilidade com doação de ovócitos são cada vez mais frequentes. O recrutamento de dadoras de ovócitos é um processo exigente e dispendioso e todos os instrumentos de avaliação das candidatas, nomeadamente os testes de reserva ovárica, são fundamentais na sua seleção. Para que seja possível culminar numa doação efetiva, a dadora terá de passar por três etapas consecutivas: consulta de avaliação da fertilidade, estimulação ovárica e colheita de óvulos.³⁴

A lei portuguesa prediz que uma mulher possa doar ovócitos quatro vezes ao longo da vida com espaçamento de três meses entre elas.³⁹

Seleção das candidatas a dadoras de óvulos

A seleção das candidatas a dadoras por parte do BPG inicia-se com uma entrevista e incide em características gerais como dados demográficos e escolaridade. Além disso, entre outros temas, é questionado como foi obtido o conhecimento do processo de doação, se tem dúvidas quanto à sua decisão e se no futuro o seu ato terá consequências para si, assim como se terá necessidade de conhecer a criança nascida. A candidata é ainda abordada com a possibilidade de mudar de decisão caso as circunstâncias da sua vida mudem, como é o caso de casar ou engravidar.⁴⁰

Seguidamente, tem início a primeira consulta com a avaliação e seleção da candidata a dadora, em que a análise tem em conta uma série de parâmetros apresentados na Tabela I.³⁷

Tabela I - Avaliação da candidata a dadora de óvulos

≥ 18 e ≤ 35 anos
Estado de saúde (história clínica, reprodutiva, sexual, médica, cirúrgica e hábitos de vida)
Ausência de patologia infecciosa transmissível
Ausência de patologia familiar
Ausência de patologia hereditária
Ausência de patologia genética
Avaliação psicológica (risco de coação financeira ou emocional)
Colheita de citologia cérvico-vaginal
Realização de ecografia pélvica transvaginal
Colheita de sangue para análises

O estudo analítico é programado logo que a candidata contacta o BG, preferencialmente no início do ciclo menstrual, e engloba vários parâmetros: hormona anti-mülleriana (AMH), prolactina, T3L, T4L, TSH, hemoleucograma e plaquetas, bioquímica geral (estudo da função hepática e renal, dislipidemias), marcadores víricos (CMV, hepatites B e C, HIV I e II, VDRL, HTLV I/II em candidatas que vivam ou sejam provenientes das regiões com elevada incidência), grupo sanguíneo (sistema ABO e fator Rh), estudo da coagulação e estudo genético (cariótipo, síndrome de X frágil, atrofia muscular espinhal, fibrose quística e hemoglobinopatias).⁴¹

Caso o estudo analítico não manifeste alterações, sucede a avaliação psicológica relativamente a distúrbios psiquiátricos, fatores de stress, relações interpessoais, motivação, avaliação de ligação emocional à dádiva e evidência de coação. Esta é realizada a sós com a candidata após a entrevista médica e, se houver suspeita de patologia grave, é imperativa uma segunda avaliação para estabelecer possível diagnóstico de doença do foro psicológico.⁴²

Um dos objetivos desta triagem cuidada de dadoras é, desde logo, a identificação de fatores de exclusão para impedir o prosseguimento do processo de PMA atempadamente. Para que a exclusão seja efetuada, basta estar presente um dos fatores mencionados na Tabela II. A candidata é ainda referenciada para consulta da especialidade do problema relatado, se for o caso.⁴³

Tabela II - Critérios de exclusão de candidatas a dadoras

História clínica não satisfatória
Índice de massa corporal > 35 kg/m ²
Ausência de coitarca
Avaliação negativa da consulta de psicologia
Contagem de folículos antrais < 5 e AMH ≤ 1 ng/ml
Patologia genética
Serologias alteradas
Alteração da função tiroideia e/ou hipofisária
Antecedentes de síndrome de hiperestimulação ovárica em ciclo de estimulação anterior
Menos de 6 folículos em desenvolvimento em ciclo de estimulação
Má qualidade ovocitária (excluída para eventual novo ciclo de dádiva; dadora informada no dia da consulta pós-punção)

Tendo a avaliação da candidata um parecer favorável, esta será contactada pelo BG para iniciar estimulação folicular e respetiva punção sob sedação.⁴¹

Objetivos

A doação de óvulos tem sido vista como fonte de altruísmo para com as mulheres incapazes de gerar descendência, pelo que se tem verificado um aumento do número de doações.⁴⁴⁻⁴⁶

Esta investigação tem como finalidade caracterizar a fertilidade da população feminina dadora de óvulos no Banco Público de Gâmetas do Centro Materno Infantil do Norte, entre 2011 e 2021. O objetivo é correlacionar o número de ovócitos maduros obtidos com as características biológicas das dadoras, nomeadamente os marcadores de reserva ovárica (avaliar se os níveis de AMH poderiam funcionar como um bom marcador para selecionar as candidatas a dadoras), para que se possa inferir sobre parâmetros de fertilidade populacionais.

A importância deste estudo relaciona-se com a necessidade de criar valores *cutoff* de AMH para otimizar o método de seleção das candidatas a doação de gâmetas.

Material e Métodos

Colheita de dados

As candidatas a dadoras de óvulos do BPG, registadas desde junho de 2011 a setembro de 2021, perfazendo um período de análise de dez anos, foram incluídas neste estudo.

A colheita de dados com recurso à base de dados do BPG englobou uma série de parâmetros: idade, nacionalidade, índice de massa corporal, profissão, estado civil, escolaridade, grupo sanguíneo (sistema ABO e fator Rh), estudo genético (cariótipo, fibrose quística, atrofia muscular espinal e síndrome de X frágil), número de doações anteriores assim como gravidezes, número de filhos vivos, nados mortos, abortamentos prévios (espontâneos ou provocados), hábitos tabágicos, alcoólicos, de estupefacientes ou ocupacionais, história médica atual e prévia (patologias, cirurgias, medicação crónica e comportamentos de risco), história familiar (patologias ligadas ao cromossoma X, síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, trissomias 13 e 18, espinha bífida, lábio leporino, osteogénese imperfeita tipo I/II/III/IV, acondroplasia, distrofia muscular de Steinert, atrofia muscular espinhal, fibrose quística, diabetes, doença metabólica congénita, hemocromatose, défice de 21 hidroxilase, β -talassemia, drepanocitose, fator V de Leiden, neoplasia da mama, ovário ou cólon, retinoblastoma, neurofibromatose, miopia simples ou maligna, mucopolissacaridose, rim poliquístico, focomielia, estenose pilórica congénita, doença cardíaca congénita, atraso mental, senilidade precoce, infertilidade e défice imunitário), história neurológica e psiquiátrica (patologias pessoais ou familiares como doença bipolar, epilepsia, suicídio, coreia de Huntington e esquizofrenia), história ginecológica (menarca, ciclo menstrual regular ou irregular, presença ou ausência de dismenorreia, início da atividade sexual e tipo de contraceção), marcadores de reserva ovária (doseamento da hormona anti-mülleriana e contagem dos folículos antrais na ecografia pélvica) e parâmetros do ciclo de estimulação controlada dos ovários para doação (tipo e dose de gonadotrofinas utilizadas, dias de estimulação e número de ovócitos obtidos). A avaliação psicológica e motivo de rejeição da dádiva, quando presentes, também foram analisados.

É de referir que o anonimato dos candidatos foi mantido e que a colheita dos dados e análise estatística foram aprovadas pela Comissão de Ética para a Saúde, pelo Gabinete Coordenador de Investigação, pela Direção do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do CHUP e pelo seu Presidente do Conselho de Administração [REF.^a 2021-288(234-DEFI/242-CE)].

