U.PORTO

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**
GINECOLOGIA

# Endometriose e Procriação Medicamente Assistida: um desafio na abordagem terapêutica

António Miguel Araújo e Silva

M

**2023**

INSTITUTO DE **CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR**

# Endometriose e Procriação Medicamente Assistida: um desafio na abordagem terapêutica

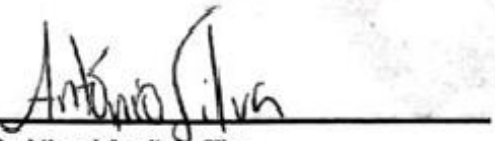
Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

**Estudante: António Miguel Araújo e Silva**
Aluno do 6º ano profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina
Número mecanográfico: 201707310
Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto
Endereço de correio eletrónico institucional: up201707310@up.pt

**Orientador: Márcia Sofia Alves Caxide e Abreu Barreiro**
Diretora do Centro de Procriação Medicamente Assistida e do Banco Público de Gâmetas do Centro Materno-Infantil do Norte
Assistente convidada, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Endereço Eletrónico: marciabarreiro@sapo.pt

**Coorientador: Hélder Bruno Carvalho Ferreira**
Coordenador da Unidade de Cirurgia Minimamente Invasiva e Endometriose do Centro Materno-Infantil do Norte
Professor associado convidado, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Endereço Eletrónico: helferreira@hotmail.com

Maio de 2023

X 

António Miguel Araújo e Silva
Estudante

X 

Dra. Márcia Sofia Alves Caxide e Abreu Barreiro
Orientadora

X 

Prof. Doutor Hélder Bruno Carvalho Ferreira
Coorientador

Maio de 2023

Aos meus pais, familiares e amigos.

## Agradecimentos

À **Dra. Márcia Barreiro** e ao **Professor Doutor Hélder Ferreira** por me orientarem na escrita deste trabalho e partilharem o seu conhecimento teórico e rigor técnico e linguístico.

Ao **Dr. Tiago Meneses Alves**, agradeço pela mentoria e supervisão que foram fundamentais para o sucesso deste trabalho, pelo tempo disponibilizado e pela dedicação.

Por fim, à **equipa de embriologia** do Centro de Procriação Medicamente Assistida e Banco Público de Gâmetas do Centro Hospitalar Universitário de Santo António por me terem acolhido durante a recolha de dados.

## Resumo

**Introdução:** A endometriose afeta cerca de 10% das mulheres em idade reprodutiva. O espectro de apresentação é muito variável, podendo apresentar-se de forma insidiosa e assintomática ou manifestar-se por quadros de sintomatologia grave com grande impacto na qualidade de vida da mulher e na sua fertilidade. De facto, com o seu projeto reprodutivo comprometido, muitas vezes estas mulheres são propostas para técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA). Nestes procedimentos, um dos pontos fundamentais para o seu sucesso é o número de ovócitos obtidos após cada ciclo de estimulação ovárica controlada (EOC), onde a previsão de resposta antes de se iniciar um novo ciclo permite otimizar o protocolo a adotar em cada mulher.

A Hormona Anti-mülleriana (HAM), um marcador da reserva ovárica, é utilizada na PMA para prever a resposta ovárica, no entanto, a literatura existente é escassa e não há estudos suficientes para comprovar a sua utilidade nos casos de endometriose.

A endometriose pode afetar a reserva ovárica e os ciclos de EOC e interferir na eficácia da HAM como preditor da resposta ovárica.

**Objetivos:** Correlacionar o valor sérico de HAM e o número de ovócitos obtidos após EOC para determinar os valores *cut-off* preditivos de resposta ovárica anormal nas mulheres com endometriose;

Caraterizar a população de mulheres com endometriose sob tratamentos de PMA no Centro de Procriação Medicamente Assistida e Banco Público de Gâmetas do Centro Hospitalar Universitário de Santo António (CMPA/BPG-CHUdSA).

**Materiais e Métodos:** Foi realizado um estudo de coorte observacional retrospetivo em mulheres seguidas em consulta de PMA no CMPA/BPG-CHUdSA que foram submetidas a técnicas de Fertilização *in Vitro* (FIV) e Injeção Intracitoplasmática (ICSI), entre janeiro de 2017 e dezembro de 2021. Foram excluídas do estudo: mulheres cuja vigilância não foi efetuada na consulta de PMA no CMPA/BPG-CHUdSA, mulheres sem suspeita de endometriose ou diagnóstico histológico, mulheres que realizaram o doseamento de HAM num período > 12 meses antes do início da EOC, mulheres com apenas um ovário, mulheres que realizaram o ciclo EOC para preservação da fertilidade ou que o cancelaram e mulheres com informação incompleta necessária para o estudo. Foram também excluídas mulheres com outras doenças que pudessem afetar a fertilidade ou o resultado da FIV/ICSI, mulheres com condições médicas que pudessem ser exacerbadas pela EOC, mulheres que utilizassem fármacos que

alterassem a fertilidade nos 12 meses prévios ao tratamento e mulheres que recusaram o consentimento informado para a FIV/ICSI.

A má resposta ovárica foi definida como ≤3 ovócitos obtidos e a resposta exagerada foi definida com >15 ovócitos obtidos. A correlação entre as variáveis foi calculada com o teste de *Spearman*, e os valores de *cut-off* foram calculados com o auxílio de curvas de Caraterística de Operação do Recetor (ROC).

**Resultados:** Os valores de HAM correlacionam-se positivamente com o número de ovócitos obtidos (coeficiente de *Spearman* = 0,531; $p < 0,001$). Não foi possível encontrar um bom valor de *cut-off* para diferenciar a má resposta ovárica, no entanto, o *cut-off* preditivo de resposta ovárica exagerada calculado foi de 21,65 pmol/L, com sensibilidade 57,1% e especificidade de 88,3%.

**Discussão/Conclusão:** O valor sérico da HAM mostrou ser um mau preditor da má resposta ovárica e um bom preditor para a resposta exagerada nas mulheres inférteis com endometriose. É útil no apoio à tomada de decisão clínica, não devendo ser usado como discriminador absoluto da resposta à EOC.

**Palavras-chave:** Endometriose, Infertilidade, Hormona Anti-mülleriana.

## Abstract

**Introduction:** Endometriosis affects about 10% of women of reproductive age. The spectrum of presentation is highly variable, ranging from insidious and asymptomatic to severe symptomatic conditions with a significant impact on a woman's quality of life and fertility. Often, seeing their reproductive plans compromised, these women are offered Assisted Reproductive Techniques (ART). In these procedures, one of the fundamental points for their success is the number of oocytes obtained after each controlled ovarian stimulation (COS) cycle, where predicting the response before starting a new cycle allows for optimizing the protocol to be adopted for each woman.

