

U. PORTO



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

**Avaliação da composição corporal e da ingestão nutricional
em mulheres submetidas a tratamentos de procriação
medicamente assistida**

Elsa Maria Nunes de Madureira

2008

Dissertação de tese apresentada à Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto com vista a obtenção do grau de mestre em Nutrição Clínica

Orientadora

Professora Doutora Maria Flora Correia

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Co-orientador

Professor Doutor Pedro Xavier

Unidade de Medicina da Reprodução do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia
do Hospital de S. João

Dedico esta tese à minha família.
Ao meu marido, Beto, à minha filha, Catarina,
à minha mãe, à minha irmã e à minha avó.
E ao meu pai, que sei que ficaria muito feliz!

Agradecimentos

Para a concretização desta tese foi essencial a participação e o apoio prestado por algumas pessoas que não posso deixar de lembrar aqui. Por isso agradeço:

- à minha amiga, Sandra Marília, a quem devo a possibilidade de realizar a tese nesta Unidade

- à Prof. Doutora Flora Correia, a orientação, a confiança e encorajamento que sempre me transmitiu, as sugestões construtivas e o tempo que despendeu comigo

- ao Prof. Doutor Pedro Xavier, a orientação, o acolhimento na Unidade de Medicina da Reprodução e as sensatas sugestões para a realização desta tese

- a toda a equipa de profissionais da Unidade de Medicina da Reprodução, em particular

- às enfermeiras Maria José e Cláudia, sem as quais parte da tese não seria possível e que sempre estiveram prontas a ajudar, com simpatia

- às Doutoras Lucinda, Ana Margarida e Florbela, com quem muito aprendi e que sempre colaboraram e apoiaram o meu trabalho

- à Susana que foi absolutamente incansável, uma ajuda sempre simpática e inestimável

- ao Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina, em particular à Prof. Dra. Carla e ao Dr. Milton, pelo tratamento dos dados do QFA

- ao Prof. Bruno Oliveira pela preciosa ajuda com o tratamento estatístico

A todos o meu muito obrigada!

Resumo

Introdução: Os Tratamentos de Procriação Medicamente Assistida (TPMA) têm sido realizados com maior frequência. Na Europa são realizados cerca de 250 000 ciclos por ano. A composição corporal, a Insulinorresistência e a ingestão nutricional influenciam a fertilidade das mulheres.

Objectivos: Avaliar a evolução da composição corporal e da ingestão nutricional das mulheres submetidas a estes tratamentos; determinar se existe associação entre a variação da composição corporal e a ingestão nutricional; determinar a prevalência de IR nestas mulheres e se existe associação entre a IR e a composição corporal ou a ingestão nutricional.

Métodos: Foram avaliadas 107 mulheres que iniciaram TPMA. Em 3 momentos ao longo do tratamento, avaliaram-se parâmetros antropométricos (peso, IMC, PC, PA, PC/PA), os obtidos pela Bioimpedância e o HOMA-R. A ingestão nutricional foi avaliada por Questionário de Frequência Alimentar no início e no final do tratamento. Estudou-se como evoluíram estes parâmetros.

Resultados: No início do tratamento estas mulheres tinham uma composição corporal, em média, dentro da normalidade (IMC=23,7, PC=74,2, PC/PA=0,748, MG=27,4) mas encontravam-se desidratadas (ACT=53,1%). Os valores de glicemia (82 mg/dl), insulinemia (7,8 µU/l) e HOMA-R (1,62) encontravam-se dentro dos intervalos de referência e não encontramos casos de IR. A ingestão nutricional também estava de acordo com o recomendado. Durante o período do tratamento aumentaram a PC/PA (0,753) e a MG (28,6%) e a ACT diminuiu (52,1%). Os valores de glicemia (86,7 mg/dl), insulinemia (11,4 µU/l) e HOMA-R (2,47) aumentaram e surgiram casos de IR no 2º (2,1%) e no 3º momento (12,7%). Durante este período diminuiu a ingestão nutricional. As alterações da composição corporal e dos valores determinantes da IR não se relacionaram com as alterações da ingestão.

Conclusões: Durante os TPMA, o PC, a PC/PA e a MG aumentaram e agravou-se o estado de desidratação. A ingestão nutricional diminuiu mas manteve-se dentro dos valores recomendados. Não houve relação entre as alterações da composição corporal e da ingestão nutricional. Os valores da glicemia, insulinemia e HOMA-R aumentaram e surgiram casos de IR. Este aumento não se relaciona com a ingestão alimentar ou alterações da composição corporal, mas surgiu nas mulheres com excesso de peso e de MG.

Summary

Introduction: The Assisted Reproductive Treatments (ART) have been carried through with bigger frequency. In the Europe they are carried through about 250000 cycles per year. The body composition, the Insulinresistance (IR) and the nutritional ingestion influence women's fertility.

Objectives: To evaluate the evolution of the body composition and the nutritional ingestion of the women submitted to these treatments; evaluate if exists association between the variation of the body composition and the ingestion; evaluate the prevalence of IR in these women and if exists association between IR and the body composition or the nutritional ingestion.

Methods: 107 women who had initiated ART had been evaluated. At 3 moments throughout the treatment, the anthropometric parameters (weight, BMI, WC, HC, WC/HC), the Bioimpedance parameters and the HOMA-R had been evaluated. The nutritional ingestion was evaluated by food frequency questionnaire (FFQ) at the beginning and in the end of the treatment. It was studied as these parameters had evolved.

Results: At the beginning of the treatment these women had, on average, a normal body composition (BMI=23,7, WC=74,2, WC/HC=0,748, FM=27,4) but were dehydrated (TBW=53,1%). The values of glucose (82 mg/dl), insulin (7,8 μ U/l) and HOMA-R (1,62) were inside the reference intervals and we did not find cases of IR. The nutritional ingestion also was in accordance with the recommended. During the treatment, increased the WC/HC (0,753) and the FM (28,6%) and the TBW diminished (52,1%). The values of glucose (86,7 mg/dl), insulin (11,4 μ U/l) and HOMA-R (2,47) increased and appeared cases of IR in the 2nd (2,1%) and 3th moment (12,7%). During this period it diminishes the nutritional ingestion. The alterations of the body composition and the values to determine IR were not related with the alterations of the nutritional ingestion.

Conclusions: During the ART, the WC, the WC/HC and the FM had increased and aggravated the dehydration state. The nutritional ingestion diminished but remained inside of the recommended values. There was no relation between the alterations of the body composition and the nutritional ingestion. The values of the glucose, insulin and HOMA-R had increased and appeared cases of IR. This increase was not related with the ingestion or alterations of the body composition, but it appeared in the women with FM and weight excess.

Abreviaturas

ACT - Água Corporal Total

AExt - Água Extracelular

AF - Ângulo de Fase

AInt - Água Intracelular

BIA – Bioimpedância Eléctrica

DGPI - Diagnóstico Genético Pré-Implantação

FIV – Fertilização *in vitro*

FSH – Hormona folículo-estimulante (*follicle stimulating hormone*)

GnRH - Hormona libertadora de gonadotrofinas

hCG – Hormona gonadotrófica coriônica humana

ICSI - Microinjecção Intracitoplasmática

IGF-1 - *Insulin-like growth factor*

IUI - Inseminação Intra-Uterina

IMC – Índice de massa corporal

IR - Insulinorresistência

LH – Hormona luteínizante

MG - Massa Gorda

MNG - Massa Não Gorda

MUFA - Ácidos gordos monoinsaturados

PA – Perímetro da anca

PC – Perímetro da cintura

PC/PA – Relação perímetro da cintura/perímetro da anca

PPAR- γ - *Peroxisome proliferator-activated receptor- γ*

PUFA – Ácidos gordos polinsaturados

TNF- α - *Tumour necrosis factor- α*

TPMA- Tratamentos de procriação medicamente assistida

VET – Valor energético total

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1. Infertilidade.....	1
1.1.1. Ciclo de ovulação	2
1.2. Procriação medicamente assistida.....	4
1.2.1. Inseminação Intra Uterina.....	5
1.2.2. Fertilização <i>in vitro</i>	5
1.2.3. Microinjecção Intracitoplasmática	5
1.2.4. Riscos dos TPM.....	6
1.3. Composição corporal e Fertilidade.....	6
1.3.1. Adipocinas e Fertilidade.....	11
1.4. Composição corporal e os TPMA.....	14
1.5. Nutrição e os TPMA	16
2. Objectivos	19
3. Participantes e Métodos	20
3.1. Amostra.....	20
3.1.1. TPMA na Unidade do H. S. João	21
3.2. Recolha de informações	22
3.3. Procedimento	22
3.4. Análise de dados.....	26
4. Resultados	28
5. Discussão	47
6. Conclusão	59
7. Referências Bibliográficas	61

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribuição (em %) dos tratamentos efectuados	28
Gráfico 2: Distribuição (em %) do grau de escolaridade	29
Gráfico 3: Hábitos tabágicos das participantes (em %).....	29
Gráfico 4: Distribuição da actividade física praticada segundo o número de horas por semana (%).....	30
Gráfico 5: Distribuição (em %) segundo o resultado dos tratamentos	34
Gráfico 6: Prevalência de insulinoresistência (IR) nos 3 momentos da avaliação	43

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: média e desvio-padrão, mínimo e máximo das avaliações do peso e do IMC nos 3 momentos	31
Tabela 2: distribuição conforme a classificação da OMS	31
Tabela 3: média e desvio-padrão, mínimo e máximo das avaliações dos perímetros da cintura, da anca e da relação entre ambos, nos 3 momentos...	32
Tabela 4: média e desvio-padrão, mínimo e máximo das avaliações da composição corporal obtidas por Bioimpedância, nos 3 momentos.....	33
Tabela 5: média e desvio-padrão, mínimo e máximo dos parâmetros de avaliação da IR, nos 3 momentos	33
Tabela 6: Diferenças entre o grupo que fez 3 avaliações e o que não fez	36
Tabela 7: variação das médias dos parâmetros antropométricos e da Bioimpedância, nos 3 momentos, e nível de significância da evolução verificada	37
Tabela 8: variação dos valores da ingestão nutricional, nos 2 momentos, e nível de significância da evolução verificada	39
Tabela 9: variação dos valores da ingestão nutricional (vitaminas e minerais), nos 2 momentos, e nível de significância da evolução verificada	40
Tabela 10: variação dos valores dos parâmetros de determinação da IR nos 3 momentos, e nível de significância da variação encontrada	42
Tabela 11: associação entre os valores de glicemia e os valores dos parâmetros da composição corporal, no 1º e 3º momento	43
Tabela 12: associação entre os valores de insulinemia e os valores dos parâmetros da composição corporal no 1º e 3º momento	44
Tabela 13: associação entre os valores de HOMA-R e os valores dos parâmetros da composição corporal no 1º e 3º momento	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1A: Associação entre a dose de gonadotrofinas e a relação PC/PA inicial	35
Figura 1B: Associação entre a dose de gonadotrofinas e a glicemia inicial ...	35
Figura 2A: Associação entre a diferença de glicemia e a diferença do IMC ..	45
Figura 2B: Associação entre a diferença da glicemia e a diferença da relação PC/PA	45
Figura 3A: Associação entre a diferença de insulinemia e a diferença da ingestão de gorduras totais	46
Figura 3B: Associação entre a diferença do HOMA-R e a diferença da ingestão de gorduras monoinsaturadas	46

1. Introdução

1.1. Infertilidade

Segundo a Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE) na Europa iniciam-se cerca de 250 000 ciclos de Fertilização *in vitro* e de Microinjecção Intracitoplasmática por ano, ou seja, cerca de 1000 ciclos por milhão de habitantes. As estimativas apontam para que 1 a 3% dos nascimentos sejam resultado de tratamentos de procriação medicamente assistida (TPMA) [1]. Em Portugal, a Sociedade Portuguesa de Medicina da Reprodução estima que 10 000 novos casais por ano tenham problemas relacionados com a fertilidade [2].

Os TPMA têm vindo a ser realizados com maior frequência, com técnicas cada vez mais avançadas e chegando a um maior número de casais com problemas de fertilidade.

O diagnóstico de infertilidade de um casal é feito quando, após um ano de relações sexuais regulares e desprotegidas, não foi conseguida uma gravidez. A infertilidade pode ser primária, no caso de o casal não ter conseguido nunca uma gravidez, ou secundária, no caso de já ter havido uma gravidez, bem sucedida ou não.