Análise Estatística

O tratamento dos dados foi realizado com auxílio da plataforma estatística SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 27 para Windows. A análise envolveu medidas de estatística descritiva (frequências absolutas e relativas, médias e respectivos desvios-padrão) e estatística inferencial. O nível de significância para rejeitar a hipótese nula foi fixado em $(\alpha) \leq 0,05$. Os níveis de significância apresentam-se como: * para $p < 0,05$, ** para $p < 0,01$ e *** para $p < 0,001$.

Foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson, curva de ROC, o coeficiente de correlação de Spearman, o teste t de Student para amostras independentes, o teste de Mann-Whitney, a Anova One-Way e o teste de Kruskal-Wallis. A normalidade de distribuição foi analisada com o teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade de variâncias com o teste de Levene.

Resultados

Descrição sociodemográfica

A amostra populacional de dadoras de óvulos englobou 466 mulheres, correspondendo ao total de inscrições no Banco Público de Gâmetas e centros afiliados até setembro de 2021.

As candidatas, maioritariamente caucasianas (90,6%), apresentam idades compreendidas entre 18 e 35 anos de idade, sendo a respetiva média de 30 anos. A nacionalidade portuguesa assim como a residência no distrito do Porto são as mais frequentes. Uma grande percentagem de mulheres (76,7%) estava solteira no momento da candidatura. É de referir ainda que cerca de 32,6% das mulheres eram estudantes universitárias (Tabela III).

A média do índice de massa corporal das candidatas é de 23,67 kg/m² (Tabela IV). Relativamente ao fenótipo da amostra, mais de 80% das mulheres apresentavam cabelo e olhos de cor castanha. Além disso, mais de metade da amostra apresentava cabelo liso (Tabela V).

Foram excluídas 344 candidatas, uma vez que não concluíram o processo de doação, estando representado na Tabela VI os motivos de rejeição relatados com maior frequência. O motivo de rejeição mais frequente foi a não comparência nas consultas de seguimento ou desistência do processo de doação. O presente estudo incidiu nas 122 mulheres restantes.

Nas Tabelas VII e VIII estão descritos o índice de massa corporal das dadoras efetivas (22,84 kg/m²) e o fenótipo das mesmas, que corresponde aos resultados obtidos para a amostra total.

Conforme estipulado no protocolo de seleção das candidatas, estas foram submetidas a estudo genético. 4,6% das mulheres apresentaram alteração no gene CFTR relacionado com fibrose quística contrariamente à análise da atrofia muscular espinal e do cariótipo que não evidenciaram alterações. Apenas uma mulher apresentou pré-mutação para a síndrome de X frágil (Tabela IX).

História ginecológica e obstétrica e estilo de vida das candidatas

A amostra selecionada foi ainda sujeita a avaliação da história ginecológica e obstétrica, história médica, psiquiátrica e familiar. Relativamente à história ginecológica e obstétrica, uma percentagem mínima de mulheres tinha realizado doação de gâmetas (11,5% fez uma doação prévia e 1,6% fez duas doações). No entanto, na base de dados digital do BPG não havia registo do número de ovócitos doados previamente nem do número de amostras obtidas mediante

punção folicular. Do estudo realizado, 33 mulheres tinham história de gravidezes bem-sucedidas e, das mulheres que sofreram abortamento (13,2%), 75% deles foram provocados. O tipo de contraceção maioritariamente aplicado corresponde a anovulatórios e, simultaneamente, método barreira com uma percentagem de 48,6%. A idade média da menarca corresponde a 12 anos com desvio-padrão de $\pm 1,78$ e o início da atividade sexual a 17 anos com desvio-padrão de $\pm 2,08$, tendo em conta que hímen íntegro equivale a rejeição da candidata (Tabela X).

Foram ainda analisados possíveis fatores de risco que possam comprometer a doação de gâmetas femininos, nomeadamente o tabagismo, hábitos alcoólicos, consumo de estupefacientes, exposição a substâncias químicas e exposição a radiações. Cerca de 17,4% das mulheres apresentavam hábitos tabágicos – a maioria (95,2%) fumavam menos de um maço por dia. Relativamente aos hábitos alcoólicos, nenhuma das dadoras da amostra selecionada apresentava consumos significativos, sendo que a variável “hábitos alcoólicos” foi dividida em “sim” correspondendo a consumos frequentes e “não” relativo a ausência de consumo ou consumo esporádico. Apenas uma candidata consumia haxixe e canábis esporadicamente e apenas duas candidatas estiveram expostas a substâncias químicas, nomeadamente a ácidos, metanol e fenol. Nenhuma candidata apresentou exposição a radiações (Tabela XI).

Protocolo de estimulação

A amostra de candidatas selecionada foi submetida a estimulação controlada dos ovários. Em todos os casos foram utilizados antagonistas de GnRH e mais de 50% das mulheres foram sujeitas a gonadotrofinas recombinantes. Na Tabela XII é apresentada a média e respetivo desvio-padrão dos dias e dose de estimulação aplicada, do número e tamanho de folículos obtidos (inferiores e iguais ou superiores a 15 milímetros) e do número de ovócitos criopreservados/usados a fresco.

É de destacar o facto do uso de ovócitos criopreservados ter aumentado ao longo dos anos em detrimento de ovócitos usados a fresco (Tabela XIII).

Análise estatística do doseamento de hormona anti-mülleriana

Um dos indicadores de reserva ovárica é o valor de AMH que, na amostra populacional deste estudo, foi registado em 75 mulheres e concentrou os seus valores entre 1 e 8,59 ng/mL com uma média de 3,81 ng/mL (Tabela XIV).

Por esse motivo, foi avaliada a relação do valor de AMH com uma série de variáveis: idade, IMC, dias de estimulação e dose total de gonadotrofinas, número e tamanho de folículos obtidos (inferiores e iguais ou superiores a 15 milímetros), número de ovócitos obtidos e número de folículos antrais na ecografia pélvica, assim como a sua relação com o tabagismo, história psiquiátrica, médica e familiar. É de notar que não foi possível a análise estatística da associação do valor de AMH com o estudo genético e doenças relevantes da dadora, assim como com fatores de risco, à exceção dos hábitos tabágicos, uma vez que a percentagem de alterações nesses parâmetros era nula ou bastante reduzida.

Foram encontradas correlações significativas entre o valor de AMH e o número de folículos com tamanho igual ou superior a 15 mm, com o número de folículos com tamanho inferior a 15 mm, com o número de folículos antrais e o número de ovócitos obtidos. Como os coeficientes de correlação são positivos, isso significa que quanto mais elevados são os valores de AMH mais elevados são o número de folículos (independentemente do seu tamanho), o número de folículos antrais e o número de ovócitos obtidos. A correlação com a dose total é negativa, ou seja, a um valor baixo de AMH corresponde um valor elevado de dose total administrada no protocolo de estimulação (Tabela XV). As candidatas que apresentam história psiquiátrica considerável apresentam valores de AMH significativamente mais baixos (Tabela XVI).

Análise estatística do número de ovócitos obtidos

De forma semelhante, foi realizado o mesmo estudo para o número de ovócitos. A análise estatística da relação do número de ovócitos com o estudo genético, com doenças relevantes da dadora, com fatores de risco, à exceção dos hábitos tabágicos, e com a história psiquiátrica não foi efetuada, uma vez que a percentagem de alterações nesses parâmetros era nula ou bastante reduzida.