Anti-Müllerian Hormone (AMH), a marker of ovarian reserve, is used in ART to predict ovarian response. However, the existing literature is scarce, and there are not enough studies to prove its usefulness in cases of endometriosis. Endometriosis can affect ovarian reserve and COS cycles, which can interfere with the effectiveness of AMH as a predictor of ovarian response.

**Purpose:** To correlate the serum level of AMH and the number of oocytes obtained after COS to determine predictive cut-off values of abnormal ovarian response in women with endometriosis.

To characterize the population of women with endometriosis undergoing ART treatments at CMPA/BPG-CHUdSA.

**Materials and Methods:** A retrospective observational cohort study was conducted in women undergoing ART at CMPA/BPG-CHUdSA using *In vitro* Fertilization (IVF) or Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) techniques between January 2017 and December 2021. Women were excluded from the study if: they were not under surveillance at the PMA clinic at CMPA/BPG-CHUdSA, had no suspicion or documented histological diagnosis, had their AMH levels measured > 12 months before starting COS, had only one ovary, underwent COS for fertility preservation or had their cycle cancelled and had incomplete information necessary for the study. Women with other medical conditions that could affect fertility or the outcome of IVF/ICSI, women with medical conditions that could be exacerbated by COS, women who used fertility-altering drugs in the previous 12 months, and women who refused informed consent for IVF/ICSI were also excluded.

Poor ovarian response was defined as ≤3 oocytes obtained, and exaggerated ovarian response was defined as >15 oocytes obtained. The correlation between

the variables was calculated using Spearman's correlation test, and cut-off values were determined using Receiver operating Curves (ROC) curves.

**Results:** The HAM values were positively correlated with the number of retrieved oocytes (Spearman coefficient = 0.531; $p < 0.001$). A good cut-off value to differentiate poor ovarian response was not found, however, the predictive cut-off value for exaggerated ovarian response was calculated to be 21.65 pmol/L with a sensitivity of 57.1% and specificity of 88.3%.

**Discussion/Conclusion:** The serum level of HAM was found to be a bad predictor of poor ovarian response and a good predictor for exaggerated ovarian response in infertile women with endometriosis. It is useful in supporting clinical decision-making but should not be used as an absolute discriminator of response to COS.

**Keywords:** Endometriosis, Infertility, Anti-mullerian Hormone.

## Lista de Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico
ASRM: *American Society for Reproductive Medicine*
AUC: Área abaixo da curva
CMPA/BPG-CHUdSA: Centro de Procriação Medicamente Assistida e Banco Público de Gâmetas do Centro Hospitalar Universitário de Santo António
EFI: *Endometriosis Fertility Index*
ESHRE: *European Society of Human Reproduction and Embryology*
EOC: Estimulação Ovárica Controlada
FIV: Fertilização *in vitro*
FSH: Hormona folículo-estimulante
GnRH: Hormona libertadora de gonadotrofinas
HAM: Hormona anti-mülleriana
ICSI: Injeção Intracitoplasmática
IIU: Inseminação uterina
IL-6: Interleucina 6
IMC: Índice de massa corporal
IO: Indução da ovulação
PMA: Procriação Medicamente Assistida
ROC: Caraterística de Operação do Recetor
VPN: Valor preditivo negativo
VPP: Valor preditivo positivo

# Índice

Agradecimentos ..... i

Resumo ..... ii

Abstract ..... iv

Lista de Abreviaturas ..... vi

Lista de Tabelas ..... viii

Lista de Figuras ..... ix

Introdução ..... 1
*Etiopatogenia da Infertilidade na Endometriose* ..... 2
*Hormona Anti Mülleriana nas mulheres com Endometriose* ..... 3
*Tratamento Cirúrgico da Endometriose em casos de infertilidade* ..... 3
*Tratamentos de Procriação Medicamente Assistida* ..... 5

Materiais e métodos ..... 7
*Desenho do estudo* ..... 7
*Participantes* ..... 7
*Objetivos do Estudo* ..... 8
*Análise estatística* ..... 8

Resultados ..... 9
*Análise descritiva das características demográficas* ..... 9
*Correlação entre HAM e número de ovócitos obtidos* ..... 9
*Valores HAM preditivos de má resposta e de resposta exagerada em mulheres com endometriose* ..... 9

Discussão ..... 11
*Correlação entre HAM e a contagem de ovócitos obtidos após ciclo de estimulação ovárica* ..... 11
*Valores de Cut-off de AMH em mulheres com endometriose* ..... 11
*Má resposta ovárica* ..... 11
*Resposta Ovárica Exagerada* ..... 12
*Limitações do estudo* ..... 12

Conclusão ..... 14

Apêndice ..... 15

Bibliografia ..... 23

# Lista de Tabelas

Tabela I: Estatística descritiva de parâmetros contínuos e discretos relativos à amostra total e a cada subgrupo de resposta ovárica ..... 15
Tabela II: Estatística descritiva de parâmetros categóricos (amostra total)..... 16
Tabela III: Correlação entre HAM e número de ovócitos obtidos ..... 17
Tabela IV: Valores de *cut-off* de HAM para diferenciar resposta ovárica exagerada em mulheres com endometriose ..... 18

# Lista de Figuras

Figura 1: Curva ROC de diferenciação entre má e não má resposta ovárica consoante o valor de HAM (AUC=0,260) ..... 19
Figura 2:Curva ROC de diferenciação entre resposta ovárica exagerada e resposta ovárica não exagerada consoante o valor de HAM (AUC=0,762) ..... 20
Figura 3: Distribuição dos valores de HAM (pmol/L) por má resposta e não-má resposta ovárica ..... 21
Figura 4: Distribuição dos valores de HAM (pmol/L) por resposta ovárica exagerada e resposta ovárica não exagerada ..... 22

## Introdução

A endometriose afeta cerca de 10% das mulheres em idade reprodutiva.[1] Trata-se de uma doença benigna, dependente de estrogénios e de etiologia não totalmente esclarecida, que se carateriza histologicamente pela presença de glândulas e estroma endometrial em localização extrauterina, responsável por induzir uma reação inflamatória crónica nos tecidos afetados. O espectro de apresentação é muito variável, podendo apresentar-se de forma insidiosa e assintomática ou até manifestar-se por quadros de sintomatologia intensa com grande impacto na qualidade de vida da mulher e no seu projeto reprodutivo.[1]

A laparoscopia desempenha um papel importante no diagnóstico de endometriose, contudo, as atuais *guidelines* da *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE), publicadas em 2022, já não a consideram como *goldstandard* para o diagnóstico, recomendando a sua realização apenas após exames de imagem negativos e/ou após falha do tratamento empírico.[2]