São várias as causas da infertilidade do casal e podem ser divididas em femininas (cerca de 50% dos casos), masculinas (cerca de 35% dos casos) ou mistas, isto é, mais do que um factor contribui para a infertilidade. Dentro das causas femininas cerca de 20% corresponde a problemas de ovulação, 20% a patologia das trompas uterinas ou do útero e 10% a endometriose. Mas em cerca de 10% dos casais não é possível identificar a causa ou causas que levam à infertilidade, pelo que se designa infertilidade inexplicada.

Durante os TPMA, o ovário da mulher é estimulado com gonadotrofinas exógenas de forma a provocar o desenvolvimento de vários folículos e a maturação dos respectivos ovócitos. Aumenta, assim, a probabilidade de fertilização, o número de embriões disponíveis para selecção e transferência e, conseqüentemente, o sucesso do tratamento [3].

1.1.1. Ciclo de ovulação

Toda a função reprodutora é regulada pela inter-relação do hipotálamo, pituitária e gónadas, que formam o eixo reprodutivo ou gonadotrófico [4]. Por isso várias hormonas são responsáveis pelos sucessivos acontecimentos que formam o ciclo menstrual e mesmo pelo desenvolvimento sexual e reprodutor ao longo da vida.

O ciclo menstrual tem a duração aproximada de 28 dias e compreende 3 fases: a fase folicular, a ovulação e a fase luteínica. O ciclo inicia-se no primeiro dia da menstruação, com a **fase folicular** [5].

Nesta fase, que dura entre 10 e 14 dias, preparam-se os folículos para a ovulação. Ao nascimento, já o número total de folículos primordiais está formado, contendo, cada um, um ovócito em prófase meiótica e, até que se esgotem, estes folículos estão permanentemente em crescimento e atresia [6].

Ainda antes de se iniciar um novo ciclo são recrutados vários folículos para crescimento até à fase pré ovulatória. Este crescimento é independente da influência de qualquer hormona. A meio do ciclo, a produção de activinas pelos folículos leva ao aumento da produção da hormona folículo-estimulante (FSH), que habitualmente permite resgatar um desses folículos. Os restantes sofrem apoptose. O crescimento folicular é, agora, dependente da FSH e é acompanhado pelo aumento da produção dos três tipos de esteróides (estrogénios, androgénios e progesterona), particularmente de estrogénios (estradiol). A aromatização de androgénios em estrogénios também contribui para o ambiente estrogénico no folículo [7, 8].

Nesta fase, os androgénios não só servem de substrato para a aromatização induzida pela FSH, como estimulam a actividade da aromatase, enzima interveniente na conversão. Também os factores de crescimento, como os *insulin-like growth factors* (IGF) estimulam a esteroidogénese e a actividade da aromatase [6].

Sob a influência da FSH e dos estrogénios, o folículo continua a desenvolver-se e começa a expressar genes dos receptores da hormona luteinizante (LH) e do citocromo P450c17 nas células da teca, essenciais para

a conversão do colesterol em androgénios. As células da granulosa apenas expressam receptores de FSH, e não LH, pelo que os androgénios para aromatização são provenientes da teca [6].

A selecção do folículo dominante ocorre entre o 7º e o 9º dia do ciclo e resulta da interacção entre estrogénios e FSH dentro do folículo e do efeito inibitório dos estrogénios na secreção de FSH pela pituitária. O feedback negativo exercido pelos estrogénios na produção de FSH e a acção da inibina-B levam ao seu declínio e por sua vez à diminuição da aromatização de androgénios. Cria-se o ambiente androgénico nos folículos menos maduros que leva à apoptose. Isto porque num ambiente rico em androgénios, estes convertem-se em 5 α -androgénios que, para além de não poderem ser convertidos em estrogénios, inibem a actividade da aromatase [5, 6].

O folículo dominante escapa aos efeitos da supressão de FSH através da sua própria produção de estrogénios. Este folículo tem as vantagens de ter maior número de receptores de FSH, graças à proliferação da granulosa e maior concentração de estrogénios [7, 8].

Altas concentrações de estrogénios exercem um feedback positivo na libertação da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) e da LH. O pico de LH inicia-se quando o estradiol atinge no mínimo 200 pg/ml durante pelo menos 50 horas, ou seja, quando o folículo dominante atinge no mínimo 15 mm [6]. Na fase pré ovulatória, dá-se o início do pico da LH, promovendo a produção de progesterona que facilita a produção de FSH.

A **fase ovulatória** inicia-se poucas horas após os picos de LH, FSH e estradiol. O pico de LH dá início à continuação da meiose do ovócito, à luteinização da granulosa e síntese de progesterona e prostaglandinas. A actuação da progesterona, prostaglandinas, FSH e LH estimula a acção de enzimas proteolíticas que destroem a parede folicular libertando o óvulo [5, 6].

A **fase luteínica** dura cerca de 14 dias. No início desta fase forma-se o corpo lúteo (ou corpo amarelo) e inicia-se uma intensa vascularização em resposta à LH e a factores de crescimento. A produção de progesterona pelas células do corpo lúteo continua e atinge o pico 8 horas após o pico de LH. A progesterona, estrogénio e inibina-A exercem um efeito negativo sobre a

produção de gonadotrofinas e um novo crescimento folicular. Cerca de 9 a 11 dias após a ovulação, o corpo lúteo degenera. Desconhecem-se os mecanismos mas sabe-se que envolvem a acção luteolítica do estrogénio, prostaglandinas e outros factores [5, 7]. Nesta altura surge a menstruação.

Com o desaparecimento do corpo lúteo diminuem drasticamente as concentrações séricas de estradiol, progesterona e inibina e aumenta a de FSH. A inibina-A deixa de exercer o efeito inibitório na pituitária e o estradiol e a progesterona deixam de exercer o efeito inibitório na secreção de GnRH [5].

Este aumento da FSH vai permitir o recrutamento de um novo grupo de folículos, com cerca de 70 dias de evolução, para selecção de um dominante. Dá-se início a um novo ciclo [5, 7].

No caso de ocorrer uma gravidez, o corpo lúteo é resgatado pela hormona gonadotrófica coriónica humana (hCG) para continuar a produzir progesterona até que a placenta o possa fazer [6].

1.2. Procriação medicamente assistida

Os tratamentos de procriação medicamente assistida abrangem todas as técnicas que impliquem manipulação de ovócitos fora do corpo humano. O primeiro tratamento foi, e ainda hoje é o mais comum, a Fertilização *in vitro*. A primeira criança, resultante de FIV, nasceu em 1978 e desde então as técnicas têm vindo a ser aperfeiçoadas e a sua aplicação alargada [3].

Actualmente também é utilizada a Microinjecção Intracitoplasmática e, associado a esta, pode ser realizado o Diagnóstico Genético Pré-Implantação. O esperma pode ser colhido por ejaculação, aspiração microcirúrgica (MESA) ou extracção testicular (TESE).

A Inseminação Intra-Uterina, embora não seja considerada um TPMA, será incluída neste capítulo, uma vez que também envolve manipulação de gâmetas, neste caso de espermatozóides.

Geralmente os TPMA são utilizados para ajudar um casal infértil a conceber um filho biológico, mas também podem ser utilizados esperma e ovócitos de dador, consoante as circunstâncias.

1.2.1. Inseminação Intra-Uterina (IIU)

Neste tratamento o ovário é estimulado diariamente com injeções subcutâneas de FSH durante um período médio de 8 a 10 dias. Durante esse período vão sendo efectuadas ecografias para determinar o momento para provocar a ovulação. Nessa altura é colhido o esperma, que após preparação laboratorial, é colocado no interior do útero. Duas semanas depois a doente realiza a análise sanguínea à hormona gonadotrófica coriónica humana (β -hCG) para avaliar o sucesso do tratamento.

1.2.2. Fertilização *in vitro* (FIV)

A FIV também se inicia com a estimulação diária do ovário com injeções de FSH durante um período de 10 a 14 dias. Durante esse período vão sendo efectuadas ecografias para determinar o dia ideal para a colheita de ovócitos. Este procedimento, denominado punção folicular, é efectuado por via vaginal sob efeito anestésico. No mesmo dia é colhido o esperma. Os ovócitos são incubados com os espermatozóides para que a fecundação possa ocorrer. Os embriões (geralmente 2) serão transferidos para o útero 2 a 5 dias após a fecundação. Duas semanas depois a doente realiza a análise sanguínea à β -hCG para avaliar o sucesso do tratamento.

1.2.3. Microinjecção Intracitoplasmática (ICSI)

A ICSI é muito semelhante à FIV, a diferença reside na técnica utilizada para a fecundação. Nesta técnica, maioritariamente utilizada para os casos de infertilidade masculina, um espermatozóide é injectado dentro de cada ovócito disponível. As restantes fases do processo são idênticas às da FIV.

Associado a ICSI pode ser realizado o Diagnóstico Genético Pré-Implantação (DGPI), que é uma técnica que visa despistar a presença de anomalias genéticas graves nos embriões antes de serem transferidos para o útero da doente. Podem ser despistadas várias doenças como a Paramiloidose Familiar ou a Fibrose Quística e algumas anomalias cromossómicas como o Síndrome de Down. As fases do tratamento são as descritas para a ICSI, a diferença reside no facto de, ao 3º dia de desenvolvimento embrionário, ser

efectuada uma biopsia (colheita de 1 a 2 blastómeros) para análise genética. No 5º dia é efectuada a transferência dos embriões não afectados pela anomalia que se pretendia despistar. [3]

1.2.4. Riscos dos tratamentos de procriação medicamente assistida

Os riscos dos TPMA são poucos e actualmente facilmente acautelados. São, principalmente, o risco de gravidez múltipla e o Síndrome de Hiperestimulação Ovária [9].

O risco de gravidez múltipla pode ser minorado com a transferência de reduzido número de embriões, atitude que é tomada em algumas das Unidades, restringindo a um máximo de dois embriões em praticamente todos os casos.

O risco do Síndrome de Hiperestimulação Ovária, em que doses demasiado elevadas de FSH ou de hCG podem levar a um excessivo desenvolvimento folicular, pode ser minorado através da monitorização por ultrassonografia e medição do estradiol sérico regularmente.

Não existem complicações a longo prazo descritas [9].

1.3. Composição corporal e Fertilidade

O início e manutenção da função reprodutiva na mulher estão relacionados com uma composição corporal óptima [10] e dependem de um valor crítico de gordura corporal, que ronda os 22% [11].

Isto porque os mecanismos que regulam o metabolismo energético estão inerentemente ligados aos que regulam a fertilidade [12]. Qualquer alteração do estado nutricional ou qualquer distúrbio metabólico pode interferir com a complexa rede de hormonas, que são essenciais para a fertilidade [13]. Podem ocorrer disfunções nos dois extremos do peso corporal [14], ou seja, a relação entre fertilidade e peso corporal não é linear mas terá a forma de um U invertido [15, 16]. Um índice de massa corporal abaixo de 18,5 kg/m² ou

superior a 25 kg/m² está associado a um maior risco de infertilidade [10] e a um tempo superior até à concepção [17].

Nas mulheres de **baixo peso**, a redução na fertilidade deve-se a uma redução na secreção da GnRH [18]. A secreção de gonadotrofinas é sensível não só à quantidade de tecido adiposo [10, 17] como à disponibilidade de substratos energéticos [19]. Este tipo de infertilidade deve-se a um balanço energético negativo e é reversível. Assim que a disponibilidade de metabolitos oxidáveis aumenta, ainda que a reposição do tecido adiposo não aumente, também a secreção de LH é reposta [20-22].

Esta situação verifica-se sempre que há um défice energético como nos casos de atletas, doentes com anorexia nervosa e outras doenças do comportamento alimentar e em mulheres normoponderais que perderam peso [23, 24]. A perda de 10 a 15% do peso ou uma restrição alimentar de 30%, em normoponderais, é suficiente para comprometer a função ovulatória [25].

A associação entre **obesidade e infertilidade** é reconhecida há muito tempo e muito complexa. As mulheres obesas têm um risco de infertilidade três vezes superior ao de mulheres normoponderais [26] e esta relação parece ser mais forte quanto mais precoce for a instalação do excesso de peso [27].