Foram encontradas correlações significativas entre o número de ovócitos obtidos e o número de folículos independentemente do seu tamanho e o número de folículos antrais observados. Como os coeficientes de correlação são positivos, isso significa que quanto mais elevado é o número dos parâmetros analisados, maior é o número de ovócitos obtidos. A correlação é negativa relativamente à idade, ou seja, quando aumenta a idade diminui o número de ovócitos obtidos (Tabela XVII). As candidatas que apresentam história familiar considerável apresentam um número de ovócitos obtidos significativamente mais elevado (Tabela XVIII).

Valor de cutoff de hormona anti-mülleriana

Foi ainda feita a pesquisa de um valor de *cutoff* de AMH para selecionar candidatas a dadoras de óvulos na amostra inicial de 466 mulheres. A variável quantitativa estudada foi o valor de AMH e a variável qualitativa foi relativa à conclusão da doação, em que “sim” correspondia a doação de gâmetas concluída, correspondendo a 75 mulheres, e “não” a baixa reserva ovárica, correspondendo a 10 mulheres (Tabela XIX).

A Tabela XX demonstra a área sob a curva de ROC (0,961), evidenciada também na figura 8, que é estatisticamente significativa ($p < 0,001$), pelo que o modelo apresenta uma capacidade discriminativa excelente. Posto isto, o *cutoff* sugerido para o valor de AMH para que a doação seja concluída com sucesso é de 1,12 ng/mL.

Tabela XX - Relação entre o valor de AMH e a conclusão da doação

Test Result Variable(s): AMH				
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,961	,024	,000	,914	1,000
a. Under the nonparametric assumption				
b. Null hypothesis: true area = 0.5				

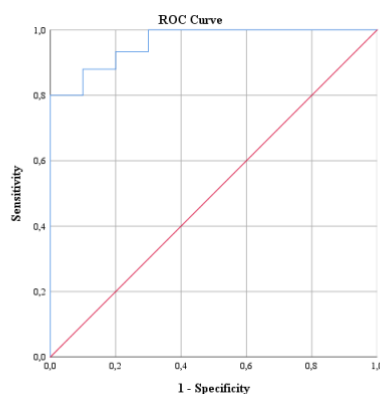


Figura 8 - Área sob a curva de ROC relativa à relação do valor de AMH com a conclusão da doação

Discussão

O estudo das dadoras de gâmetas inscritas no BPG de 2011 a 2021 permite inferir resultados sobre a fertilidade da população nacional feminina e obter características relacionadas com o sucesso da doação e, por outro lado, características que impedem a conclusão da mesma.

A amostra populacional constituída por 466 mulheres essencialmente caucasianas, em que 76,7% eram solteiras e 32,6% estudantes universitárias, apresentava uma idade média de 30 anos e IMC médio dentro do normal, o que satisfaz os critérios de doação.³⁷ Mais de 80% da amostra apresentava cabelo e olhos de cor castanha assim como mais de 50% apresentava cabelo liso, o que denota pouca heterogeneidade da mesma. A nacionalidade portuguesa verificou-se em 405 mulheres e, destas, 225 residiam no distrito do Porto, seguindo-se Braga com 37 candidatas, Aveiro com 28 candidatas, Lisboa com 22 candidatas e Coimbra com 20 candidatas. Este facto vem demonstrar o funcionamento residual dos centros afiliados de Coimbra e Lisboa, durante o período de análise, limitando a extrapolação deste estudo para a população nacional.

Foram excluídas candidatas, maioritariamente por desistência ou não comparência nas consultas de seguimento, pelo que a presente análise sofreu uma redução na amostra populacional para 122 mulheres. Para ser possível obter um maior número de doações, seria benéfico explorar os motivos de desistência. Ainda assim, é importante referir que 47 mulheres não foram incluídas no estudo por apresentarem o processo em aberto (a aguardar análises laboratoriais ou em estimulação folicular, por exemplo).

Relativamente ao estudo genético, 5 mulheres apresentaram alteração no gene CFTR relacionado com fibrose quística e 1 mulher apresentou pré-mutação para síndrome de X frágil, sabendo-se, hoje em dia, que a mutação no gene FMR1 se relaciona com risco de transmissão à descendência e risco de insuficiência ovárica prematura.^{47,48} Segundo o estudo de Payne *et al.*, 6 de 110 dadoras de gâmetas apresentavam mutação no gene CFTR, pelo que, perante uma dimensão amostral semelhante, se comprova que a alteração nesse gene é bastante reduzida.⁴⁹

Hábitos tabágicos, hábitos alcoólicos, consumo de estupefacientes e exposição a substâncias químicas ou radiações foram alguns dos fatores de risco analisados. No entanto, não foi demonstrada influência destes parâmetros na doação, uma vez que a percentagem de mulheres que apresentava algum desses fatores de risco era nula ou bastante reduzida.

Relativamente a conclusões obtidas por outros estudos, é de notar que a estimulação ovárica era bastante reduzida em dadoras fumadoras comparativamente com dadoras não

fumadoras (Freour *et al.*, 2018)⁵⁰, aspeto corroborado também por Melnick *et al.* que relacionou o tabagismo com a diminuição da fertilidade em dadoras de ovócitos.⁴⁶ No presente estudo, 17,4% das candidatas apresentavam hábitos tabágicos, no entanto, 95,2% fumavam menos de um maço por dia. Os resultados obtidos por dadoras com uma baixa carga tabágica (inferior a 10 cigarros por dia) equivalem a doações com mulheres não fumadoras, pelo que o risco de um desfecho desfavorável advém essencialmente de cargas tabágicas elevadas.^{51,52}

Apenas uma dadora apresentava consumo esporádico de haxixe e canábis. No entanto, a relação entre o consumo de estupefacientes e a fertilidade não está estabelecida, uma vez que se verifica a existência de vários estudos contraditórios.⁵³

Embora não tenha sido reportado nenhum consumo excessivo de álcool na presente amostra populacional, o alcoolismo associa-se à diminuição da fertilidade, mas, segundo Silvestris *et al.*, é a exposição a substâncias químicas e poluentes ambientais que provoca mutações genéticas irreparáveis nos gâmetas, situação experienciada por duas candidatas deste estudo.⁵⁴

A exposição a radiações, especialmente derivada de ciclos de tratamento de neoplasia, podem vir a comprometer a fertilidade da mulher, apesar de não ter sido verificado nenhum caso neste estudo. Fatores como a localização corporal da incidência da radiação, a dose e intensidade da mesma, a idade da doente e o uso de quimioterapia combinada influenciam o risco de desenvolver problemas do foro reprodutivo a curto ou a longo prazo.⁵⁵

O número de ovócitos criopreservados tem vindo a ser superior ao número de ovócitos usados a fresco, conforme evidenciado no presente estudo, sendo que estes reduzem o custo por ciclo de tratamento.²⁵

O doseamento de AMH, marcador de reserva ovárica, foi feito em 75 mulheres e observou-se que, quanto mais elevado o valor de AMH, mais folículos e ovócitos se obtêm. Este facto é comprovado pela literatura, que acrescenta que existe uma correlação positiva entre o valor de AMH e a CFA e uma correlação negativa entre o valor de AMH e FSH.^{56,57} Na análise estatística deste estudo não se obteve uma correlação significativa entre o doseamento de AMH e a idade ou IMC das dadoras. No entanto, vários estudos confirmam que o valor de AMH decresce com o aumento da idade, tendo este decréscimo um início essencialmente a partir dos 25 anos, assim como com o aumento do IMC.⁵⁷⁻⁵⁹