A endometriose pode surgir em qualquer local da pelve ou, mais raramente, em superfícies peritoneais extra-pélvicas.[1] Classicamente, a endometriose pélvica/abdominal subdivide-se em: superficial (peritoneal/serosa), quistos de endometriose ovárica (endometriomas) e endometriose profunda (mais de 5 mm abaixo da superfície serosa/peritoneal).[1,2] A endometriose infiltrativa profunda envolve geralmente estruturas vitais, como o intestino, bexiga e ureteres.[1,2] Contudo, o estadiamento da endometriose é cirúrgico, existindo vários sistemas de classificação para a caraterização da sua localização e extensão.[1,2] De acordo com a *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), a doença pode ser classificada em 4 grupos:

- **Estadio 1 ou *minimal*:** Presença de poucos implantes endometrióticos de tamanho reduzido, com a presença de discreto tecido cicatricial. A sua distribuição pode abranger órgãos presentes na cavidade pélvica ou abdominal;
- **Estadio 2 ou *mild***: Presença de mais implantes que no estadio 1, sendo que a sua distribuição é mais profunda e pode haver algum componente cicatricial;
- **Estadio 3 ou *moderate*:** Observa-se a presença de implantes endometrióticos mais profundos, podendo ter concomitantemente pequenos endometriomas num ou nos dois ovários, bem como a presença de aderências pélvicas;
- **Estadio 4 ou *severe:*** Apresenta-se como o estadio mais grave, com a sua distribuição disseminada, incluindo múltiplos implantes superficiais e profundos.

Também se pode caraterizar pela presença de endometriomas maiores, num ou nos dois ovários, e por aderências pélvicas mais proeminentes.

Este tipo de classificação tem, todavia, alguma limitação na prática clínica uma vez que o estadio pode não se correlacionar com a sintomatologia ou risco de recorrência e não constitui um bom preditor de sucesso de gravidez após tratamento.[1]

### *Etiopatogenia da Infertilidade na Endometriose*

A relação entre a endometriose e infertilidade tem sido denotada ao longo dos anos. A taxa de fecundação de um casal saudável varia entre 15% e 20% por mês. Por outro lado, a taxa de fecundação nas mulheres que têm endometriose decresce para 2% a 10% por mês,[3] sendo que também se associa a um menor rácio de nados-vivos.[4]

Atualmente, os mecanismos subjacentes à infertilidade nas mulheres com endometriose não estão claramente estabelecidos.[5,6] No entanto, diversas teorias foram propostas, nomeadamente: distorção da anatomia pélvica feminina, alterações ovulatórias, hormonais, peritoneais e da recetividade endometrial até ao efeito nocivo sobre os espermatozoides.[5,6]

Na verdade, a presença de aderências pélvicas e obliteração dos fundos de saco, pode resultar em infertilidade, por exemplo, através da obstrução tubar com comprometimento da progressão dos espermatozoides, que pode ser agravada pelo encastoamento dos ovários em extensas aderências. Contudo, na ausência de significativas alterações da pelve feminina, outras alternativas fisiopatológicas devem ser consideradas nos casos destas doentes.

Um estado de inflamação crónica peritoneal é caraterístico da endometriose.[5] De acordo com um modelo de doença, os implantes endometrióticos induzem inflamação aguda local que está associada a um recrutamento e ativação de linfócitos T.[5,6] Posteriormente, após a fase aguda, os monócitos e macrófagos perpetuam a inflamação crónica, contribuindo assim, para a formação de adesões peritoneais e a promoção da angiogénese.[5,6] A inflamação crónica pode alterar a fertilidade por diversas vias.[5,6] Os níveis de Interleucina-6 (IL-6) no líquido peritoneal em mulheres com endometriose é mais elevado e esta citoquina pode alterar a qualidade espermática, sendo que também pode lesar diretamente o ácido desoxirribonucleico (ADN) através dos mediadores inflamatórios.[5,6] Para além disso, o stress oxidativo, prostaglandinas e citoquinas podem interferir na fecundação, desenvolvimento embrionário e

nidação.[5,6] Para além dos efeitos locais, a endometriose pode ainda afetar o eixo hipotálamo-hipófise-ovário, contribuindo assim para uma fase folicular mais prolongada, níveis séricos de estradiol diminuídos e redução do pico da hormona luteinizante.[5,6] Associadamente, também é possível constatar a diminuição de recetores de progesterona no endométrio, culminando numa resistência ao efeito da mesma.[5,6]

### *Hormona Anti Mülleriana nas mulheres com Endometriose*

A idade fértil de uma mulher é definida pela reserva ovárica, isto seja, pela quantidade de folículos antrais disponíveis para serem recrutados e desenvolvidos durante o ciclo menstrual.[7]

A hormona Anti-mülleriana (HAM) é uma glicoproteína produzida pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e antrais até atingirem o tamanho e o estadio de diferenciação no qual serão recrutados pelo aumento dos níveis de Hormona Folículo-estimulante (FSH).[7] A ação fisiológica da HAM está limitada à inibição do desenvolvimento dos folículos nos estadios iniciais.[7] A HAM é muitas vezes utilizada como marcador da reserva ovárica e também como preditora do prognóstico da infertilidade. Os seus níveis mantêm-se relativamente estáveis ao longo do ciclo menstrual, o que facilita a avaliação da reserva ovárica.[7]

A exérese de endometriomas parece ser o principal motivo para o declínio da reserva ovárica por lesão iatrogénica, quer por dano térmico ou desvascularização.[8] No entanto, foi demonstrado que, mesmo em mulheres que não têm endometriomas e história prévia de cirurgia pélvica, os valores de HAM são mais baixos e o seu declínio com o tempo é maior.[8,9]

Resumindo, a hipótese formulada para a fisiopatologia subjacente à diminuição da reserva ovárica baseia-se num processo de inflamação crónica e alteração da imunomodelação que está associada à doença. Este ambiente inflamatório pode causar dano folicular e associar-se a uma disfunção autoimune.

### *Tratamento Cirúrgico da Endometriose em casos de infertilidade*

O tratamento da endometriose deve ser escolhido individualmente, de acordo com os sintomas, idade e objetivos de fertilidade da mulher, com o intuito de maximizar o tratamento médico e evitar repetidas intervenções cirúrgicas.

Na verdade, no contexto cirúrgico, o tratamento tem por base a laparoscopia e destina-se, sobretudo, a controlar a dor, a corrigir a distorção anatómica e a remover lesões endometrióticas.[2,10] No que respeito à endometriose

associada a infertilidade, o tratamento cirúrgico destina-se a melhorar as taxas de gravidez clínica e o prognóstico reprodutivo do casal.