Sabe-se que a obesidade está associada a diversas alterações endócrinas, incluindo anormais concentrações séricas de hormonas, devidas a alterações na secreção, no metabolismo, no transporte ou na acção no tecido alvo [27]. Assim, a obesidade prejudica a fertilidade feminina através de vários mecanismos, como o hiperandrogenismo, a insulinoresistência e a hiperleptinemia [26] que se fazem reflectir em distúrbios menstruais como a oligomenorreia, amenorreia ou anovulação [14] e influenciam a probabilidade de resposta à terapia de indução ovulatória [28]. Este ambiente afecta o crescimento folicular, a ovulação, o desenvolvimento embrionário e a implantação, quer na gravidez natural quer na resultante de TPMA [29, 30].

Mas, mais do que a obesidade de forma geral, a distribuição de **gordura na zona abdominal** parece ter especial impacto na ovulação e na fertilidade [27]. Esta distribuição, avaliada por uma relação perímetro da cintura/perímetro da anca superior a 0,8 implica maior risco de irregularidades menstruais [14].

O tecido adiposo é crucial no controlo da disponibilidade de hormonas sexuais em tecidos alvo não-adiposos. Isto porque é um local de produção de androgénios, de conversão de androgénios em estrogénios, através da aromatase, e porque é capaz de armazenar vários esteróides, que parecem preferir este tecido ao sangue [27]. Portanto, em obesas o excesso de tecido adiposo leva ao aumento dos androgénios e consequentemente dos estrogénios, que exercem um efeito inibitório no hipotálamo e pituitária [30].

Assim, em obesas, o *pool* de esteróides é consideravelmente superior ao das normoponderais e está alterado o balanço entre androgénios e estrogénios. Isto porque também o seu transportador, a *sex hormone binding globulin* (SHBG) se encontra reduzido. Esta redução resulta numa diminuição do transporte de esteróides para os tecidos alvo, especialmente testosterona, dihidrotestosterona e androstenediona, uma vez que tem maior afinidade para estes do que para os estrogénios [27, 31, 32]. Este transportador é regulado por vários factores que incluem estrogénios, iodotironinas e hormona de crescimento como estimulantes e androgénios e insulina como inibidores. Daí que em obesas se verifique um decréscimo da sua concentração [14, 31] e o grau de obesidade esteja inversamente relacionado com os níveis de SHBG [27, 32]. Mulheres com obesidade central, andróide, têm menor valor sérico de SHBG do que mulheres com obesidade ginóide, o que parece dever-se aos elevados níveis de **insulina** circulante nestas doentes que, como atrás referido, inibem a sua síntese. Consequentemente aumenta a taxa de produção dos androgénios e aumenta a fracção de testosterona livre. No entanto, os valores séricos destas hormonas mantêm-se dentro dos limites da normalidade, sugerindo a presença de um sofisticado sistema de regulação de acordo com o índice de massa corporal (IMC) [27, 31, 32]. Mas, independentemente do IMC, existe uma relação inversa entre os valores de SHBG ou de testosterona e a relação cintura/anca [31].

A obesidade também afecta os androgénios não ligados à SHBG. Está igualmente aumentada a produção de dihidroepiandrostenediona e de androstenediona [27, 31].

Assim, nas obesas instala-se o estado de hiperandrogenismo funcional que resulta em anovulação através da inibição da maturação folicular [14].

O aumento dos androgénios leva ao aumento da produção de estrogénios, especialmente na obesidade central, por aumento da actividade da aromatase [33] e a redução da SHBG leva a uma maior exposição dos tecidos aos estrogénios livres. No entanto, as concentrações séricas de estrogénios mantêm-se normais ou ligeiramente aumentadas, o que tem sido atribuído à capacidade do tecido adiposo para armazenar o excesso [32].

Os androgénios actuam no ovário e a nível central, pelo que está perfeitamente estabelecida uma relação inversa entre a obesidade, avaliada pelo IMC ou pelo perímetro da cintura, e os valores séricos de gonadotrofinas [34, 35].

A obesidade está associada a **insulinorresistência** (IR) e esta relação é reconhecida há décadas. É indiscutível a influência da composição corporal na acção da insulina, particularmente da gordura abdominal, mais do que da gordura corporal total [36, 37]. A insulinorresistência pode ser definida como uma redução do efeito biológico da insulina sobre a glicose, para uma determinada concentração de insulina, por deficiente resposta dos tecidos à hormona [31]. Os mecanismos envolvidos no seu aparecimento não estão ainda totalmente esclarecidos e vão sendo propostas novas hipóteses [38].

A circulação de ácidos gordos livres é sem dúvida um factor importante no aparecimento da IR [39]. O aumento do tecido adiposo, especialmente na zona abdominal, aumenta a disponibilidade destes, quer por diminuição da capacidade de sintetizar triacilgliceróis quer por aumento da lipólise [31, 40]. Estes ácidos gordos geram acyl-CoA, ceramidas e diacilgliceróis que se acumulam em diversas células e diminuem a sensibilidade à insulina por interferirem com as vias de sinalização [39, 40]. Este fluxo de ácidos gordos é proveniente, não só, do tecido adiposo visceral mas também do tecido adiposo subcutâneo [41, 42]. Também um aumento da produção de cortisol aumenta a lipólise no tecido adiposo, aumentando a concentração sérica de ácidos gordos livres, e a produção de glicose a nível hepático, o que agrava a IR e a hiperinsulinemia [43].

Mas outros factores levam ao aparecimento da IR. Alguns defeitos genéticos também podem levar à acumulação de gorduras em locais que não o tecido adiposo e desencadear o aparecimento da IR [44].

A insulinoresistência tem sido associada à infertilidade uma vez que a insulina é uma hormona que interfere activamente no processo reprodutivo. Naturalmente está associada aos casos de obesidade e de Síndrome do Ovário Poliquístico, mas pode existir noutras situações.

A **insulina** influencia directamente todo o processo reprodutivo, desde a esteroidogénese no ovário, à foliculogénese e ovulação [13]. Actua no ovário através de receptores próprios e dos receptores do IGF-1, estimulando a esteroidogénese através da estimulação da actividade enzimática do citocromo P450 [33]. Aumenta a sensibilidade à acção da GnRH e reforça a resposta do ovário às gonadotrofinas, provavelmente através do aumento do número de receptores da LH [27, 31, 43].

O excesso de insulina tem efeitos directos e indirectos que resultam no aumento de produção de androgénios. Directamente, este hiperinsulinismo leva ao aumento da produção de androgénios pelas células do ovário [45, 46] e esta é uma das possíveis causas do aparecimento do Síndrome do Ovário Poliquístico [46]. O excesso de insulina leva, ainda, à diminuição da síntese de SHBG no fígado, por isso estão inversamente relacionados [33], e à diminuição da síntese da *IGF binding protein-1* (IGFBP-1), no fígado e ovário, aumentando a biodisponibilidade de IGF-1, que actua no ovário estimulando a produção de androgénios [14, 31, 33, 47]. Indirectamente, o aumento da insulina leva ao aumento da secreção de LH com consequente aumento das concentrações de androgénios no ovário [48].

Todas estas situações levam ao aparecimento do **hiperandrogenismo** que, como já referimos, leva ao anormal desenvolvimento folicular e, portanto, a disfunção ovárica e menstrual [49].

Uma vez que o aumento dos androgénios, especialmente a dihidrotestosterona e a testosterona, potenciam a insulinoresistência [46] e os estrogénios parece terem um papel protector [36], neste estado de hiperandrogenismo, esta situação torna-se persistente.

1.3.1. Adipocinas e Fertilidade

O tecido adiposo funciona como um órgão endócrino e parácrino altamente especializado que produz uma variedade de **adipocinas**, todas elas com efeitos em vários sistemas e que também têm sido implicadas no aparecimento e agravamento da IR [50]. Mitchell *et al* considerou a intervenção destas na fertilidade feminina a 4 níveis: efeitos centrais no hipotálamo e pituitária, efeitos periféricos no ovário e aparelho reprodutor, efeitos directos no ovócito e no embrião e efeitos na gravidez [12]. De facto, existem receptores para estas adipocinas em todos os órgãos ligados à reprodução e muitas delas têm variações cíclicas menstruais [30].

A **leptina** é uma hormona produzida pelo tecido adiposo que actua como um sinal a nível central levando informação da quantidade de energia armazenada no tecido adiposo e de alterações na sua disponibilidade [11, 25], ou seja, actua no hipotálamo levando à diminuição do apetite e aumento do dispêndio energético [13]. A sua secreção pelos adipócitos é proporcional às reservas de gordura corporais. Assim, o aumento de tecido adiposo nos obesos implica uma maior produção desta hormona que, ao actuar, deveria levar à perda de peso. No entanto, tal não acontece, o que sugere resistência à leptina [30]. A leptina também inibe o receptor da insulina e do IGF-1 e a sinalização através do *peroxisome proliferator-activated receptor-γ* (PPAR- γ) [31], pelo que contribui para o aumento da insulina em indivíduos obesos [46].

É, portanto, uma importante hormona anorexigénica, mas tem outros efeitos biológicos, nomeadamente na função das gónadas e na reprodução [27, 51]. Está presente em vários tecidos reprodutores (ovário - células foliculares e ovócitos, endométrio, embrião pré-implantação e placenta) e flutua de forma semelhante a outras hormonas femininas [30, 52].

Parece ser a leptina a responsável, quando atinge um determinado valor, pela activação do eixo hipotálamo-pituitária e o início da puberdade [12] e pela manutenção da função reprodutora [24].

A leptina parece facilitar a secreção de GnRH indirectamente através da modulação de diversos neuropeptídeos. Na pituitária estimula directamente a

secreção de LH e, de forma menos extensa, de FSH [32]. No endométrio facilita a implantação do embrião [13].

Em mulheres de baixo peso, verifica-se uma baixa concentração de leptina que deixa de exercer efeito na estimulação da secreção de LH [23, 25], não permitindo o desenvolvimento dos folículos até à ovulação [53].

O excesso de leptina, que se verifica na obesidade, tem importantes efeitos prejudiciais para a reprodução [30]. Diminui o efeito estimulador da produção de LH na pituitária [34]. No ovário reduz a esteroidogénese, provavelmente por antagonizar os factores estimuladores, como a insulina e o IGF-1, inibe a produção de estradiol estimulada pela LH e inibe o desenvolvimento folicular e a maturação dos ovócitos [24, 27, 47], o que pode contribuir para a infertilidade em mulheres obesas [32, 47].

Mas também se verifica um aumento da leptina sérica em mulheres com infertilidade inexplicada, quando comparada com a de mulheres férteis, independentemente do IMC [51].

Em TPMA verificou-se que os valores da leptina se relacionavam com os da FSH e com os de estrogénios [13, 52]. Os valores de leptina eram mais baixos durante os ciclos bem sucedidos [13], portanto, talvez o seu valor possa ser preditivo do sucesso dos tratamentos [54].

A concentração plasmática de **adiponectina** está inversamente relacionada com o peso corporal, com a percentagem de gordura corporal total, com a distribuição de gordura central [37] e, também, com a insulina, pelo que poderá estar implicada no estado de hiperinsulinismo e consequente hiperandrogenismo que se verifica na obesidade [47]. A adiponectina tem um importante papel na modulação das concentrações de glicose e ácidos gordos livres, aumenta a sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos [13] por facilitar as vias de sinalização [50] e por isso é considerada anti-diabética [30, 36]. Por se encontrar diminuída nos obesos, deixa de exercer os seus efeitos e está associada ao aparecimento da IR [13, 47].

Para além deste importante papel na sensibilização à insulina, a adiponectina actua a nível do sistema reprodutor potenciando a ovulação [30]. Quando se encontra diminuída, como na obesidade, deixa de exercer efeito

inibitório da esteroidogénese no ovário [55], por isso está negativamente associada à testosterona [36].

A **resistina**, produzida pelos adipócitos, está aumentada na obesidade. Parece prejudicar a tolerância à glicose [30] e favorecer a insulinoresistência, indirectamente, pela estimulação da produção de *tumour necrosis factor- α* (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) [12, 56].

No sistema reprodutor parece ter um efeito estimulante na produção de testosterona pelas células foliculares [12] e prejudicar a ovulação e implantação embrionária [30]. Em mulheres sujeitas a FIV não foi associada a qualquer marcador de IR, resposta hormonal ou taxa de gravidez [30].