Adicionalmente, determinou-se que a idade apresenta uma relação inversamente proporcional com o número de ovócitos obtidos, sendo o envelhecimento um fator incontornável para o declínio da fertilidade.⁶⁰

A falta de um valor padrão de AMH a nível internacional dificulta a comparação entre diferentes estudos.⁶¹ Além disso, existem vários *kits* laboratoriais para doseamento desta

hormona, o que leva a uma variabilidade de resultados entre os diferentes centros médicos.⁶² A Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia indica que valores de AMH inferiores a 0,5-1,1 ng/mL se associam a uma baixa reserva ovárica.⁶³ No presente estudo, foi sugerido o valor de *cutoff* de AMH de 1,12 ng/mL em que, para doseamentos acima deste valor, a doação é concluída com sucesso. Um estudo realizado por Baker *et al.* previu um valor de corte próximo ao projetado para AMH: 0,93 ng/mL.⁶⁴ Segundo Polyzos *et al.*, dadoras de gâmetas com baixo doseamento de AMH apresentaram um menor número de ovócitos após estimulação com antagonista de GnRH comparativamente com dadoras com valores mais altos da mesma hormona.⁶⁵ Além disso, mulheres fumadoras apresentam valores de AMH mais baixos comparativamente com mulheres não fumadoras que apresentam valores mais altos.⁶⁶

Observou-se ainda que quanto mais baixo for o doseamento de AMH, maior é a dose a ser administrada na estimulação ovárica, facto corroborado por Nakhuda *et al.*⁶⁷

Os resultados estatísticos da correspondência entre patologia psiquiátrica e valores de AMH mais baixos assim como presença de história familiar considerável e número de ovócitos obtidos mais elevado não demonstram ser achados de importância significativa e, além disso, não são suportados pela literatura.

Limitações

O facto de o doseamento de AMH ter sido referido apenas em 75 das 122 candidatas deve-se ao início tardio do seu registo, pelo que se aconselha um estudo futuro com uma maior amostra de dadoras de gâmetas femininos.

Conclusão

O estudo da saúde reprodutiva das dadoras de gâmetas do BPG beneficia com a homogeneização do valor de *cutoff* de AMH para uso nacional, mediante uniformização da técnica laboratorial nos centros médicos, assim como com a percepção de fatores comprometedores do sucesso da doação. Desta forma, será possível uma seleção mais rigorosa das candidatas com o propósito de aumentar a taxa de sucesso das doações.

Apêndices

Tabelas

Tabela I - Avaliação da candidata a dadora de óvulos

≥ 18 e ≤ 35 anos

Estado de saúde (história clínica, reprodutiva, sexual, médica, cirúrgica e hábitos de vida)

Ausência de patologia infecciosa transmissível

Ausência de patologia familiar

Ausência de patologia hereditária

Ausência de patologia genética

Avaliação psicológica (risco de coação financeira ou emocional)

Colheita de citologia cérvico-vaginal

Realização de ecografia pélvica transvaginal

Colheita de sangue para análises

Tabela II - Critérios de exclusão de candidatas a dadoras

História clínica não satisfatória

Índice de massa corporal > 35 kg/m²

Ausência de coitarca

Avaliação negativa da consulta de psicologia

Contagem de folículos antrais < 5 e AMH ≤ 1 ng/ml

Patologia genética

Serologias alteradas

Alteração da função tiroideia e/ou hipofisária

Antecedentes de síndrome de hiperestimulação ovárica em ciclo de estimulação anterior

Menos de 6 folículos em desenvolvimento em ciclo de estimulação

Má qualidade ovocitária (excluída para eventual novo ciclo de dádiva; dadora informada no dia da consulta pós-punção)

Tabela III - Caracterização sociodemográfica de amostra populacional de dadoras de gâmetas

	N	%
Idade (M; DP)	30,3	4,6
Nacionalidade		
Portuguesa	405	86,9
Brasileira	46	9,9
Outra	13	2,7
Distrito		
Porto	225	60,0
Braga	37	9,9
Aveiro	28	7,5
Lisboa	22	5,9
Coimbra	20	5,3
Outros	43	11,5
Estado civil		
solteira	323	76,7
união de facto	43	10,2
casada	46	10,9
divorciada	9	2,1
Escolaridade		
6º ano	50	10,9
9º ano	217	47,5
12º ano	129	28,2
bacharelato	6	1,3
mestrado	54	11,8
doutoramento	1	0,2
Etnia		
caucasiana	415	90,6
raça negra	7	1,5
mista	34	7,4
amarela/asiática	1	,2
cabôclo	1	,2
Profissão		
estudante universitária	141	32,6
desempregada	39	9,0
administrativa	24	5,6
empregada restauração	21	4,9
outra	207	47,9

Tabela IV - Caracterização antropométrica da amostra de candidatas a dadoras de gâmetas

	M	DP
Peso	63,24	11,61
Altura	163,10	6,31
IMC	23,67	4,06

Tabela V - Fenótipo da amostra populacional de candidatas a dadoras de gâmetas

	N	%
Cor do cabelo		
castanho	401	87,6
loiro	28	6,1
ruivo	2	0,4
Preto	27	5,9
Textura cabelo		
liso	259	56,7
ondulado	42	9,2
encaracolado	156	34,1
Cor do olhos		
castanhos	376	82,1
castanhos esverdeados	16	3,5
azuis	27	5,9
verdes	37	8,1
pretos	2	0,4

Tabela VI - Motivos de rejeição de candidatas a dadoras de óvulos

		Frequenc y	Perce nt	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	História clínica não satisfatória	26	5,6	7,6	7,6
	Não compareceu às consultas/desistência	135	29,0	39,2	46,8
	Valores hormonais alterados	10	2,1	2,9	50,6
	Obesidade	12	2,6	3,5	54,1
	Patologia genética	30	6,4	8,7	69,2
	Baixa reserva ovárica	18	3,9	5,2	74,7
	Processo em aberto	47	10,1	13,7	94,8
	Outros	66			
	Total	344	73,8	100,0	
Missing	System	122	26,2		
Total		466	100,0		

Tabela VII - Caracterização antropométrica da amostra de dadoras efetivas

	M	DP
Peso	61,12	9,45
Altura	163,27	6,24
IMC	22,84	2,98

Tabela VIII - Fenótipo da amostra de dadoras efetivas

	N	%
Cor do cabelo		
castanho	108	88,5%
loiro	10	8,2%
ruivo	0	0,0%
Preto	4	3,3%
Textura cabelo		
liso	73	59,8%
ondulado	12	9,8%
encaracolado	37	30,3%
Cor do olhos		
castanhos	104	85,2%
castanhos esverdeados	4	3,3%
azuis	5	4,1%
verdes	9	7,4%
pretos	0	0,0%
Cor da pele		
branca	114	93,4%
negra	0	0,0%
morena	8	6,6%
castanha escura	0	0,0%

Tabela IX - Estudo genético da amostra de dadoras efetivas

	N	%
<i>Fibrose quística</i>		
normal	103	95,4%
alterado	5	4,6%
<i>Atrofia muscular espinal</i>		
normal	43	100,0%
alterado	0	0,0%
<i>Cariótipo</i>		
normal	116	100,0%
alterado	0	0,0%
<i>X frágil</i>		
alterado	1	0,9%
normal	113	99,1%