Nos casos de mulheres propostas para tratamentos de Procriação Medicamente Assistida (PMA), a decisão de tratamento cirúrgico deverá incluir múltiplos fatores, como a idade da mulher, duração da infertilidade, reserva ovárica e risco da sua redução com a cirurgia.[2,10] Assim, de acordo com as *guidelines* da ESHRE, a cirurgia poderá estar indicada nos casos de:[2,10]

- Suspeita de endometriose peritoneal nos estadios I e II, para confirmação do diagnóstico, lise de aderências e excisão/ablação de lesões;
- Endometriose ovárica através da realização de quistectomia com preservação máxima da reserva folicular ovárica;
- Lesões retovaginais associadas a dor intensa ou com possível compromisso intestinal ou urinário (contudo, não está comprovado que a cirurgia da endometriose profunda por si melhore a taxa de gravidez espontânea).

Nas doentes propostas para tratamento de PMA, a cirurgia é sobretudo indicada nos casos de dor pélvica intensa ou na presença de endometriomas que dificultem a acessibilidade aos folículos durante a punção ovárica. Todavia, a principal razão para não estar indicada cirurgia prévia a Fertilização *in Vitro* (FIV) ou a Injeção Intracitoplasmática (ICSI) em todas as doentes assenta na preocupação de uma menor resposta ovárica em PMA após cirurgia, principalmente em situações de endometriomas bilaterais. [2,10]

As *guidelines* da ESHRE recomendam que a decisão de se optar por um tratamento cirúrgico deve ser tomada com base no *Endometriosis Fertility Index* (EFI), na clínica e de acordo com as preferências da doente. De uma forma geral, a utilização do EFI permite a determinação de um *score* baseado nas caraterísticas da doente (idade, duração da subfertilidade e história de gravidez prévia) e nos fatores cirúrgicos (função ovárica e tubar, lesões de endometriose e estadiamento ASRM). Desta forma, poderá auxiliar na escolha da melhor opção para atingir uma gravidez após cirurgia por endometriose, nomeadamente na seleção das doentes que mais podem beneficiar de um tratamento de PMA após cirurgia. Também é necessário ter em conta a presença de outros fatores de infertilidade, nomeadamente, fatores masculinos.[2]

Nas situações de endometriose grave, particularmente aquelas que têm endometriomas bilaterais, existe um risco acrescido de insuficiência ovárica prematura e baixos níveis de HAM, podendo estas situações serem agravadas pelos tratamentos cirúrgicos geralmente preconizados nestes casos. Contudo, a

evidência atual não é consensual na recomendação de se efetuar técnicas de preservação de fertilidade nas mulheres com endometriose ovárica extensa previamente à cirurgia.[2]

Tendo em conta que o tratamento médico da endometriose compreende a frenação do ciclo ovárico, os casais que pretendem procriar, vêem o seu efeito reduzido, sendo que a abordagens mais utilizada nestes casos são cirúrgicas e técnicas de PMA. A remoção cirúrgica de implantes endometrióticos em doentes nos estadios 1-2 (*mild* e *minimal*) poderá ser benéfica, como foi demonstrado em dois estudos randomizados.[11,12] Nos casos mais severos, o objetivo da cirurgia compreende em alcançar a normalização da anatomia pélvica, com o recurso à remoção de aderências pélvicas. A FIV está particularmente indicada quando os fatores que condicionam a fertilidade são fatores tubares ou masculinos.[2]

Em suma, o tratamento cirúrgico pode estar indicado nas doentes com dor pélvica refratária, que recusem ou tenham contraindicações para o tratamento médico, com doença infiltrativa grave (com atingimento, por exemplo, do intestino, bexiga ou nervos pélvicos) ou cuja massa anexial seja de difícil caraterização e exija um diagnóstico histológico.[2,10] Além disso, poderá estar indicado nos episódios anexiais agudos (nomeadamente, na torção ovárica ou rotura de quistos) ou nos casos de infertilidade associada.[2,10]

### *Tratamentos de Procriação Medicamente Assistida*

Após estudo do casal infértil e, se indicado, da avaliação laparoscópica da mulher, este prossegue para tratamento de PMA. Posteriormente, o casal será orientado, tendo em conta os fatores de infertilidade identificados durante a avaliação. Nos casais sem aparentes causas de infertilidade identificáveis ou com causas reversíveis, é recomendado que sejam abordadas inicialmente quaisquer causas tratáveis e o tratamento subsequente seja orientado pelo estadio da endometriose.[13] No entanto, se as causas de infertilidade forem irreversíveis, prossegue-se diretamente para técnicas de PMA.[13]

Nas mulheres em estadio I/II é possível tentar a conceção natural, indução da ovulação (IO), inseminação intrauterina (IIU) e técnicas de 2ª linha de PMA, que incluem a FIV e a ICSI.[13] Não há um consenso em qual será a abordagem ideal.[13] Por um lado, estas últimas são mais efetivas, no entanto, são mais dispendiosas, nem sempre estão disponíveis e as doentes nem sempre concordam com esta opção. Por outro lado, a IIU é menos dispendiosa, mas as taxas de sucesso são baixas e podem protelar a conceção. Para mulheres com menos de 35 anos que

desejem tentar a conceção natural, preconiza-se um intervalo de 6 meses antes de tentar outras técnicas (IO e IIU).[14] Geralmente, em mulheres com mais de 35 anos, procede-se diretamente para técnicas de 2ª linha de PMA. Este método poderá permitir uma maior taxa de sucesso e possibilita a criopreservação de embriões para futuras transferências.[2,13]

Por sua vez, nos casos em estadio III/IV, prossegue-se diretamente para técnicas de PMA, uma vez que parece não haver vantagem numa adoção inicial de tratamentos mais conservadores.[10] A repetição das cirurgias também não melhora o *outcome*, estando apenas indicada para casos de sintomatologia refratária. [2,13]

As mulheres propostas para tratamentos de PMA devem ser tranquilizadas e informadas de que estes tratamentos não se associam a um aumento da taxa de recorrência da endometriose (comparativamente às mulheres não submetidas a PMA).[2]

Por fim, a preservação da fertilidade pode ser equacionada em condições que se associam a elevado risco de insuficiência ovárica prematura como, por exemplo, nas doentes com endometriomas bilaterais antes do tratamento cirúrgico e em idade muito jovem. Todavia, tendo em conta os custos elevados e que muitas mulheres engravidam sem intervenção médica ou com recurso a técnicas de PMA, não há uma recomendação formal para preservar a fertilidade em todas as mulheres diagnosticadas com endometriose.[13]

## Materiais e métodos

### *Desenho do estudo*

Foi realizado um estudo de coorte observacional retrospetivo de forma a averiguar a resposta ovárica em mulheres com endometriose, submetidas a EOC para realização de FIV ou ICSI e seguidas em consulta no Centro de Procriação Medicamente Assistida e Banco Público de Gâmetas do Centro Hospitalar Universitário de Santo António (CMPA/BPG-CHUdSA).

Os dados clínicos foram obtidos recorrendo aos processos informáticos do CMPA/BPG-CHUdSA na sala de reuniões.