Também outras hormonas e neuropeptídeos que interferem com a ingestão alimentar e regulam o equilíbrio energético têm papéis importantes na função reprodutiva, como a grelina [4].

A **grelina**, produzida principalmente no estômago, actua no hipotálamo e leva ao aumento da ingestão e da adiposidade. Os níveis em circulação aumentam antes das refeições e são suprimidos após a ingestão de nutrientes [13]. Aumenta em alturas de privação alimentar e está inversamente relacionada como IMC [4].

A grelina parece actuar a diferentes níveis do eixo reprodutor. Na pituitária reduz a secreção de LH e no hipotálamo reduz a secreção de GnRH [4]. Também se encontra em vários órgãos reprodutores, como os ovários e o endométrio, onde parece actuar inibindo a implantação e desenvolvimento embrionário [13]. Foi encontrada uma relação inversa significativa entre a grelina e os androgénios [32]. Uma elevação persistente da grelina, como resultado de insuficiência energética, inibe o início da puberdade [4].

A obesidade é caracterizada por um estado inflamatório crónico de intensidade moderada e, como tal, de produção de **citocinas** inflamatórias que também exercem a sua influência a nível reprodutor.

Provavelmente a mais expressiva é o TNF- α . O TNF- α é produzido no tecido adiposo, não só pelos adipócitos mas também por outras células, como os macrófagos, e a concentração plasmática correlaciona-se com o IMC e com

a hiperinsulinemia, uma vez que parece estimular a produção de leptina e diminuir a de adiponectina pelos adipócitos [30].

A nível reprodutor, muitos tecidos expressam TNF- α ou o seu receptor e não se sabe se o produzido localmente e o circulante terá diferentes efeitos [30]. Influencia negativamente a foliculogénese e a maturação ovárica, diminui a produção de estrogénios pelas células foliculares e regula a atresia folicular no ovário [33]. Por outro lado, estimula a expressão do gene da aromatase, pelo que a produção de estrogénios aumenta quando este é produzido em excesso [30].

Outras citocinas como a interleucina-1 e a interleucina-6 potenciam o aparecimento da IR [12, 30]. Isto porque inibem as vias de sinalização da insulina e os receptores nucleares, como o PPAR- γ [38, 48, 50], estimulam a lipólise e inibem a síntese de triacilgliceróis, aumentando os ácidos gordos livres [39].

1.4. Composição corporal e os TPMA

A resposta aos tratamentos e os resultados obtidos podem ser afectados pelo peso corporal e pelo estado nutricional [57, 58]. Há mesmo quem afirme que os melhores sinais indiciadores do insucesso destas técnicas são a obesidade e a insulinoresistência [49].

Como vimos atrás, a **obesidade** pode prejudicar a reprodução feminina de várias formas. Pode afectar a ovulação, prejudicar o processo fisiológico e comprometer o sucesso dos TPMA [15, 29, 57]. As mulheres obesas têm menor probabilidade de engravidar e se engravidarem têm maior probabilidade de abortamentos [49, 59, 60].

Geralmente as mulheres com maior **IMC** necessitam de maiores doses de gonadotrofinas [28, 58, 60] e maior período de estimulação [10, 26, 28, 29, 57], o que sugere alguma resistência às gonadotrofinas exógenas [10], têm maior número de ciclos cancelados [61], maior incidência de assincronia folicular e menor número de ovócitos colhidos [10, 15, 26, 29], um maior

número de folículos pequenos mas menor de grandes folículos [28] e menor taxa de nascimentos e maior taxa de abortamentos [10, 62, 63].

Na presença de **insulinorresistência** verificou-se a necessidade de maior dose de gonadotrofinas para alcançar a ovulação [28, 64] e esta foi associada a maior risco de abortamento [65]. Alguns autores consideram que a combinação de obesidade e IR é a mais significativa determinante para o desfecho dos TPMA [28]. Por isso recomendam uma modificação do estilo de vida que melhore a sensibilidade à insulina, mesmo com modestas reduções no peso, o que resulta num aumento da taxa de sucesso [63].

Mas estes resultados são controversos, uma vez que há estudos que demonstraram não haver diferenças entre obesas e normoponderais no desenvolvimento dos folículos [66] e mesmo no sucesso dos tratamentos [10, 28, 58, 60, 67].

Também a distribuição da gordura corporal influencia o êxito destes tratamentos. Uma relação entre os perímetros da cintura e da anca igual ou superior a 0,8 (distribuição andróide), ainda que em mulheres com IMC normal, foi associada a uma menor taxa de gravidez quando comparada com a de mulheres com uma distribuição ginóide [68]. O aumento de 0,1 unidade nesta relação levava a uma diminuição de 30% da probabilidade de engravidar [29].

O hiperandrogenismo prejudica o desenvolvimento ovocitário, resultando em ovócitos de baixa qualidade [68].

Relativamente às **magras**, alguns trabalhos referem não existir relação entre o baixo peso e resultado do TPMA [10, 53, 62]. O risco de abortamento também parece ser igual ao de normoponderais [15]. No entanto, Dechaud relata que as magras tinham taxas de implantação e de gravidez menores e maior risco de abortamentos que as normoponderais [67].

Por isso as recomendações para tentar aumentar as probabilidades de sucesso dos TPMA vão no sentido de tentar alcançar um peso óptimo antes do

seu início. Há mesmo quem refira que, em mulheres obesas, a perda de 10 a 15% de peso poderá levar a um aumento para 40 a 50% de sucesso [15].

De facto, vários trabalhos têm abordado a relação entre o peso ou a composição corporal e os resultados dos tratamentos. Mas, segundo o nosso conhecimento, nunca foi esclarecido como evoluem os parâmetros da composição corporal durante o período de tratamento. É frequentemente referido por estas doentes o aumento de peso e de volume, particularmente com o aumento de tratamentos realizados.

1.5. Nutrição e os TPMA

Embora o papel da dieta na infertilidade feminina ainda não tenha sido suficientemente estudado, sabe-se que terá uma intervenção notável. Existe já alguma evidência de que os nutrientes ingeridos por potenciais mães podem influenciar vários aspectos da fertilidade, desde os acontecimentos peri-concepcionais até ao final da gravidez. Alguns estudos, quer experimentais quer em humanos, já foram realizados com o intuito de averiguar que factores dietéticos interferem com a fertilidade. Até ao momento não existe evidência suficiente para que se possam fazer recomendações específicas para o aumento da fertilidade [57].

Já se concluiu que um balanço energético negativo é restritivo da função reprodutora, como atrás referido [18, 19].

Foram realizados por Chavarro vários estudos, inseridos no Nurses' Health Study II, relativos à influência da ingestão alimentar na infertilidade de causa ovulatória. Concluiu-se que o consumo de ácidos gordos *trans* [69], de proteínas animais [70] e de lacticínios magros [71] estava associado a um maior risco de infertilidade e que o consumo de ácidos gordos polinsaturados não se revelou protector [69]. Não se encontrou qualquer associação com a lactose, o cálcio, o fósforo ou a vitamina D [71]. No entanto, o consumo de ferro [69], de proteínas vegetais [70], de lacticínios gordos [71] e de multivitamínicos, em particular do ácido fólico [72], teria um efeito protector deste tipo de

infertilidade. Assim, parece que a utilização de uma dieta com esta composição, a “dieta da fertilidade” associada a aumento da actividade física e controlo do peso corporal poderia prevenir os casos de infertilidade de causa ovulatória [73].

Num pequeno estudo concluiu-se que mulheres que ingeriam um suplemento alimentar com bagas, extracto de chá verde, L-arginina, vitaminas (incluindo folatos) e minerais (incluindo ferro e zinco) tinham uma taxa de gravidez superior à de mulheres que ingeriram o placebo [57].

O consumo de suplementos de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) parece diminuir os casos de prematuridade, modificar o padrão lipídico dos folículos, aumentar o número e tamanho destes e aumentar a taxa de ovulação, mas pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos. No entanto, a sua utilização durante tratamentos de FIV, atrasa o desenvolvimento embrionário e altera a morfologia do zigoto [74].

Também a influência da dieta na resistência à insulina, factor importante da fertilidade feminina, tem sido alvo de vários estudos

Dietas com elevado teor em fibra e glícidos com baixo índice glicémico [75, 76], dietas isoenergéticas ricas em monoinsaturados (MUFA) [37, 77] e dietas ricas em PUFA [78, 79] parecem melhorar a sensibilidade à insulina e reduzir a IR. Mas os estudos realizados em humanos são controversos e há os que não demonstram qualquer efeito dos PUFA [80] ou dos MUFA [79] sobre a IR. Já os ácidos gordos saturados e os *trans* parecem potenciar a IR [81]. Ainda assim, Risérus [82] conclui que a substituição de gorduras saturadas por mono ou polinsaturadas tem efeitos benéficos na melhoria da sensibilidade à insulina.

Quanto às proteínas, parece que as proteínas animais prejudicam a sensibilidade à insulina [75] enquanto as vegetais poderão ter efeitos benéficos no controlo da IR [43].

O consumo de cálcio foi associado a menor incidência de insulinoresistência, independentemente da presença de obesidade [83, 84].

Ao analisarmos estas interações entre nutrientes e fertilidade surgiram-nos algumas questões. Qual o padrão alimentar das mulheres que iniciam os TPMA? E este altera-se ao longo do tratamento? Será o aumento de peso reportado por estas mulheres reflexo de alterações da ingestão alimentar durante este período? São três questões que parece nunca terem sido esclarecidas e que nos levaram a desenvolver este trabalho.

2. Objectivos

Este estudo tem os seguintes objectivos:

- 1.** Avaliar a evolução da composição corporal das mulheres submetidas a tratamentos de procriação medicamente assistida.
- 2.** Avaliar a evolução da ingestão nutricional das mulheres submetidas a tratamentos de procriação medicamente assistida.
- 3.** Determinar se existe associação entre a variação da composição corporal e a ingestão nutricional.
- 4.** Determinar a prevalência de insulinoresistência nestas mulheres.
- 5.** Determinar se existe associação entre a insulinoresistência e a composição corporal e entre a insulinoresistência e a ingestão nutricional.

3. Participantes e Métodos

Foi realizado um estudo observacional analítico – transversal e prospectivo, na Unidade de Medicina da Reprodução do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de S. João que foi aprovado pela Comissão de Ética deste Hospital.

As participantes foram informadas sobre os objectivos do estudo e os métodos a usar através da leitura e explicação pelo investigador da “Informação ao Participante”. Foi obtido o seu consentimento e registado na “Declaração de Consentimento”, sendo garantida a protecção e a confidencialidade das informações recolhidas.

3.1. Amostra

Todas as possíveis participantes, mulheres que iniciariam tratamento de procriação medicamente assistida nesta Unidade entre Janeiro e Junho de 2008, foram contactadas telefonicamente alguns dias antes da consulta de início do tratamento. Nessa altura foram informadas sobre os objectivos e métodos da investigação e que, caso aceitassem participar, deveriam apresentar-se no dia da consulta em jejum de 12 horas e não deveriam praticar qualquer actividade física nas 24 anteriores. Nos casos de IIU, uma vez que as mulheres têm indicação para se dirigirem ao serviço no 3º dia do ciclo, sem aviso prévio, em poucas situações foi possível contactá-las previamente, pelo que o seu número na amostra é muito reduzido.

Assim, foram incluídas neste estudo 107 mulheres que iniciaram tratamento de procriação medicamente assistida (FIV, ICSI, ICSI + DGPI) e algumas que iniciaram a realização de IIU nesta Unidade entre Janeiro e Junho de 2008, que, voluntariamente, aceitaram participar e que cumpriram os pressupostos exigidos pela metodologia.

Foram excluídas, por protocolo da Unidade, as doentes portadoras de doenças crónicas que constituam uma contra-indicação para realização de

tratamentos de procriação medicamente assistida ou para uma gravidez, as diabéticas, as que não aceitaram participar e as que não cumpriram os pressupostos exigidos.

Das 107 participantes que iniciaram o estudo, apenas 78 foram avaliadas no final. A diminuição do número de participantes entre o primeiro e o segundo momento deveu-se aos casos de cancelamento do ciclo e de impossibilidade de realização de alguma das avaliações. A diminuição do número de participantes entre o segundo e o terceiro momento deveu-se aos casos em que não houve transferência de embriões, ao incumprimento dos pressupostos pelas participantes (jejum) e a impossibilidade de realização de alguma das avaliações.