Tabela X - História ginecológica e obstétrica

	N	%
Nr. doações anteriores		
nenhuma	106	86,9%
uma	14	11,5%
duas	2	1,6%
Nr. filhos vivos		
um	15	45,5%
dois	16	48,5%
três	2	6,1%
Nr. abortos		
nenhum	106	86,9%
um	13	10,7%
dois	3	2,5%
Tipo aborto		
espontâneo	4	25,0%
provocado	12	75,0%
Contracepção		
anovulatórios	26	24,3%
coito interrompido	1	0,9%
método barreira	10	9,3%
Esterilização cirúrgica	1	0,9%
anovulatórios + método barreira	52	48,6%
DIU + anovulatórios + método barreira	5	4,7%
coito interrompido + anovulatórios + método barreira	5	4,7%
coito interrompido + método barreira + método barreira	1	0,9%
DIU + coito interrompido + anovulatórios + método barreira	1	0,9%
anovulatórios + coito interrompido	2	1,9%
DIU + método barreira	2	1,9%
anovulatórios + DIU	1	0,9%
Início atividade sexual		
Nunca		
Média e desvio padrão dos que iniciaram	17,69	2,08
Menarca (M; DP)	12,37	1,78

Tabela XI - Fatores de risco

	N	%
Hábitos tabágicos		
sim	21	17,4%
não	100	82,6%
Nr. cigarros dia		
menor ou igual a 20 (1 maço)	20	95,2%
não quantificável	1	4,8%
Hábitos alcoólicos		
não	121	100,0%
Estupefacientes		
sim (haxixe/canábis esporadicamente)	1	0,8%
não	120	99,2%
Exposição substâncias químicas		
sim ácidos	1	0,8%
não	119	98,3%
sim metanol e fenol	1	0,8%
Exposição radiações		
fotodepilação		
não	121	100,0%

Tabela XII - Protocolo de estimulação

	N	%
<i>Gonadotrofinas</i>		
recombinante	51	59,3%
biosimilar	1	1,2%
corifolitropina	1	1,2%
todas	3	3,5%
recombinante + biosimilar	25	29,1%
recombinante + corifolitropina	5	5,8%
Dias estimulação (M;DP)	9,24	1,76
Dose total (M;DP)	1924,10	710,75
Nr. folículos ≥ 15mm (M;DP)	9,27	5,38
Nr. folículos < 15mm (M;DP)	12,29	7,82
Nr. ovócitos obtidos (M;DP)	15,27	9,84
Nr. ovócitos criopreservados (M;DP)	8,24	7,95
Nr. ovócitos usados fresco (M;DP)	3,46	6,24

Tabela XIII - Comparação entre o número de ovócitos criopreservados e usados a fresco entre 2011 e 2021

	Número ovócitos criopreservados	Número ovócitos usados a fresco
2011	0	56
2012	0	25
2013	0	58
2014	13	42
2015	6	135
2016	17	57
2017	197	38
2018	261	0
2019	246	9
2020	89	0
2021	200	31

Tabela XIV - Análise estatística de AMH

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
AMH	75	1,00	8,59	3,81	1,92

Tabela XV - Relação dos valores de AMH com a idade, IMC, dias e dose de estimulação, tamanho de folículos, número de folículos antrais e ovócitos obtidos

	AMH
Idade	-,144
IMC	-,145
Dias estimulação	-,157
Dose total	-,341**
Nr folículos ≥ 15mm	,500***
Nr folículos < 15	,456***
Nr ovócitos obtidos	,517***
Nr folículos antrais	,421***

* $p < .05$ ** $p < .01$ *** $p < .001$

Tabela XVI - Relação dos valores de AMH com hábitos tabágicos, história psiquiátrica, médica e familiar

	M	DP	Sig.
Hábitos tabágicos			.533
sim	4,05	1,18	
não	3,80	1,99	
História psiquiátrica			.026*
Normal	3,66	1,82	
Doença	5,92	2,30	
História médica			,937
Normal	3,83	1,95	
Doença	3,79	1,96	
História médica			,548
viajou para países fora da UE	3,75	1,91	
Não viajou	4,09	2,10	
História familiar			,094
Normal	2,87	1,06	
Doença	3,96	1,98	

* $p < .05$ ** $p < .01$ *** $p < .001$

Tabela XVII - Relação do número de ovócitos obtidos com a idade, IMC, dias e dose de estimulação, tamanho de folículo e número de folículos antrais

	Nr. ovócitos obtidos
Idade	-,248**
IMC	,007
Dias estimulação	-,195
Dose total	-,125
Nr folículos ≥ 15mm	,439**
Nr folículos < 15	,589**
Nr folículos antrais	,198*

* $p < .05$ ** $p < .01$ *** $p < .001$

Tabela XVIII - Relação do número de ovócitos obtidos com hábitos tabágicos, história médica e familiar

	M	DP	Sig.
Hábitos tabágicos			,906
sim	14,38	7,56	
não	15,55	10,29	
História médica			,943
Normal	15,31	10,60	
Doença	15,44	8,74	
História médica			.492
Não viajou para países fora da UE	15,03	9,51	
Viajou	17,22	12,01	
História familiar			,015*
Normal	11,09	6,29	
Doença	16,26	10,28	

* $p < .05$ ** $p < .01$ *** $p < .001$

Tabela XIX - Relação do valor de AMH com doação de gâmetas concluída e baixa reserva ovárica

Conclusão doação	Valid N (listwise)
Positive ^a	75
Negative	10
Missing	381

Larger values of the test result variable(s) indicate stronger evidence for a positive actual state.

a. The positive actual state is Sim.

Tabela XX - Relação entre o valor de AMH e a conclusão da doação

Test Result Variable(s): AMH				
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,961	,024	,000	,914	1,000

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Figuras

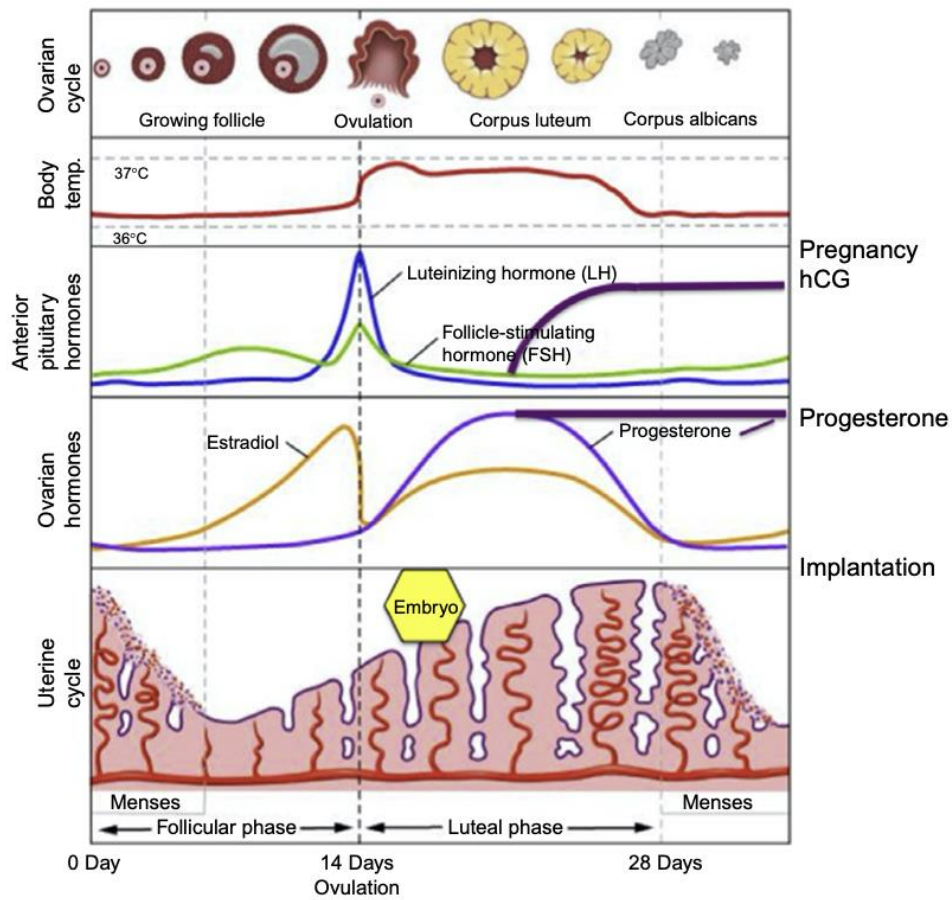


Figura 1 - Ciclo ovário, ciclo endometrial e influência hormonal (adaptado de Richards, J.S., 2018)