Foram correlacionados os valores séricos de HAM e o número de ovócitos obtidos após estimulação ovárica controlada (EOC) para determinar os valores *cut-off* preditivos de resposta ovárica nas mulheres com endometriose do nosso Centro.

Os doseamentos da HAM utilizados no estudo foram realizados no laboratório de análises da instituição.

Para efeitos de uniformização da amostra, os valores de HAM foram convertidos para pmol/L (fator de conversão: [pmol/L] = 7,14 x [ng/ml]), uma vez que são geralmente apresentados na literatura. No entanto, as unidades do sistema internacional da HAM são µmol/L.

### *Participantes*

Inicialmente, foram avaliados processos de 179 mulheres com mais de 18 anos com endometriose, infertilidade e seguidas em consulta de Apoio à Fertilidade no CMPA/BPG-CHUdSA entre janeiro de 2017 e dezembro de 2021 e que foram submetidas a realização de ciclo FIV/ICSI. Por fim, após aplicação dos critérios de exclusão, foram incluídas no estudo, um total de 108 participantes.

Foram definidos como critérios de exclusão do estudo: mulheres cuja vigilância não foi efetuada na consulta de PMA no CMPA/BPG-CHUdSA, mulheres sem suspeita de endometriose ou diagnóstico histológico documentado de endometriose, mulheres que realizaram o doseamento de HAM num período >12 meses antes do início da EOC, mulheres com apenas um ovário, mulheres que realizaram o ciclo EOC para preservação da fertilidade ou que o cancelaram e mulheres com informação incompleta necessária para o estudo. Foram também excluídas mulheres com outras doenças que pudessem afetar a fertilidade ou o resultado da FIV/ICSI, mulheres com condições médicas que podem ser

exacerbadas pela EOC, mulheres que utilizassem fármacos que alterassem a fertilidade nos 12 meses prévios ao tratamento e mulheres que recusaram o consentimento informado para a FIV/ICSI.

***Objetivos do Estudo***

O objetivo primário deste trabalho foi correlacionar o valor sérico de HAM e o número de ovócitos obtidos após EOC para determinar os valores *cut-off* preditivos de resposta ovárica anormal nas mulheres com endometriose e caraterizar a amostra da população em estudo.

***Análise estatística***

A análise estatística foi efetuada com recurso ao *software IBM Statistical Package for the Social Sciences* versão 29.0 (IBM Corp. Lançado em 2022. IBM SPSS Statistics para Windows, Versão 29.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

Foi realizada análise descritiva para definir os dados demográficos da população (idade da mulher, índice de massa corporal (IMC), valor sérico da HAM, protocolo de EOC usado, resposta ovárica obtida e técnica de PMA realizada – FIV ou ICSI). A correlação entre o número de ovócitos obtidos e o nível sérico da HAM foi avaliada através do coeficiente de *Spearman*, com um nível de significância de 5%. Para classificar as amostras e definir os valores de *cut-off* preditivos de má resposta e resposta exagerada à EOC foram utilizadas curvas de caraterística de Operação do Recetor (ROC).

O estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética do CHUdSA, Serviço de Investigação Clínica e Departamento de Ensino, Formação e Investigação e presidente do Conselho de Administração (número de referência 2022.221(180-DEFI/183-CE)).

# Resultados

### *Análise descritiva das características demográficas*

Como observado na tabela I, a idade média das participantes é de 34,3 ± 3,7 anos, IMC médio é de 24,0 ± 4,0 kg/m$^2$ e a concentração média de HAM é de 13,17 ± 11,36 pmol/L (0,48–56,55 pmol/L). O número médio de ovócitos obtidos é de 8,47 ± 7,00 (0–34).

No subgrupo de doentes com má resposta ovárica, a média de idade é mais elevada (35,29±3,41 anos) em comparação com os outros grupos, enquanto o IMC (23,9 ± 3,5 Kg/m$^2$) e a concentração de HAM (7,01 ± 6,35 pmol/L) são inferiores.

Por outro lado, o subgrupo de doentes com resposta ovárica exagerada apresenta uma média de idade mais baixa (32,4 ± 4,8 anos) e um IMC (25,78 ± 3,16 Kg/m$^2$) e concentração sérica de HAM (24,09 ± 15,55 pmol/L) mais elevados.

As pacientes com resposta ovárica normal apresentam valores médios de idade (34,29 ± 3,51), IMC (23,6 ± 3,7 Kg/m$^2$) e concentração de HAM (13,8 ± 10,31 pmol/L) intermédios.

Relativamente ao protocolo utilizado, 73,1% dos ciclos de EOC foram realizados com protocolo curto de antagonista de Hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRh), 26,9% com protocolo longo de agonista de GnRh (tabela II).

Do total de 108 ciclos realizados, 32 (29,6%) resultaram em má resposta ovárica e 14 (13,0%) resultaram em resposta ovárica exagerada (tabela II).

### *Correlação entre HAM e número de ovócitos obtidos*

A HAM apresenta uma correlação estatisticamente significativa com o número de ovócitos obtidos (tabela III). O coeficiente de correlação utilizado foi o de *Spearman* (r), para um valor de 0,531 ($p < 0,001$).

### *Valores HAM preditivos de má resposta e de resposta exagerada em mulheres com endometriose*

Utilizaram-se curvas ROC para determinar os valores *cut-off* para os subgrupos de má resposta ovárica e resposta exagerada. No subgrupo da má resposta ovárica, representado na figura 1, a área abaixo da curva (AUC) é de 0,260 (intervalo de confiança de 95% assintótico: 0,162 a 0,358). Uma vez que a

AUC é inferior a 0,5, o modelo está a prever situações que estão em direção oposta à verdadeira relação entre as variáveis.

A curva ROC relativa a valores preditivos de resposta exagerada está representada na figura 2. A AUC é de 0,762 (intervalo de confiança de 95% assintótico: 0,620 a 0,904). Foram calculados três valores de *cut-off* distintos, descritos na tabela IV. Por um lado, o *cut-off* de 55,04 pmol/L é o valor mais baixo de concentração HAM que permite estabelecer especificidade máxima; por outro lado o *cut off* de 21,65 pmol/L maximiza a especificidade e a sensibilidade de forma conjunta; por fim, o *cut-off* de 24,23 pmol/L maximiza a sensibilidade sem prejudicar a especificidade.

## Discussão

### *Correlação entre HAM e a contagem de ovócitos obtidos após ciclo de estimulação ovárica*

Os resultados obtidos confirmam que a HAM está positivamente relacionada com a contagem de ovócitos obtida, apresentando uma correlação moderada.[15] Isto significa que valores mais altos de HAM predizem um maior número de ovócitos enquanto valores mais reduzidos traduzem, geralmente um menor número de ovócitos.