3.1.1. TPMA na Unidade do Hospital de S. João

Após o diagnóstico de infertilidade conjugal e se os problemas não forem resolvidos com técnicas mais simples ou se os factores de infertilidade a tal obrigarem, o casal é encaminhado para a realização dos tratamentos. Nesta Unidade são realizados a IIU, a FIV, a ICSI e, associado a esta, o DGPI.

Em 2007 realizaram-se nesta Unidade 388 tratamentos, dos quais 81 IIU de que resultaram 8 gravidezes; 98 FIV com 89 transferências de embriões e 37 gravidezes; 172 ICSI com 158 transferências e 45 gravidezes; 37 DGPI com 22 transferências e 3 gravidezes.

O procedimento é o anteriormente descrito. O ovário é estimulado com gonadotrofinas exógenas durante um período de 8 a 14 dias, consoante o tipo de tratamento em causa. Para a estimulação do ovário é utilizada FSH recombinante (Gonal F®, Serono Europe, Reino Unido ou Puregon®, Organon, Holanda) ou purificada (Menopur®, Ferring Portuguesa) com doses inicialmente mais baixas que vão sendo ajustadas à situação da doente. A estimulação é monitorizada com controlo ecográfico e medição do estradiol sérico.

Nos casos de FIV e ICSI, a maturação final do ovócito é induzida com uma injeção única de hCG (Pregnyl®, Organon, Holanda) quando, pelo

menos, três folículos atingem os 17 mm de maior diâmetro. O mesmo fármaco é utilizado para induzir a ovulação nas IIU quando 1 a 2 folículos atingem os 17 mm de maior diâmetro.

A gravidez é confirmada cerca de duas semanas após a transferência embrionária ou a inseminação intra-uterina através da determinação do valor de β -hCG plasmática e por ecografia transvaginal duas semanas após o resultado da β -hCG.

3.2. Recolha de informações

Os dados foram recolhidos na Unidade de Medicina da Reprodução, em três momentos ao longo do tratamento. Sendo o 1º momento no dia em que as participantes se deslocam à consulta para início do tratamento, o 2º momento no dia da colheita de ovócitos, na FIV ou ICSI, ou da inseminação intra-uterina (10 a 15 dias após o 1º) e o 3º momento no dia de colheita de sangue para confirmação ou não da gravidez (10 a 15 dias após o 2º). Portanto, entre o primeiro e o terceiro momento, decorre aproximadamente 1 mês.

3.3. Procedimento

a) Primeiro momento:

No primeiro momento, dia da consulta para início do tratamento, foram realizados os seguintes procedimentos, em 107 participantes:

1. Recolha de informações, pelo investigador, usando um formulário estruturado:

- Identificação
- Tipo de infertilidade
- Diagnóstico da causa da infertilidade
- Outras patologias
- Medicação habitual

- Tratamento de PMA proposta
 - Prática de actividade física
 - Hábitos tabágicos
 - Confirmação do jejum
2. Colheita de sangue, pela enfermeira do Serviço, para análise de glicemia e insulinemia em jejum, inseridos nas avaliações analíticas protocoladas pelo serviço para início dos tratamentos
 3. Avaliação antropométrica, pelo investigador, que incluiu a avaliação do peso, da estatura, do perímetro da cintura e do perímetro da anca
 4. Avaliação da composição corporal através da Bioimpedância Eléctrica, pelo investigador.
 5. Entrega à participante, para auto preenchimento, de um Questionário de Frequência Alimentar, recolhido no final. Este questionário reporta os 12 meses anteriores.

b) Segundo momento

No segundo momento, o dia da inseminação artificial ou da colheita de ovócitos, conforme o tratamento em causa, foram realizados os seguintes procedimentos, em 84 participantes:

1. Recolha de informações, pelo investigador, usando o formulário estruturado:
 - Prática de actividade física
 - Tratamento efectuado, doses e duração
2. Colheita de sangue, pela enfermeira do Serviço, para análise de glicemia e insulinemia em jejum.

3. Avaliação antropométrica, pelo investigador, que incluiu a avaliação do peso, da estatura, do perímetro da cintura e do perímetro da anca.
4. Avaliação da composição corporal através da Bioimpedância Eléctrica, pelo investigador.

c) Terceiro momento

No terceiro momento, o dia da confirmação, ou não, da gravidez, foram realizados os seguintes procedimentos, em 78 participantes:

1. Recolha de informações, pelo investigador, usando o formulário estruturado:
 - Prática de actividade física
2. Colheita de sangue, pela enfermeira do Serviço, para análise de glicemia e insulinemia em jejum.
3. Avaliação antropométrica, pelo investigador, que incluiu a avaliação do peso, da estatura, do perímetro da cintura e do perímetro da anca
4. Avaliação da composição corporal através da Bioimpedância Eléctrica, pelo investigador.
5. Entrega à participante, para auto preenchimento, de um Questionário de Frequência Alimentar, recolhido no final. Este segundo questionário reporta apenas o período de tempo desde o início do tratamento.

As avaliações antropométricas foram efectuadas de acordo com a metodologia reconhecida internacionalmente [85-87]. As participantes foram pesadas em balança modelo Jofre e a leitura foi efectuada até ao 0,1 kg mais próximo. Foram medidas no estadiómetro da balança e a leitura foi efectuada ao 0,5 cm mais próximo. Os perímetros da cintura e da anca foram medidos

com fita métrica não extensível, ao 0,1 cm mais próximo, seguindo as normas de Frisancho [88]. A relação perímetro da cintura/perímetro da anca foi calculada posteriormente através da fórmula PC (cm) /PA (cm). Consideramos o valor limite, a partir do qual existe risco metabólico, de 88 cm para o PC e de 0,8 para a relação PC/PA [89].

O IMC foi posteriormente calculado através da fórmula Peso (kg) /Estatura² (m) e a classificação feita segundo a OMS em magreza se IMC (kg/m²) inferior a 18,5, peso normal se igual ou superior a 18,5 e inferior a 25, excesso de peso se igual ou superior a 25 e inferior a 30, obesidade grau I se igual ou superior a 30 e inferior a 35, obesidade grau II se igual ou superior a 35 e inferior a 40, obesidade grau III se igual ou superior a 40 [90].

A composição corporal foi avaliada por um aparelho de Bioimpedância Eléctrica (modelo 101, Akern Systems® Detroit, MI). As avaliações foram efectuadas seguindo a metodologia preconizada [85, 86, 91]. Os valores de resistência e reactância obtidos foram inseridos no programa fornecido com o aparelho (Bodygram 1.2, Florence, Italy) assim como os dados relativos a idade, sexo, peso e altura. Desta forma foram obtidos os resultados da Massa Gorda (MG), Massa Não Gorda (MNG), Água Corporal Total (ACT), Água Extracelular (AExt), Água Intracelular (AInt) e Ângulo de Fase (AF).

Os doseamentos da glicemia e da insulinemia foram executados no Serviço de Bioquímica do Hospital de S. João. Para o doseamento da glicose foi utilizado o método de hexoquinase e o intervalo de referência definido pelo serviço é de 0,75 a 1,15 g/l. Para o doseamento da insulina foi utilizado o método de electroquimioluminescência e o intervalo de referência definido pelo serviço é de 2,6 a 24,9 µU/ml.

Posteriormente foi calculado o HOMA-R (homeostasis model assessment) através da fórmula (Insulina (µU/ml) x Glicose (mg/dl) x 0,05551) / 22,5. Consideramos estar na presença de Insulinorresistência quando o índice é superior a 3,9 [92].

A informação sobre a dieta foi recolhida usando um questionário de frequência alimentar (QFA) desenhado de acordo com Willet [93] e adaptado e

validado para a população portuguesa [94]. Este questionário compreende 86 itens, incluindo alimentos e bebidas, e oferece 9 possibilidades de resposta à frequência, desde nunca até 6 ou mais vezes por dia. As participantes também têm a possibilidade de acrescentar alimentos não incluídos na lista. No primeiro momento as participantes reportaram a quantidade de vezes que consumiram, em média, cada um dos itens durante os 12 meses anteriores. No terceiro momento foi preenchido pelas participantes um questionário exactamente igual ao primeiro, mas no qual se deveriam referir apenas ao período desde o início do tratamento, aproximadamente um mês.

A ingestão nutricional total foi calculada no Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto pela multiplicação da frequência de consumo de cada item pelo conteúdo nutricional de uma porção média. Foi usado o software Food Processor Plus® (ESHA Research, Salem, Oregon). Os dados deste software baseiam-se em valores publicados pelo US Department of Agriculture. Os valores de alimentos tipicamente nacionais foram alterados e usados os valores da Tabela da composição dos alimentos portugueses. O conteúdo nutricional foi estimado após processamento e confecção.

3.4. Análise dos dados

Todos os dados foram registados em protocolos e questionários padronizados. Foi criada uma base para introdução e tratamento estatístico dos dados no programa SPSS® (Statistical Package for Social Sciences) para Windows, versão 16, 2007.

Na análise dos dados foi usada a estatística descritiva. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão ($m \pm dp$) para as variáveis cardinais e como frequências para as variáveis ordinais e nominais.

Verificou-se que não era normal a distribuição da maioria das variáveis cardinais, com excepção das proteínas, fósforo, selénio, zinco, niacina e água no 1º momento e dos glícidos, fibra, fibra insolúvel, vitamina B6, ferro e ácidos gordos n6 no 3º momento. Por este motivo optou-se por aplicar testes não

paramétricos à totalidade das variáveis. Foi utilizado o teste de Wilcoxon para comparar as ordens médias de variáveis avaliadas em dois momentos e o teste de Friedman para comparar as ordens médias em três momentos. Aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparar as ordens médias entre grupos. Também se aplicou o teste de Mann-Whitney para comparar as ordens médias entre dois grupos independentes. O grau de associação entre pares de variáveis foi quantificado através do coeficiente de correlação de Spearman (ρ). Para quantificar a associação com uma variável binominal utilizamos o método Backward Stepwise da regressão logística.

A confiança foi estabelecida a 95% (ou seja, considerou-se um efeito significativo quando $p < 0,05$).

Para avaliarmos a evolução das variáveis ao longo do tratamento, foram analisadas apenas as participantes cujas avaliações foram efectuadas nos 3 momentos, o que reduziu o tamanho amostral na avaliação de algumas das variáveis. Da amostra inicial de 107 participantes, para avaliação da evolução dos parâmetros antropométricos utilizou-se uma sub-amostra de 63 participantes; para avaliação da evolução dos parâmetros da Bioimpedância a sub-amostra incluiu 59 participantes; para avaliação da evolução da ingestão nutricional a sub-amostra incluiu 77 participantes e para avaliação da evolução do HOMA-R a sub-amostra incluiu 50 participantes.

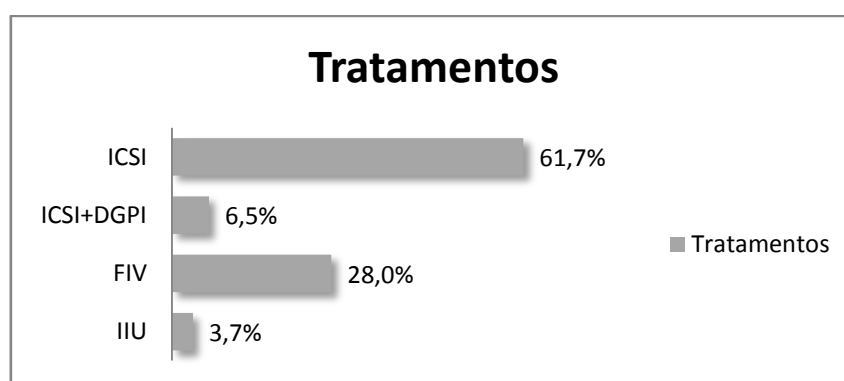
4. Resultados

Foram avaliadas 107 mulheres submetidas a tratamentos de procriação medicamente assistida (TPMA) na Unidade de Medicina da Reprodução do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de S. João, entre Janeiro e Junho de 2008.

Destas, 86,0% (n=92) reportaram infertilidade primária e apenas 14% infertilidade secundária. A **causa de infertilidade** foi, na maioria, 55,1% (n=59), masculina e as causas femininas afectaram 21,5% (n=23) destas mulheres. Encontramos 15,9% (n=17) cuja causa era masculina e feminina e de causa inexplicada 4,7% (n=5). Outro dos motivos para a realização do TPMA foi o rastreio de doença genética. Apenas encontramos 3 casos de despiste de Paramiloidose Familiar, que representam 2,8% do total.