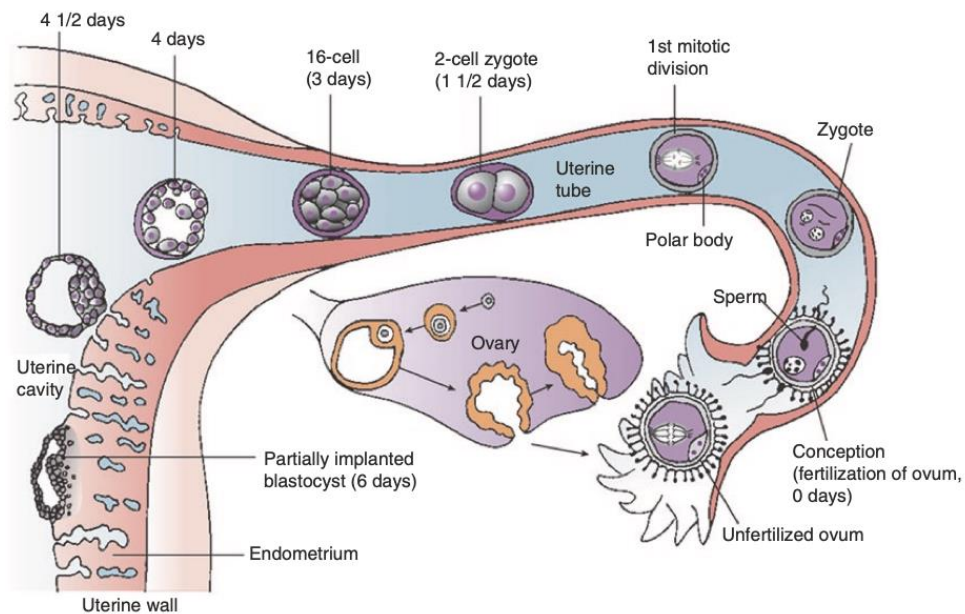


Figura 2 - Processo de implantação endometrial (adaptado de Vogazianou, A., 2019)

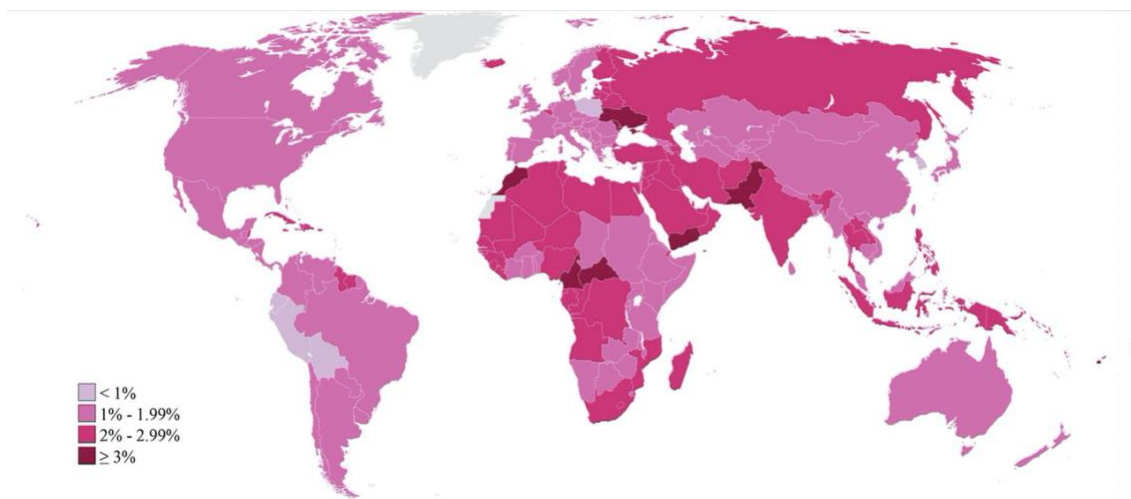


Figura 3 - Prevalência da infertilidade feminina primária (adaptado de Mascarenhas et al., 2012)

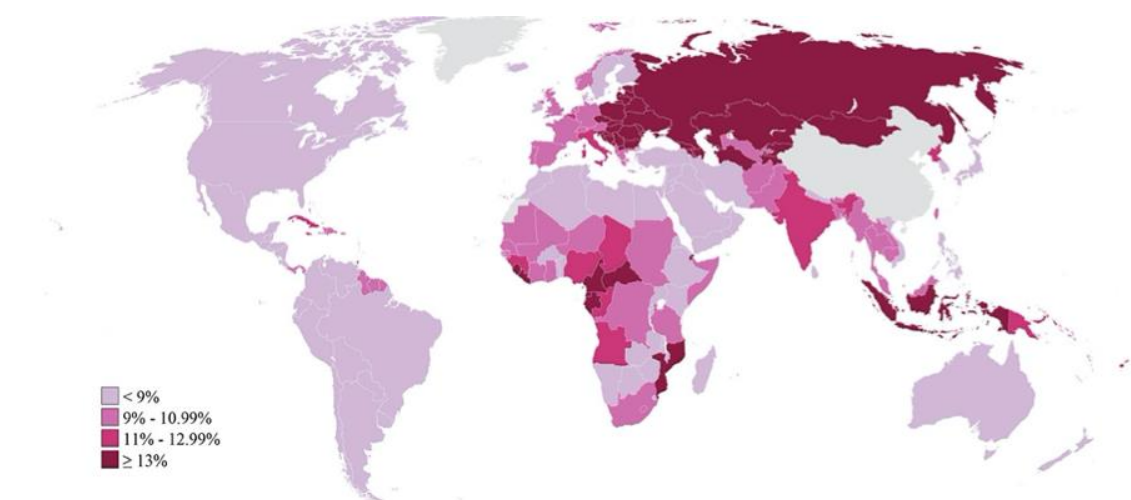


Figura 4 - Prevalência da infertilidade feminina secundária (adaptado de Mascarenhas et al., 2012)