### *Valores de Cut-off de AMH em mulheres com endometriose*

Em geral, um bom *cut-off* é aquele que é suficientemente alto ou baixo para distinguir claramente os resultados desejados dos indesejados, fornecendo informações úteis para a tomada de decisões.[16] No caso em estudo, é importante fazer a distinção mais acertada das mulheres que apresentarão ≤3 ou >15 ovócitos após realização de ciclo de estimulação ovárica, sem, erradamente, classificar como potenciais más respondedoras ou respostas exageradas, mulheres com potencial para uma boa resposta ovárica (>3 e ≤15 ovócitos obtidos), tendo em conta que podia levar à desistência das técnicas de PMA, sem haver indicação para não a realizar. Assim, são preferíveis valores de *cut-off* associados a alta especificidade (com baixa taxa de falsos positivos), mesmo que isso implique sacrificar a sensibilidade.[16]

### *Má resposta ovárica*

Analisando a curva ROC relativa à má resposta ovárica após ciclo de estimulação ovárica em mulheres com endometriose, observamos que a AUC < 0,5. Isto indica que o modelo classificador é pior que um modelo aleatório, isto é o modelo classificador para distinguir a má resposta ovárica da não má resposta ovárica tendo por base os valores séricos da HAM, faz previsões menos precisas do que se fossem escolhidas aleatoriamente. Podemos, assim, assumir que a HAM é um mau marcador para identificar a má resposta ovárica.

Para finalizar, analisando a figura 3, é possível observar uma grande sobreposição entre más e não-más respostas em toda a faixa da má resposta ovárica, impossibilitando, assim a construção de um modelo classificativo com utilidade na prática clínica.

Tendo em conta que a HAM não é preditor da qualidade ovárica, mas sim, de reserva ovárica, este pode ser um dos motivos para que esta não seja um bom

indicador de boa resposta ovárica. Para além disso, o processo inflamatório inerente a esta patologia pode também afetar a função ovárica, podendo haver níveis normais de HAM, apesar da reserva ovárica estar comprometida. Contudo, outros fatores, como a idade, duração da infertilidade e a presença de outras patologias, podem também influenciar a resposta aos tratamentos de estimulação ovárica e a fertilidade conjugal.

### *Resposta Ovárica Exagerada*

Analisando a tabela IV, observamos que o valor de 55,04 pmol/L como *cut-off* para resposta ovárica exagerada apresenta especificidade máxima. Contudo, este valor tem pouca utilidade clínica, uma vez que a sensibilidade é muito baixa com ± 7,1%. Em contrapartida, o *cut-off* de 24,23 pmol/L permite maximizar a sensibilidade (50,0%) sem comprometer a especificidade (90,4%). Já o *cut-off* 21,65 pmol/L, é o valor que maximiza ambos de forma conjunta, mantendo a especificidade num valor relativamente alto.

A nível clínico, e de tomada de decisão a fim de evitar síndromes de hiperestimulação ovárica, é importante ter em conta o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN) do *cut-off* calculado. O *cut-off* de 24,23 pmol/L apresenta-se com um VPP de 43,8% (probabilidade de uma mulher ser classificada como respondedora exagerada e de facto o ser, é de 43,8%, de facto, o ser) e um VPN de 92,4% (se uma mulher não é classificada como má respondedora, tem 92,4% de probabilidade de não desenvolver resposta exagerada).

Para finalizar, analisando a figura 4, visualizamos que há grande sobreposição entre os dois grupos na faixa dos 25-35 pmol/L. Assim, se explica o motivo de os valores 21,65 pmol/L e 24,23 pmol/L serem os *cut-offs* ideais para prever com melhor assertividade as mulheres que não irão desenvolver resposta exagerada com um VPN de 93,3% e 92,4% respetivamente. Os estudos realizados até à data sobre *cut-offs* preditivos de resposta ovárica exagerada em mulheres com endometriose são escassos, no entanto, foram reportados valores entre 24-35 pmol/L, com sensibilidade entre 53-91% e especificidade de 70-95% em mulheres submetidas a técnicas de PMA.[17]

### *Limitações do estudo*

A principal limitação deste estudo decorre da sua natureza retrospetiva. Diversos dados da amostra, como o nível sérico da HAM, estavam incompletos o

que exigiu a exclusão de 71 doentes. Por outro lado, não foi possível ter controlo sobre certas caraterísticas da amostra, como a dose de gonadotropinas exógenas administrada, bem como a aleatoriedade da alocação dos diferentes protocolos de EOC às doentes.

Estas limitações podem afetar a representatividade dos resultados e a generalização para a população em geral. Portanto, é importante interpretar os achados deste estudo retrospetivo com cautela e considerar a necessidade de realizar estudos prospetivos e controlados para a obtenção de conclusões mais robustas.

# Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, o valor sérico da HAM mostrou não ser um bom preditor de resposta ovárica à EOC, para diferenciar má resposta ovárica, nas mulheres com endometriose. No entanto, foi encontrado um bom valor de *cut-off* para distinguir a resposta exagerada.

Analisados os dados disponíveis da amostra do CMPA/BPG-CHUdSA, 21,65 pmol/L é o *cut-off* ideal para diferenciar a resposta exagerada (especificidade de 88,3% e sensibilidade de 57,1%). Contudo, não foi possível identificar um *cut-off* para diferenciar a má resposta.

Estes valores, devem ser sempre integrados na clínica das doentes, uma vez que há diversos fatores implicados na resposta ovárica. A HAM não é um discriminador absoluto da resposta ovárica e não deve ser utilizada como tal. Deve, aliás, ser utilizada como ferramenta de apoio à decisão clínica nas mulheres propostas para EOC.

# Apêndice

Tabela I: Estatística descritiva de parâmetros contínuos e discretos relativos à amostra total e a cada subgrupo de resposta ovárica

| | Estatística | Parâmetro | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Idade (anos) | IMC ($kg/m^2$) | HAM (pmol/L) | Nº de ovócitos obtidos |
| Amostra total | Frequência | 107 | 108 | 108 | 107 |
| | Mínimo | 25 | 17,1 | 0,48 | 0 |
| | Máximo | 39 | 34,8 | 56,55 | 33 |
| | Média | 34,3 | 24,0 | 13,17 | 8,47 |
| | Desvio Padrão | 3,7 | 4,0 | 11,36 | 7,00 |
| Resposta Normal *(4-15 ovócitos)* | Frequência | 62 | 62 | 62 | 62 |
| | Mínimo | 25 | 17,1 | 0,48 | 4 |
| | Máximo | 39 | 34,8 | 53,53 | 15 |
| | Média | 34,3 | 23,6 | 13,89 | 9,02 |
| | Desvio Padrão | 3,5 | 3,7 | 10,31 | 3,53 |
| Má resposta *(≤3 ovócitos obtidos)* | Frequência | 31 | 32 | 32 | 32 |
| | Mínimo | 29 | 18,4 | 0,50 | 0 |
| | Máximo | 39 | 30,7 | 21,40 | 3 |
| | Média | 35,3 | 23,9 | 7,01 | 1,75 |
| | Desvio Padrão | 3,4 | 3,5 | 6,35 | 1,05 |
| Resposta exagerada *(> 15 ovócitos obtidos)* | Frequência | 14 | 14 | 14 | 13 |
| | Mínimo | 25 | 21,0 | 4,00 | 16 |
| | Máximo | 39 | 30,9 | 56,55 | 33 |
| | Média | 32,4 | 25,8 | 24,09 | 22,38 |
| | Desvio Padrão | 4,8 | 3,2 | 15,55 | 5,87 |