O **tratamento** mais frequente foi a Microinjecção Intracitoplasmática (ICSI) em 66 destas mulheres, seguindo-se a Fertilização *in vitro* (FIV) em 30 casos, Diagnóstico Genético Pré-Implantação (DGPI) associado a ICSI em 7 casos e a Inseminação Intra-Uterina (IIU) em apenas 4 casos.

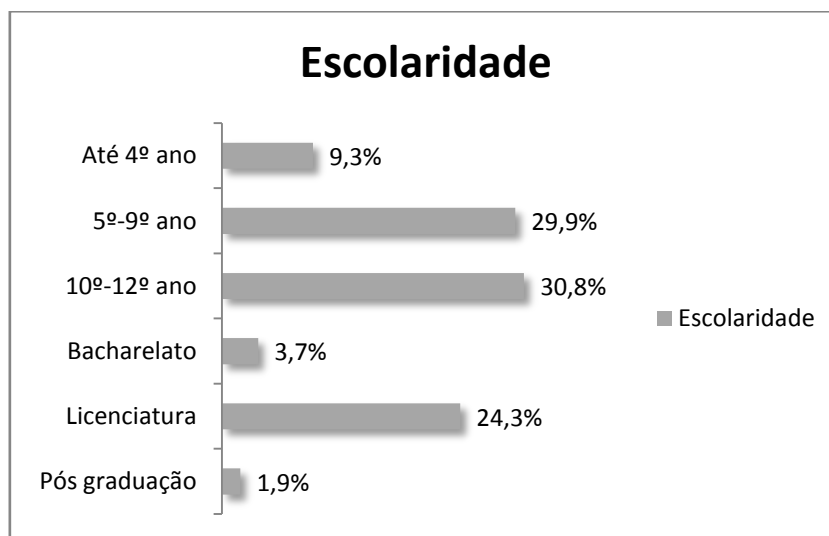
Gráfico 1: Distribuição (em %) dos tratamentos efectuados



A média de **idade** destas mulheres é de 33,2 anos com um desvio padrão de 4,3 anos e uma amplitude dos 23 aos 42 anos.

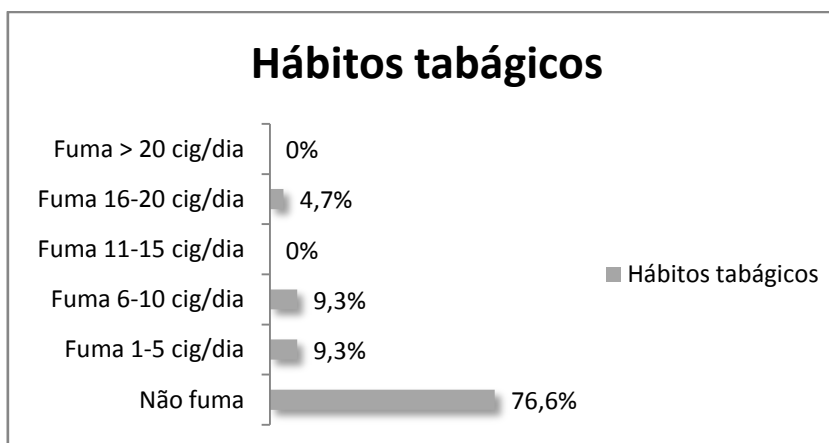
O **grau de escolaridade** foi dividido em 6 categorias, conforme o grau acadêmico completado pelas participantes: até ao 4º ano, do 5º ao 9º ano, do 10º ao 12º ano, bacharelato, licenciatura e pós-graduação. A distribuição por estas categorias pode ser observada no gráfico 2.

Gráfico 2: Distribuição (em %) do grau de escolaridade das participantes



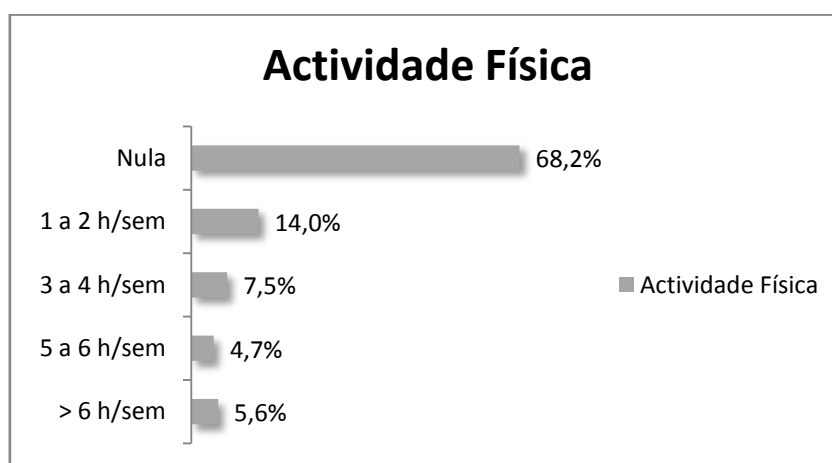
Também os hábitos tabágicos foram categorizados de acordo com o número de cigarros fumados por dia. A distribuição pode ser observada no gráfico 3. Na nossa amostra a maioria das participantes não fuma.

Gráfico 3: Hábitos tabágicos das participantes (em %)



No início do tratamento, a prática de **atividade física** destas mulheres é inexistente para 73 participante. Do total da amostra, 15 praticam actividade durante 1 a 2 horas por semana, 8 praticam actividade durante 3 a 4 horas por semana, 6 praticam actividade durante mais de 6 horas por semana e 5 praticam actividade durante 5 a 6 horas por semana. Com o início do tratamento todas diminuíram drasticamente a actividade física, na primeira metade do tratamento, e abandonaram por completo na segunda metade, por recomendação médica.

Gráfico 4: Distribuição da actividade física praticada pelas participantes segundo o número de horas por semana (em %)



A **estatura** média das participantes é de 160,5 cm com um desvio padrão de 6,1 cm. A estatura mínima encontrada foi de 145,5 cm e a máxima de 174,0 cm.

Os valores do **peso** e do **índice de massa corporal** de todas as participantes nos 3 momentos de avaliação encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio-padrão, mínimo e máximo das avaliações do peso e do IMC nos 3 momentos

	Mom 1 (n=107)	Mom 2 (n=84)	Mom 3 (n=78)
Peso (kg)	62,69±12,06 (45,0-117,0)	61,95±12,23 (43,4-119,1)	61,36±12,29 (44,0-117,1)
IMC (kg/m ²)	24,28±4,09 (17,0-43,0)	23,95±4,16 (16,9-43,7)	23,84±4,09 (16,7-43)

Na tabela 2 podemos observar a distribuição do IMC segundo a classificação da OMS, nos 3 momentos.

Tabela 2: Distribuição conforme a classificação da OMS

IMC	Mom 1 (n=107)	Mom 2 (n=84)	Mom 3 (n=78)
Magreza (%)	0,9 (n=1)	1,2 (n=1)	1,3 (n=1)
Peso Normal (%)	68,2 (n=73)	71,4 (n=60)	76,9 (n=60)
Excesso de peso (%)	24,3 (n=26)	22,6 (n=19)	15,4 (n=12)
Obesidade grau I (%)	2,8 (n=3)	1,2 (n=1)	2,6 (n=2)
Obesidade grau II (%)	2,8 (n=3)	2,4 (n=2)	2,6 (n=2)
Obesidade grau III (%)	0,9 (n=1)	1,2 (n=1)	1,3 (n=1)

Apenas uma participante tinha baixo peso em todas as avaliações e a maioria tinha um peso normal. Na primeira avaliação, cerca de 25% das participantes apresentava excesso de peso e no final do tratamento, apenas

15% o apresentavam. No início do estudo observamos 7 participantes obesas na amostra de 107, no final apenas observamos 5 obesas, em 78 participantes.

Os dados obtidos através da medição dos perímetros da cintura (PC) e da anca (PA) e a sua relação (PC/PA) podem ser observados na tabela 3:

Tabela 3: Média e desvio-padrão, mínimo e máximo das avaliações dos perímetros da cintura, da anca e da relação entre ambos, nos 3 momentos

	Mom 1 (n=107)	Mom 2 (n=84)	Mom 3 (n=78)
Perímetro Cintura (cm)	75,57±9,28 (63,2-124,9)	75,17±9,32 (60,9-124,9)	74,99±9,04 (61,0-124,9)
Perímetro Anca (cm)	100,54±8,07 (84,8-129,5)	100,12±7,58 (84,4-127,9)	99,57±8,14 (84,2-130,0)
PC/PA	0,75±0,055 (0,65-1,05)	0,75±0,061 (0,63-1,05)	0,75±0,059 (0,62-1,07)

Constatamos que no 1º momento 10 das participantes, representando 9,3% da amostra, apresentavam valores superiores a 88 cm de PC, limite inferior dos valores considerados de risco. No 2º momento 6 das 84 avaliadas (7,1%) e no final 5 das 78 observadas (6,4%) apresentavam valores superiores a 88 cm.

Relativamente aos valores da relação PC/PA, encontramos na nossa amostra valores iguais ou superiores a 0,8, valor a partir do qual se considera haver risco. No primeiro e terceiro momento em 13 participantes e no segundo momento em 14 das participantes.

Os dados obtidos pela avaliação da composição corporal através da Bioimpedância encontram-se descritos na tabela 4.

Tabela 4: Média e desvio-padrão, mínimo e máximo das avaliações da composição corporal obtidas por Bioimpedância, nos 3 momentos

	Mom 1 (n=107)	Mom 2 (n=84)	Mom 3 (n=78)
Massa Gorda (%)	28,29±6,77 (12,4-48,0)	28,17±6,99 (8,7-50,0)	29,03±6,60 (15,9-50,4)
Massa Não Gorda (%)	71,71±6,78 (52,0-87,6)	71,47±7,30 (50,0-91,3)	70,97±6,59 (49,6-84,1)
Água corporal total (%)	52,48±4,95 (38,1-64,1)	52,58±5,10 (36,6-66,9)	51,78±5,24 (33,2-61,6)
Água extracelular (%)	38,16±3,88 (22,8-44,1)	37,16±3,73 (29,1-46,5)	36,18±4,33 (19,8-46,4)
Água intracelular (%)	61,84±3,88 (55,9-77,2)	62,85±3,75 (53,5-70,9)	63,82±4,33 (53,6-80,2)
Ângulo de fase	8,09±1,49 (6,4-15,7)	8,39±1,27 (5,8-11,6)	8,73±1,74 (5,8-18,5)

Relativamente aos valores da glicemia, insulinemia e de HOMA-R encontrados nas 3 avaliações efectuadas, estão apresentados na tabela 5:

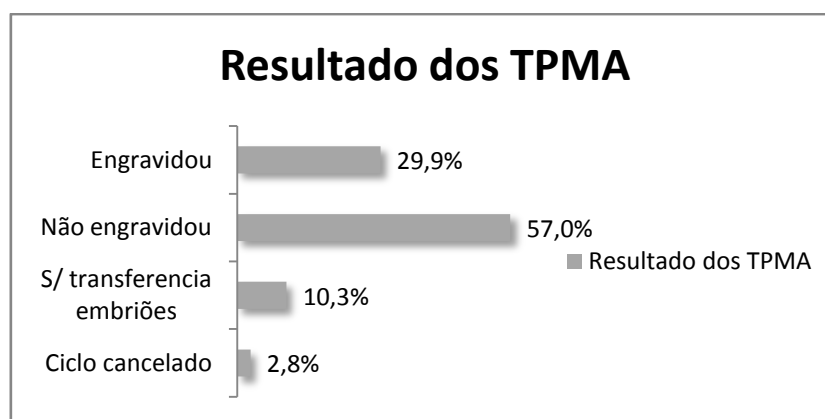
Tabela 5: Média e desvio-padrão, mínimo e máximo dos parâmetros de avaliação da IR, nos 3 momentos

	Mom 1 (n=99)	Mom 2 (n=97)	Mom 3 (n=55)
Glicose (mg/dl)	81,53±8,97 (62-107)	72,62±8,92 (52-99)	86,57±7,48 (72-111)
Insulina (µU/l)	7,71±3,29 (0,3-15,3)	8,19±4,18 (0,5-25,3)	11,39±6,09 (2,0-34,3)
HOMA-R	1,58±0,74 (0,17-3,77)	1,49±0,88 (0,08-5,49)	2,47±1,40 (0,38-7,45)

Apenas encontramos valores acima do intervalo de referência de insulina no 2º e 3º momento numa das participantes. Valores do índice HOMA-R acima do limite foram encontrados em duas participantes, no 2º momento, e em sete, no 3º momento.