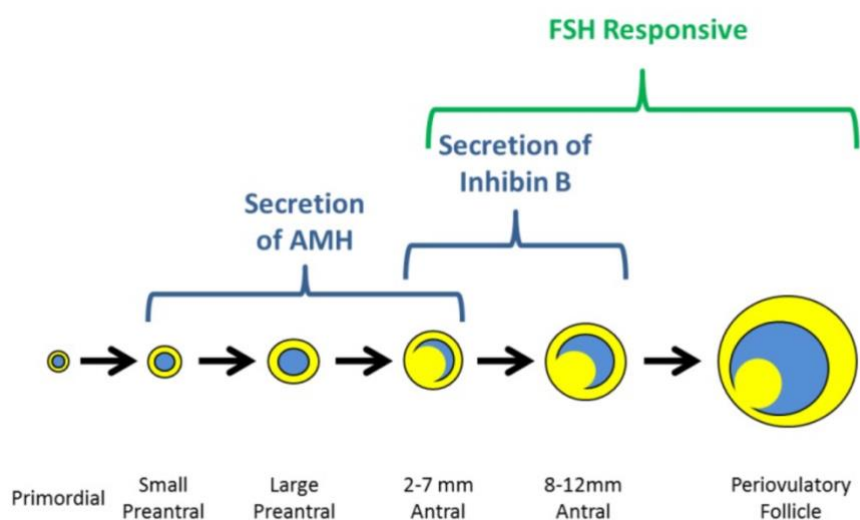


Figura 5 - Desenvolvimento folicular (adaptado de Parry et al., 2019)

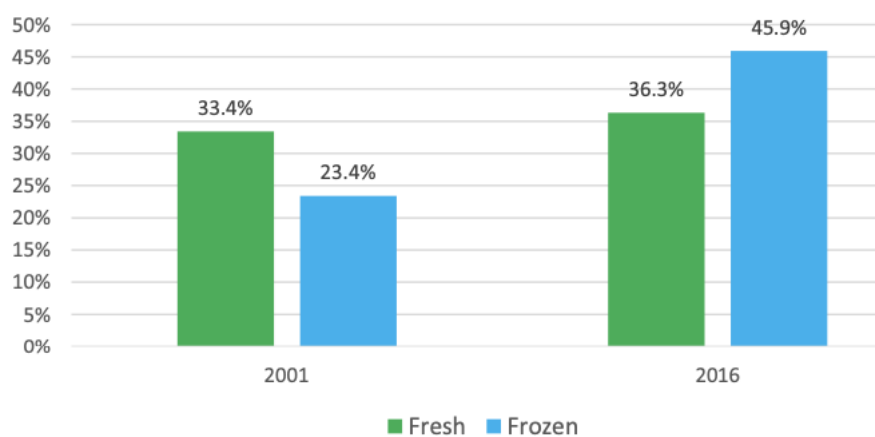


Figura 6 - Percentagem de gravidezes bem-sucedidas com recurso a óvulos usados a fresco e criopreservados nos Estados Unidos da América (adaptado de Nagy et al., 2020)

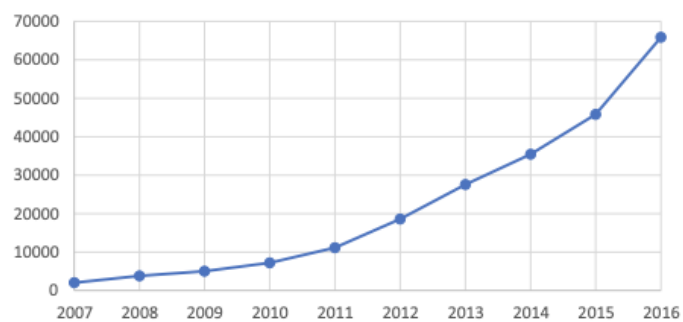


Figura 7 - Número de procedimentos de FIV com recurso à criopreservação de óvulos nos Estados Unidos da América (adaptado de Nagy et al., 2020)

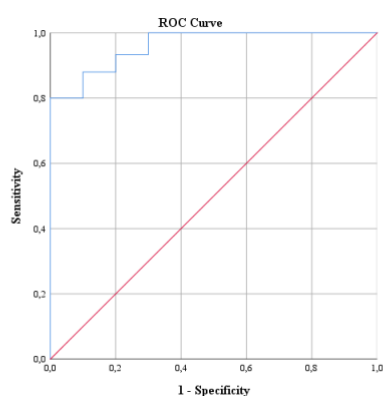


Figura 8 - Área sob a curva de ROC relativa à relação do valor de AMH com a conclusão da doação

Referências bibliográficas

1. Edwards W, Coleman E. Defining Sexual Health: A Descriptive Overview. *Arch Sex Behav*. 2004;33(3):189–95.
2. Gruskin S, Yadav V, Castellanos-Usigli A, Khizanishvili G, Kismödi E. Sexual health, sexual rights and sexual pleasure: meaningfully engaging the perfect triangle. *Sex Reprod Health Matters*. 2019;27(1):1593787.
3. Glasier A, Gülmezoglu AM, Schmid GP, Moreno CG, Van Look PF. Sexual and reproductive health: a matter of life and death. *Lancet*. 2006;368(9547):1595–607.
4. Vogazianou A. Anatomy and Physiology of the Female Reproductive System. In: Llahana S, Follin C, Yedinak C, Grossman A. *Advanced Practice in Endocrinology Nursing*. Cham: Springer; 2019.
5. Richards JS. The Ovarian Cycle. *Vitam Horm*. 2018;107:1–25.
6. Takahashi TA, Johnson KM. Menopause. *Med Clin North Am*. 2015;99(3):521–34.
7. Coticchio G, Lagalla C, Sturmey R, Pennetta F, Borini A. The enigmatic morula: mechanisms of development, cell fate determination, self-correction and implications for ART. *Hum Reprod Update*. 2019;25(4):422–38.
8. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018;62:2–10.
9. Elhussein OG, Ahmed MA, Suliman SO, Yahya LI, Adam I. Epidemiology of infertility and characteristics of infertile couples requesting assisted reproduction in a low-resource setting in Africa, Sudan. *Fertil Res Pract*. 2019;5:7.
10. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2012;9(12):e1001356.
11. Crawford NM, Steiner AZ. Age-related infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2015;42(1):15–25.
12. Jehan S, Syed S. Association of ovarian reserve with age, BMI and serum FSH level in subfertile women. *J Pak Med Assoc*. 2016;66(4):409–13.
13. Coccia ME, Rizzello F. Ovarian Reserve. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1127:27–30.
14. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):370–85.
15. Parry JP, Koch CA. Ovarian Reserve Testing. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al. *Endotext*. South Dartmouth: MDText.com; 2019.
16. Sharma RS, Saxena R, Singh R. Infertility & assisted reproduction: A historical & modern scientific perspective. *Indian J Med Res*. 2018;148:10–14.
17. Moura M, Souza M, Scheffer B. Reprodução assistida: Um pouco de história. *Rev. SBPH*. 2009;12(2):23–42.
18. Lei nº32/2006 - Diário da República nº143/2006, Série I de 2006/07/26.
19. Tratamento com doação de óvulos (FIV/ICSI) (Internet). Coimbra: Ferticentro – Centro de Estudos de Fertilidade. Disponível em <https://www.ferticentro.pt/pt/tecnicas-e-tratamentos/tratamentos/tratamento-com-doacao-de-ovulos-fiv-icsi/>. Consultado pela última vez a 2021/11/08.
20. Santos F. Insuficiência ovárica prematura: marcadores de reserva ovárica (tese de mestrado). Lisboa: Faculdade de Medicina; 2019. 29 p.
21. Chon SJ, Umair Z, Yoon MS. Premature Ovarian Insufficiency: Past, Present, and Future. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:672890.
22. Martinez F, Racca A, Rodríguez I, Polyzos NP. Ovarian stimulation for oocyte donation: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2021;27(4):673–96.
23. Liu Y, Cai L. [Ethical issues of oocyte donation]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2017;34(1):124–27.