HAM- Hormona anti-mülleriana | IMC- Índice de Massa Corporal

Tabela II: Estatística descritiva de parâmetros categóricos (amostra total)

| Parâmetro | Valor | Frequência absoluta | Percentagem |
|---|---|---|---|
| Técnica de PMA | FIV | 58 | 53,7% |
| | ICSI | 50 | 46,3% |
| Protocolo de EOC | Agonista Longo | 29 | 26,9% |
| | Antagonista Curto | 79 | 73,1% |
| Tipo de resposta à EOC | Má | 32 | 29,6% |
| | Normal | 62 | 57,4% |
| | Exagerada | 14 | 13,0% |

EOC- Estimulação ovárica controlada | FIV Ferilização *in vitro* | ICSI – Injeção intracitoplasmática | PMA- Procriação medicamente assistida

Tabela III: Correlação entre HAM e número de ovócitos obtidos

| Parâmetro | Métrica | Valor |
|---|---|---|
| HAM | Correlação de Spearman | 0,531 |
| | Significância (2 extremidades) | <0,001 |
| | Número de registos | 107 |

HAM- Hormona anti-mülleriana

Tabela IV: Valores de *cut-off* de HAM para diferenciar resposta ovárica exagerada em mulheres com endometriose

| ***Valor cut-off (pmol/L)*** | **Sensibilidade (%)** | **Especificidade (%)** | **VPP (%)** | **VPN(%)** |
|---|---|---|---|---|
| *21,65* | 57,1 | 88,3 | 42,1 | 93,3 |
| *24,23* | 50,0 | 90,4 | 43,8 | 92,4 |
| *55,04* | 7,1 | 100.0 | 100,0 | 87,9 |

VPN- Valor preditivo negativo | VPP- Valor preditivo positivo

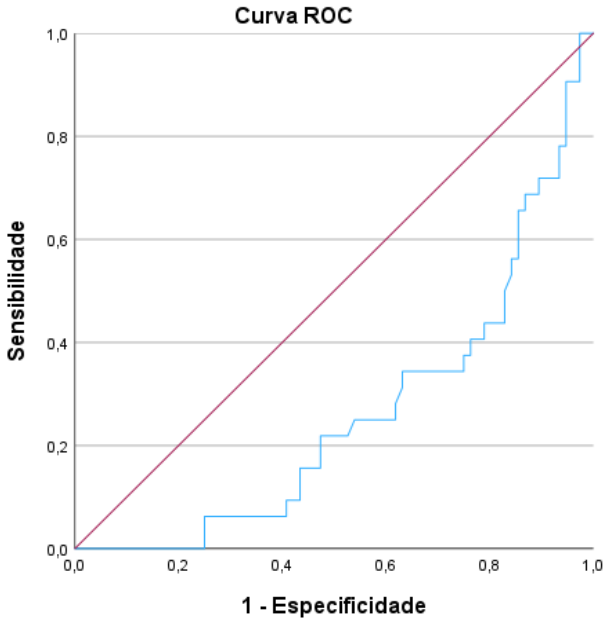



Figura 1: Curva ROC de diferenciação entre má e não má resposta ovárica consoante o valor de HAM (AUC=0,260)

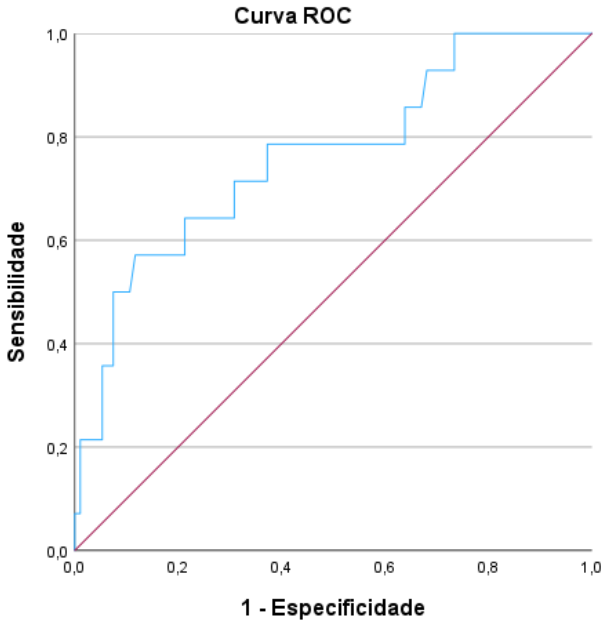



Figura 2: Curva ROC de diferenciação entre resposta ovárica exagerada e resposta ovárica não exagerada consoante o valor de HAM (AUC=0,762)

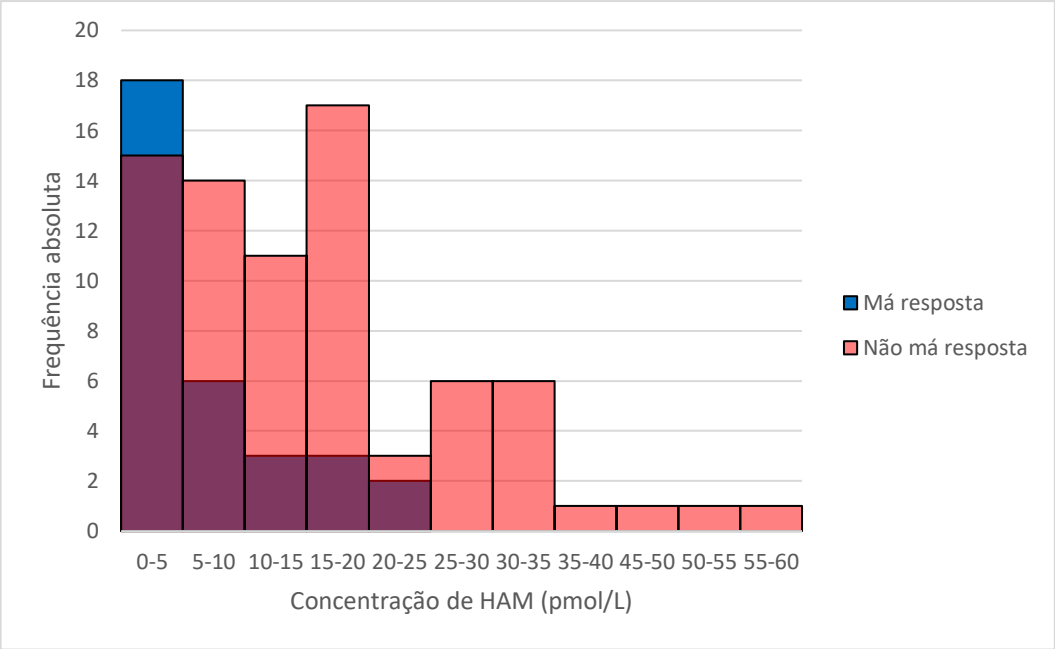



Figura 3: Distribuição dos valores de HAM (pmol/L) por má resposta e não-má resposta ovárica