Das mulheres participantes no estudo, 61 não engravidaram, 32 engravidaram, 11 não fizeram transferência de embriões e 3 tiveram o ciclo cancelado por não resposta à estimulação, como apresentado no gráfico 5.

Gráfico 5: Distribuição (em %) segundo o resultado dos tratamentos



No nosso estudo não encontramos qualquer relação significativa (correlação de Spearman) entre o IMC inicial e a dose de gonadotrofinas ou a duração da estimulação ovárica.

Encontramos diferenças entre as ordens médias (teste de Kruskal-Wallis) do resultado do tratamento para o IMC ($p=0,029$) e para os hábitos tabágicos ($p=0,011$). Verificamos que as mulheres que tiveram o ciclo cancelado tinham maior IMC e fumavam mais frequentemente. As mulheres que não tiveram transferência de embriões também tinham hábitos tabágicos mais frequentes.

Não encontramos diferenças entre as ordens médias do resultado para a dose e para a duração da utilização de gonadotrofinas, as restantes medidas antropométricas, as medidas obtidas pela Bioimpedância e os valores de glicemia e insulinemia iniciais.

Se dividirmos a amostra em dois grupos (excluindo a participante magra), um grupo com as normoponderais e outro com as que têm excesso de peso e obesidade, encontramos diferenças significativas entre as ordens médias (teste de Kruskal-Wallis) destes grupos para a dose ($p=0,032$), ou seja, em presença de excesso de peso ou obesidade é necessária uma maior dose de gonadotrofinas. Mas não se encontraram diferenças significativas para a duração do tratamento.

Encontramos associação (correlação de Spearman) entre a dose de gonadotrofinas e a relação PC/PA inicial ($p=0,029$, $\rho=0,212$) e a glicemia inicial ($p=0,047$, $\rho=0,239$), tal como pode observar-se nas figuras 1 A e B.

Figura 1: Associação entre a dose de gonadotrofinas e a relação PC/PA inicial (PC/PA1) – A – e a glicemia inicial (Glicem1) - B

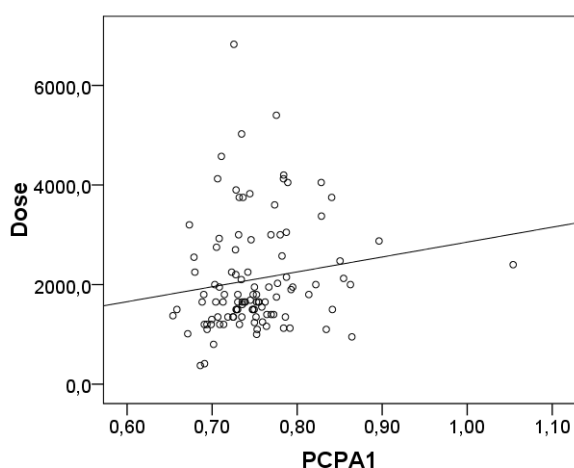


Fig. 1 – A

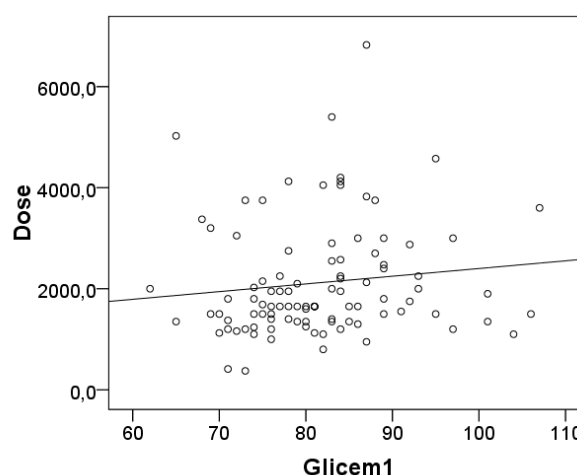


Fig. 1 - B

Também avaliamos a existência de uma possível relação entre o número de ciclos realizados pelas participantes e os parâmetros antropométricos, da Bioimpedância e os relacionados com a IR. Não encontramos correlação com significado estatístico.

Uma vez que o número de participantes foi diferente nos três momentos, comparamos dois grupos, o grupo que fez as três avaliações e o grupo que não fez as três avaliações, para avaliarmos se existiam diferenças entre as ordens médias (teste de Mann-Whitney) para as diferentes variáveis analisadas.

Encontramos diferenças na duração do tratamento com gonadotrofinas, no peso, no IMC, no perímetro da cintura (PC), no perímetro da anca (PA), na massa gorda (MG), na massa não gorda (MNG) e na água corporal total (ACT). Relativamente à ingestão nutricional encontramos diferenças na ingestão de fibra alimentar, de ácido fólico, de ferro e de magnésio, como podemos observar na tabela 6.

Tabela 6: Diferenças entre o grupo que fez 3 avaliações e o que não fez

	Fez 3 avaliações		p
	Sim	Não	
Duração (dias)	10,98±1,8	10,07±2,2	0,008
Peso (kg)	61,2±12,6	64,8±11,1	0,043
IMC (kg/m ²)	23,7±4,1	25,1±4,0	0,037
PC (cm)	74,2±9,3	77,5±9,0	0,019
PA (cm)	99,1±7,9	102,6±8,0	0,029
MG (%)	27,2±6,4	29,8±7,1	0,025
MNG (%)	72,8±6,4	70,2±7,1	0,025
ACT (%)	53,2±4,7	51,4±5,2	0,025
Fibra alim. (g)	27,2±8,5	24,0±9,7	0,045
Ác. Fólico (µg)	347,5±126,7	305,3±121,9	0,039
Ferro (mg)	16,0±4,9	14,3±4,4	0,047
Magnésio (mg)	354,0±98,7	326,7±113,3	0,049

Assim, as participantes que não completaram as três avaliações tinham peso, IMC, PC, PA e MG superiores às que completaram e menores valores de MNG, ACT, ácido fólico, ferro e magnésio.

Para analisarmos como evoluem os parâmetros antropométricos e os obtidos pela Bioimpedância ao longo dos tratamentos, nosso primeiro objectivo,

seleccionamos as sub-amostras constituída pelas participantes que foram avaliadas nos 3 momentos.

Encontramos variações significativas (teste de Friedman) na relação PC/PA (aumentou), na MG (aumentou), na água intracelular (Aint) (aumentou), no ângulo de fase (AF) (aumentou), na MNG (diminuiu), na ACT (diminuiu) e na água extracelular (AExt) (diminuiu), conforme exposto na tabela 7.

Tabela 7: Variação das médias dos parâmetros antropométricos e da Bioimpedância, nos 3 momentos.

	Mom 1	Mom 2	Mom 3		p
Peso (kg) (n=63)	61,2±12,6	61,1±12,7	60,9±12,4	↓	NS
IMC (kg/m ²) (n=63)	23,7±4,1	23,7±4,1	23,6±4,1	↓	NS
PA (cm) (n=63)	99,1±7,9	99,5±7,7	99,1±7,9	=	NS
PC (cm) (n=63)	74,2±9,3	74,4±9,1	74,7±9,2	↑	NS
PC/PA (n=63)	0,748±0,06	0,747±0,06	0,753±0,06	↑	<0,001
MG (%) (n=59)	27,4±6,4	27,5±7,0	28,6±6,7	↑	<0,001
MNG (%) (n=59)	72,6±6,4	72,0±7,5	71,4±6,7	↓	<0,001
ACT (%) (n=59)	53,1±4,7	53,1±5,1	52,1±5,5	↓	<0,001
AExt (%) (n=59)	38,4±3,6	36,9±3,8	36,1±4,4	↓	<0,001
Aint (%) (n=59)	61,5±3,6	63,1±3,8	63,9±4,4	↑	<0,001
AF (n=59)	8,0±1,3	8,5±1,3	8,8±1,8	↑	<0,001

O peso e o IMC sofrem pequenas diminuições durante o tratamento, mas as variações não são estatisticamente significativas.

O PC aumentou, entre o início e o final do tratamento, 0,5 cm mas também esta alteração não é significativa do ponto de vista estatístico.

A relação PC/PA aumenta ao longo do tratamento de forma significativa. No primeiro momento, esta relação está positivamente associada ao peso ($p=0,011$, $\rho=0,245$), ao IMC ($p<0,001$, $\rho=0,418$), à MG ($p=0,001$, $\rho=0,308$) e negativamente associada à ACT ($p<0,001$, $\rho=-0,309$).

Também avaliamos a relação entre a prática de actividade física e os dados antropométricos e da Bioimpedância no início do tratamento, mas não encontramos associação com significado estatístico entre estes parâmetros.

Averiguamos se ao longo do tratamento a diminuição da actividade física teve influência nestes parâmetros, mas também não encontramos associações com significado estatístico.

Para analisarmos se houve alterações na **ingestão nutricional** destas mulheres durante o tratamento, nosso segundo objectivo, seleccionamos a sub-amostra que foi avaliada no primeiro e terceiro momento, constituída por 77 participantes.

Verificamos que entre os dois momentos de avaliação, os valores da ingestão diminuíram de praticamente todos os nutrientes e encontramos diminuição com significado estatístico (teste de Wilcoxon) no valor energético total, nos glúcidos, nos lípidos e dentro destes nos ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados e, ainda, na fibra alimentar, solúvel e insolúvel, nos glúcidos complexos e nos simples, no etanol, na cafeína, nos ácidos gordos n3 e n6 e na água dos alimentos, como está demonstrado na tabela 8.

Tabela 8: Variação dos valores da ingestão nutricional nos 2 momentos.

	Mom1 (n=77)	Mom3 (n=77)	Variação	p
Energia (kcal)	2257±597	1978±673	-279	<0,001
Glicídios (g)	289,6±86,5	250,3±100,5	-39,3	<0,001
Complexos (g)	83,3±29,7	73,5±33,3	-9,8	0,001
Simples (g)	137,1±57,0	116,0±54,1	-21,1	<0,001
Lípidos (g)	82,0±27,7	70,5±25,0	-11,5	<0,001
A.G. Mono. (g)	36,5±13,4	30,4±11,2	-6,1	<0,001
A.G. Polins. (g)	13,6±5,5	11,5±4,3	-2,1	<0,001
A.G. Sat. (g)	25,1±9,2	22,5±9,2	-2,6	0,009
A.G. n-3 (g)	1,4±0,4	1,3±0,5	-0,1	0,012
A.G. n-6 (g)	10,3±4,7	8,4±3,5	-1,9	<0,001
A.G. <i>trans</i> (g)	1,1±0,5	1,0±0,5	-0,1	NS
Colesterol (mg)	309,4±131,7	307,6±151,5	-1,8	NS
Proteínas (g)	96,7±27,8	91,9±33,4	-4,8	N.S.
Água alim. (g)	1510±461	1294±500	-216	<0,001
Cafeína (mg)	73,5±49,3	50,3±41,2	-23,2	<0,001
Etanol (g)	2,9±5,7	1,5±4,5	-1,4	0,001
Fibra Alim. (g)	27,1±9,0	23,0±11,0	-4,1	<0,001
F. Insolúvel (g)	16,7±6,1	14,1±7,1	-2,6	<0,001
F. Solúvel (g)	7,2±2,8	6,1±3,2	-1,1	<0,001

Relativamente à ingestão de vitaminas e de minerais, observamos uma diminuição (teste de Wilcoxon), com significado estatístico, entre o primeiro e o terceiro momento, em grande parte das variáveis, como exposto na tabela 9.