24. Lindheim SR, Klock SC. Oocyte donation: lessons from the past, directions for the future. *Fertil Steril*. 2018;110(6):979-80.
25. Kushnir VA, Gleicher N. Fresh versus cryopreserved oocyte donation. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2016;23(6):451–57.
26. Nagy ZP, Shapiro D, Chang CC. Vitrification of the human embryo: a more efficient and safer in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril*. 2020;113(2):241–47.
27. Goldberg JM, Falcone T, Attaran M. In vitro fertilization update. *Cleve Clin J Med*. 2007;74(5):329-38.
28. Eskew AM, Jungheim ES. A History of Developments to Improve *in vitro* Fertilization. *Mo Med*. 2017;114(3):156-59.
29. Nargund G, Datta AK, Fauser BCJM. Mild stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2017;108(4):558–67.
30. Jing M, Lin C, Zhu W, et al. Cost-effectiveness analysis of GnRH-agonist long-protocol and GnRH-antagonist protocol for in vitro fertilization. *Sci Rep*. 2020;10(1):8732.
31. Filicori M, Cognigni GE, Gamberini E, Troilo E, Parmegiani L, Bernardi S. Impact of medically assisted fertility on preterm birth. *BJOG*. 2005;112:113–17.
32. Park NC. Sperm Bank: From Laboratory to Patient. *World J Mens Health*. 2018;36(2):89-91.
33. Quaas AM, Pennings G. The current status of oocyte banks: domestic and international perspectives. *Fertil Steril*. 2018;110(7):1203–08.
34. Banco Público de Gâmetas: Dadores Mulheres (Internet). Serviço Nacional de Saúde. Disponível em <https://s-1.sns.gov.pt/cidadao/banco-publico-de-gametas-2/dadores-mulheres/>. Consultado pela última vez a 2022/03/01.
35. *Despacho nº 679/2017 de 11 de Janeiro - Diário da República nº 8/2017, Série II de 2017/01/11, páginas 1098-99.*
36. Banco Público de Gâmetas: Centros de Colheita (Internet). Serviço Nacional de Saúde. Disponível em <https://www.sns.gov.pt/cidadao/banco-publico-de-gametas-2/>. Consultado pela última vez a 2021/10/01.
37. Banco Público de Gâmetas. IM.CPMA.BG.021/5 – Avaliação e seleção de candidatos a dadores – 1ª consulta.
38. Acórdão do Tribunal Constitucional 225/2018, - Diário da República n.º 87/2018, Série I de 2018/04/24. *Diário da República Eletrónico*. Disponível em <https://dre.pt/home/-/dre/115226940/details/maximized>. Consultado pela última vez a 2021/10/03.
39. Doar óvulos (Internet). Lisboa: IERA Lisboa Quirón Salud. Disponível em <https://ieralisboa.pt/pt/doar-ovulos>. Consultado pela última vez a 2021/10/03.
40. Banco Público de Gâmetas. IM.CPMA.BG.067/3 – Entrevista a dadores.
41. Banco Público de Gâmetas. PTM.CPMA.BG.020/1 – Candidata a dadora feminina – estudo analítico.
42. Banco Público de Gâmetas. IT.CPMA.BG.028/5 – Avaliação psicológica de dadores de gâmetas.
43. Banco Público de Gâmetas. IT.CPMA.BG.056/3 – Critérios de exclusão de candidata a dadora de ovócitos.
44. Borgstrøm MB, Nygaard SS, Danielsen AK, Kesmodel US. Exploring motivations, attitudes and experiences of oocyte donors: A qualitative study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(8):1055-62.
45. Wyns C, Gliozheni O, Hambartsoumian E, et al. ART in Europe, 2016: results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod Open*. 2020;2020(3):hoaa032.
46. Melnick AP, Rosenwaks Z. Oocyte donation: insights gleaned and future challenges. *Fertil Steril*. 2018;110(6):988–93.
47. Hunter JE, Berry-Kravis E, Hipp H, Todd PK. *FMR1* Disorders. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. GeneReviews®. Seattle: University of Washington; 2019.
48. Rose BI, Brown SE. An explanation of the mechanisms underlying fragile X-associated premature ovarian insufficiency. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37(6):1313-22.

49. Payne MR, Skytte AB, Harper JC. The use of expanded carrier screening of gamete donors. *Hum Reprod*. 2021;36(6):1702-10.
50. Freour T, Massart P, García D, Vassena R, Rodríguez A. Revisiting the association between smoking and female fertility using the oocyte donation model. *Reprod Biomed Online*. 2018;37(5):564-72.
51. Soares SR, Simon C, Remohí J, Pellicer A. Cigarette smoking affects uterine receptiveness. *Hum Reprod*. 2007;22(2):543-47.
52. Rockhill K, Tong VT, Boulet SL, Zhang Y, Jamieson DJ, Kissin DM. Smoking and Clinical Outcomes of Assisted Reproductive Technologies. *J Womens Health (Larchmt)*. 2019;28(3):314-22.
53. Har-Gil E, Heled A, Dixon M, Ahamed AMS, Bentov Y. The relationship between cannabis use and IVF outcome-a cohort study. *J Cannabis Res*. 2021;3(1):42.
54. Silvestris E, Lovero D, Palmirotta R. Nutrition and Female Fertility: An Interdependent Correlation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:346.
55. Imai A, Furui T, Yamamoto A. Preservation of female fertility during cancer treatment. *Reprod Med Biol*. 2008;7(1):17-27.
56. Shrikhande L, Shrikhande B, Shrikhande A. AMH and Its Clinical Implications. *J Obstet Gynaecol India*. 2020;70(5):337-41.
57. Kotanidis L, Nikolettos K, Petousis S, et al. The use of serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels and antral follicle count (AFC) to predict the number of oocytes collected and availability of embryos for cryopreservation in IVF. *J Endocrinol Invest*. 2016;39(12):1459-64.
58. Savas-Erdeve S, Sagsak E, Keskin M, Cetinkaya S, Aycan Z. AMH levels in girls with various pubertal problems. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;30(3):333-35.
59. Kotlyar AM, Seifer DB. Ethnicity/Race and Age-Specific Variations of Serum AMH in Women-A Review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;11:593216.
60. Vollenhoven B, Hunt S. Ovarian ageing and the impact on female fertility. *F1000Res*. 2018;7:1-6.
61. Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(11):3361-73.
62. Reis A. Hormona anti-mulleriana como preditor do número de ovócitos obtidos por técnicas de procriação medicamente assistida de 2ª linha (tese de mestrado). Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar; 2020. 27 p.
63. Bedenk J, Vrtačnik-Bokal E, Virant-Klun I. The role of anti-Müllerian hormone (AMH) in ovarian disease and infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37(1):89-100.
64. Baker VL, Glassner MJ, Doody K, et al. Validation study of the Access antimüllerian hormone assay for the prediction of poor ovarian response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2021;116(2):575-82.
65. Polyzos NP, Stoop D, Blockeel C, et al. Anti-Müllerian hormone for the assessment of ovarian response in GnRH-antagonist-treated oocyte donors. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(5):532-39.
66. Sansone M, Zaami S, Cetta L, Costanzi F, Signore F. Ovotoxicity of smoking and impact on AMH levels: a pilot study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021;25(16):5255-60.
67. Nakhuda GS, Douglas NC, Thornton MH, Guarnaccia MM, Lobo R, Sauer MV. Anti-Müllerian hormone testing is useful for individualization of stimulation protocols in oocyte donors. *Reprod Biomed Online*. 2010;20(1):42-7.