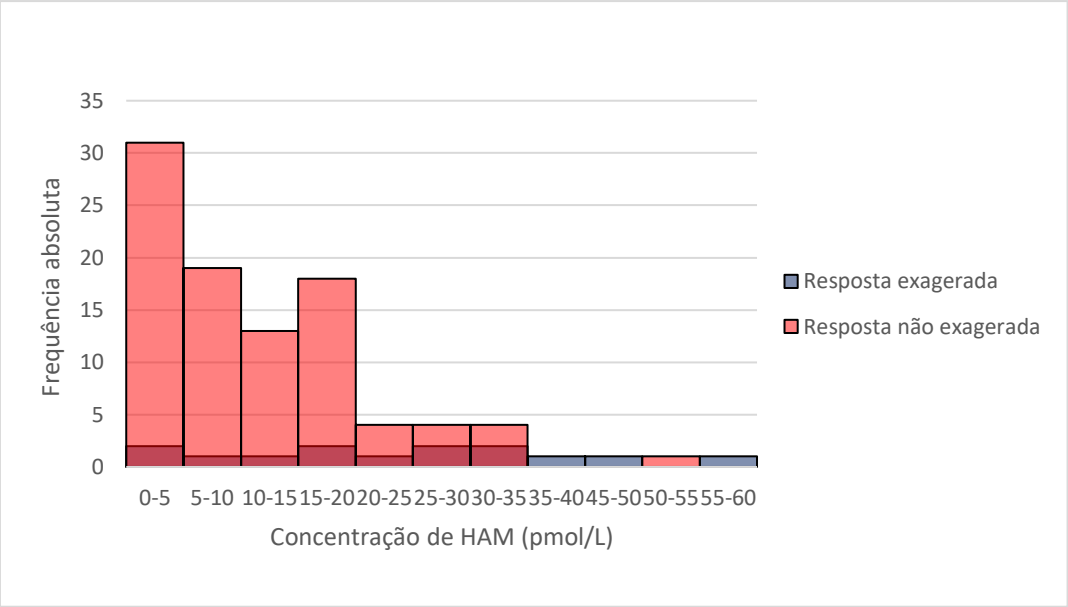



Figura 4: Distribuição dos valores de HAM (pmol/L) por resposta ovárica exagerada e resposta ovárica não exagerada

## Bibliografia


1. Schecken R. Endometriosis: Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Impact. [Internet]. Waltham, MA: Barbieri R ed. UpToDate Disponível em: https://www.uptodate.com/contents/endometriosis-pathogenesis-epidemiology-and-clinical-impact . Consultado pela última vez em 15 de maio de 2023.

2. ESHRE- Guideline Endometriosis. – ESHRE [Internet] Disponível: https://www.eshre.eu/Guideline/Endometriosis Consultado pela última vez em 15 de maio de 2023. doi:10.1093/humrep/dei135.

3. Hughes EG, Donna Fedorkow MbM, Collins JA. A Quantitative Overview of Controlled trials in Endometriosis-Associated Infertility*. Fertil Steril. 1993;59(5):963-970.

4. Collins JA, Burrows EA, Willan AR. The Prognosis for Live Birth among Untreated Infertile Couples*. Fertil Steril. 1995;64(1):22-28.

5. Tanbo T, Fedorcsak P. Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. Acta Obstet Gynecol Scand. 2017;96(6):659-667. doi:10.1111/aogs.13082.

6. Da Broi MG, Ferriani RA, Navarro PA. Ethiopathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility. JBRA Assit Reprod. 2019;23(3):273-280. doi:10.5935/1518-0557.20190029.

7. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging. Reprod Biol Endocrinol. 2011;9(23):1-11. doi:10.1186/1477-7827-9-230.

8. Kasapoglu I, Ata B, Uyaniklar O, et al. Endometrioma-related reduction in ovarian reserve (ERROR): a prospective longitudinal study. Fertil Steril. 2018;110(1):122-127. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.03.015.

9. Shebl O, Ebner T, Sommergruber M, Sir A, Tews G. Anti muellerian hormone serum levels in women with endometriosis: A case–control study. Gynecol Endocrinol. 2009;25(11):713-716. doi:10.3109/09513590903159615.

10. Dunselman GAJ, Vermeulen N, Becker C, et al. ESHRE guideline: Management of women with endometriosis. Human Reproduction. 2014;29(3):400-412. doi:10.1093/humrep/det457.

11. Ylvie S, Arcoux M, Odolphe R, Aheux M, Érubé B. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis abstract. N Engl J Med 1997;337(4):217-222. doi: 10.1056/NEJM199707243370401.

12. Parazzini F. Ablation of Lesions or No Treatment in Minimal-Mild Endometriosis in Infertile Women: A Randomized Trial. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. Hum Reprod. 1999;14(5):1332-1334. doi:10.1093/humrep/14.5.1332.

13. Hornstein M, Young S, Gibbons W, Endometriosis: Treatment of Infertility in Females - [Internet]. Waltham, MA: Barbieri R ed. UpToDate. Disponível em:

https://www.uptodate.com/contents/endometriosis-treatment-of-infertility-in-females Consultado pela última vez em 15 de maio de 2023

14. Arici A, William Byrd Md, Bradshaw K, Kutteh WH, Marshburn P, Carr BR. Evaluation of Clomiphene Citrate and Human Chorionic Gonadotropin Treatment: A Prospective, Randomized, Crossover Study during Intrauterine Insemination Cycles. Fertil Steril. 1994;61(2):314-318. doi: 10.1016/s0015-0282(16)56524-8.

15. Akoglu H. User's guide to correlation coefficients. *Turk J Emerg Med*. 2018;18(3):91-93. doi:10.1016/j.tjem.2018.08.001.

16. Habibzadeh F, Habibzadeh P, Yadollahie M. On determining the most appropriate test cut-off value: the case of tests with continuous results. *Biochem Med.* 2016;26(3):297–307. doi:10.11613/BM.2016.034.

17. 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. doi:10.1093/humupd/dmp036.