Tabela 9: Variação dos valores da ingestão nutricional (vitaminas e minerais) nos 2 momentos

	Mom1 (n=77)	Mom3 (n=77)	Variação	p
Vit. A (µg)	2209,6±1346,6	2192,1±1681,7	-17,5	NS
Tiamina(B1) (mg)	1,78±0,48	1,57±0,62	-0,21	0,001
Riboflavina(B2) (mg)	2,23±0,76	2,14±0,98	-0,09	0,035
Niacina (B3) (mg)	22,6±6,6	21,0±8,4	-1,6	0,012
Vit. B6 (mg)	2,3±0,65	2,1±0,9	-0,2	0,007
Vit. B12 (µg)	9,6±7,1	10,5±9,2	+0,9	NS
Ác. Fólico (µg)	342,3±129,3	314,5±176,0	-27,8	0,002
Ac. Pantot. (mg)	4,76±1,47	4,59±1,88	-0,17	0,021
Vit. C (mg)	172,2±75,2	163,9±91,8	-8,3	0,026
Vit. D (µg)	3,73±1,74	3,58±1,89	-0,15	NS
Vit. E (mg)	10,6±4,1	8,76±3,5	-1,8	<0,001
Vit. K (mg)	16,1±10,6	15,8±11,1	-0,3	NS
Cálcio (mg)	1061,9±450,6	1001,3±448,9	-60,6	NS
Ferro (mg)	15,8±4,7	14,1±6,0	-1,7	0,001
Magnésio (mg)	350,4±99,9	313,2±119,1	-37,2	<0,001
Fósforo (mg)	1482,8±455,2	1375,8±503,6	-107,0	0,018
Potássio (mg)	3806,3±1035,9	3456,1±1332,7	-350,2	<0,001
Selénio (µg)	102,6±37,3	91,9±37,7	-10,7	0,040
Sódio (mg)	3586,1±995,6	3262,5±1137,9	-323,6	0,004
Zinco (mg)	12,6±3,7	11,6±4,5	-1,0	0,020

Também avaliamos a relação entre o resultado dos TPMA e a ingestão de nutrientes (teste de Kruskal-Wallis). Apenas encontramos diferenças entre

as ordens médias para as gorduras saturadas ($p=0,043$) e gorduras monoinsaturadas ($p=0,045$). Ou seja, o consumo destes nutrientes era superior nas mulheres em que o ciclo foi cancelado.

Averiguamos a existência de correlação (de Spearman) entre os valores do índice HOMA-R e de ingestão nutricional no 1º e 3º momento e não encontramos relações estatisticamente significativas.

Dentro do grupo de mulheres com infertilidade de causa feminina ou mista, tentamos encontrar relação entre a infertilidade de causa ovulatória e a ingestão de determinados nutrientes. Para tal, calculou-se uma regressão logística, tendo como variáveis independentes o cálcio, o ferro, as proteínas, o ácido fólico e os ácidos gordos polinsaturados. Nenhum deles teve um efeito significativo na infertilidade ovulatória, pelo que estas variáveis não foram consideradas nos modelos seguintes.

Calculou-se uma outra regressão logística para prever a causa de infertilidade ovulatória, tendo como variáveis independentes a idade, o IMC, os hábitos tabágicos, a actividade física, as proteínas, os glícidos, as gorduras totais e as saturadas. No modelo final permaneceram o IMC, a actividade física, os glícidos, as gorduras totais e as saturadas. Por cada ponto de IMC acima da média ($24,3 \text{ kg/m}^2$), o risco de infertilidade ovulatória aumenta 19% ($p=0,108$). A actividade física prévia diminui em 6 vezes o risco deste tipo de infertilidade por cada 2 horas praticadas por semana ($p=0,038$). Também os glícidos diminuem o risco ($p=0,081$) em 1,7% por cada grama acima da média (279,6 g). As gorduras totais aumentam o risco ($p=0,029$) em 12,2% por cada grama acima da média (81,7 g) e as gorduras saturadas diminuem o risco ($p=0,087$) em 16,4% por cada grama acima da média (24,9 g). São significativos os efeitos da actividade física e da gordura total.

Para respondermos ao nosso terceiro objectivo, averiguamos a existência de associação entre a variação da composição corporal e da ingestão energética.

Como vimos atrás a composição corporal altera-se ao longo do tratamento. O peso e o IMC, embora diminuam, não sofrem alteração significativa. Mas a relação PC/PA, a MG e a AInt sofrem aumentos estatisticamente significativos. A ACT e a AExt diminuem, com significado estatístico.

Mas não encontramos qualquer relação, com significado estatístico, entre a variação da composição corporal (peso, IMC, PC, PA, PC/PA, MG, MNG, ACT) e a variação da ingestão energética, de glícidos, de lípidos, de proteínas, de fibra e de água dos alimentos.

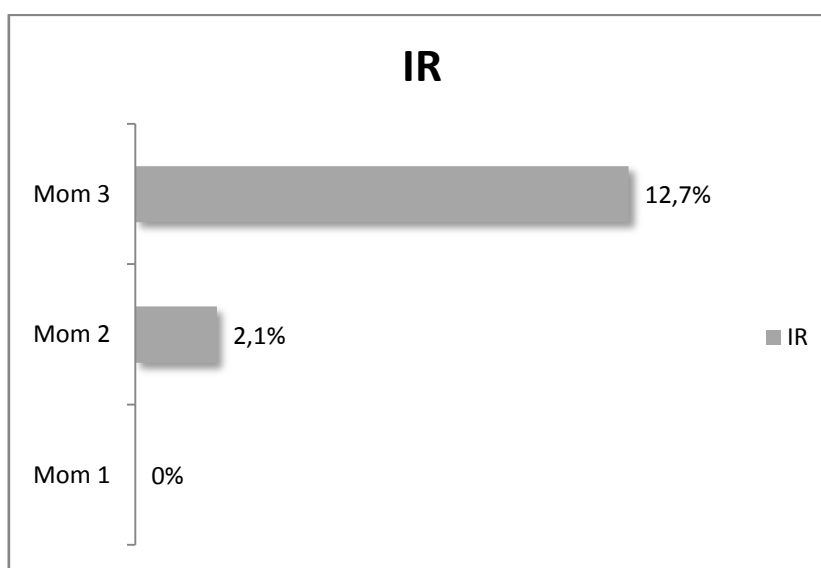
Verificamos um aumento, estatisticamente significativo, dos valores da glicemia, da insulinemia e do HOMA-R ao longo do tratamento. A glicemia sofreu um aumento de 4,7 mg/dl, a insulinemia de 3,6 μ U/l e o HOMA-R de 0,85, entre o 1º e o 3º momento, como explanado na tabela 10.

Tabela 10: Variação dos valores dos parâmetros de determinação da IR nos 3 momentos.

	Mom 1	Mom 2	Mom 3	Variação	p
Glic (mg/dl) (n=52)	82,0 \pm 9,2	73,8 \pm 8,0	86,7 \pm 7,6	+4,7	<0,001
Insulina (μ U/l) (n=51)	7,8 \pm 3,4	8,7 \pm 5,0	11,4 \pm 6,2	+3,6	<0,001
HOMA-R (n=50)	1,62 \pm 0,74	1,64 \pm 1,05	2,47 \pm 1,40	+0,85	<0,001

Quanto à presença de IR, avaliada por um valor de HOMA-R superior a 3,9, no primeiro momento nenhuma das participantes apresentou estes valores. No segundo momento, em 97 avaliações, 2 (2,1%) apresentaram valores acima de 3,9. No 3º momento, 7 em 55 participantes (12,7%) apresentaram valores indicativos de IR, como observável no gráfico 6.

Gráfico 6: Prevalência de insulinoresistência (IR) nos 3 momentos da avaliação



O nosso último objectivo era determinar se existiria alguma associação entre a IR e a composição corporal e entre a IR e a ingestão nutricional.

No que diz respeito à IR e composição corporal, no **primeiro momento** encontramos associação positiva (correlação de Spearman), estatisticamente significativa, entre a **glicemia** e o IMC, o PC, a relação PC/PA e a MG e associação negativa com a MNG e a ACT (tabela 11).

Tabela 11: Associação entre os valores de glicemia e os valores dos parâmetros da composição corporal, no 1º e 3º momento.

	IMC	PC	PC/PA	MG	MNG	ACT	AExt	Alnt
1º mom	$\rho=0,009$	$\rho=0,02$	$\rho=0,013$	$\rho=0,043$	$\rho=0,043$	$\rho=0,041$		
	$\rho=0,263$	$\rho=0,232$	$\rho=0,239$	$\rho=0,207$	$\rho=-0,207$	$\rho=-0,209$		
3º mom						$\rho=0,007,$ $\rho=-0,365$	$\rho=0,007,$ $\rho=0,365$	

A **insulinemia** relacionou-se positivamente, com significado estatístico, com o peso, o IMC, o PC, o PA, a MG e a Alnt e negativamente com a MNG, a ACT e a AExt (tabela 12).

Tabela 12: Associação entre os valores de insulinemia e os valores dos parâmetros da composição corporal no 1º e 3º momento.

	Peso	IMC	PC	PA	PC/PA	MG	MNG	ACT	AExt	AInt
1º	p=0,003 $\rho=0,295$	p<0,001 $\rho=0,342$	p=0,003 $\rho=0,293$	p=0,001 $\rho=0,330$		p<0,001 $\rho=0,355$	p<0,001 $\rho=-0,355$	p<0,001 $\rho=-0,354$	p=0,043 $\rho=-0,206$	p=0,047 $\rho=0,202$
3º	p=0,007 $\rho=0,368$	p<0,001 $\rho=0,470$	p=0,001 $\rho=0,426$	p=0,021 $\rho=0,316$	p=0,048 $\rho=0,273$	p<0,001 $\rho=0,548$	p<0,001 $\rho=-0,548$	p<0,001 $\rho=-0,545$		

Para o **HOMA-R** encontramos, com significado estatístico, relação positiva com o peso, o IMC, o PC, o PA, a MG e a AInt e relação negativa com a MNG, a ACT e a AExt (tabela 13).

Tabela 13: Associação entre os valores de HOMA-R e os valores dos parâmetros da composição corporal no 1º e 3º momento.

	Peso	IMC	PC	PA	PC/PA	MG	MNG	ACT	AExt	AInt
1º	p=0,001 $\rho=0,319$	p<0,001 $\rho=0,389$	p=0,001 $\rho=0,333$	p=0,001 $\rho=0,338$		p<0,001 $\rho=0,379$	p<0,001 $\rho=-0,379$	p<0,001 $\rho=-0,378$	p=0,029 $\rho=-0,223$	p=0,031 $\rho=0,221$
3º	p=0,009 $\rho=0,355$	p=0,001 $\rho=0,455$	p=0,002 $\rho=0,419$	p=0,030 $\rho=0,298$	p=0,042 $\rho=0,280$	p<0,001 $\rho=0,529$	p<0,001 $\rho=-0,524$	p<0,001 $\rho=-0,528$		

No **terceiro momento** encontramos relação positiva, estatisticamente significativa, entre a **glicemia** e a água intracelular e negativa com a água extracelular (tabela 11).

Para a **insulinemia** encontramos, com significado estatístico, relação positiva com o peso, o IMC, o PC, o PA, a relação PC/PA e a MG e relação negativa com a MNG e a ACT (tabela 12).

O **HOMA-R** relacionou-se, com significado estatístico, de forma positiva com o peso, o IMC, o PC, o PA, a relação PC/PA e a MG e de forma negativa com a MNG e a ACT (tabela 13).

De facto, as 7 participantes com IR no final do tratamento apresentavam, no início, parâmetros antropométricos e de Bioimpedância superiores às

médias da amostra total. O peso médio era de 76,7 kg, o IMC 30,9 kg/m², o PC 90,3 cm, o PA 107,3 cm, a relação PC/PA era de 0,84 e a MG era de 37,8%.

Analizamos a relação entre as diferenças dos valores de glicemia, insulinemia e HOMA-R e as diferenças das medidas antropométricas e da Bioimpedância, entre o final e o início do tratamento (correlação de Spearman). Apenas encontramos associações para as diferenças da glicemia. As diferenças da insulinemia e do HOMA-R não se relacionaram com as diferenças de nenhuma destas medidas. A evolução da glicemia, que sofre aumento, relacionou-se negativamente com a evolução do peso ($p=0,029$, $\rho=-0,305$), do IMC ($p=0,038$, $\rho=-0,292$) (fig. 2-A), da relação PC/PA ($p=0,036$, $\rho=-0,294$) (fig. 2-B). Ou seja, quanto maior o aumento da glicemia, maior a diminuição do peso e do IMC e menor o aumento da relação PC/PA.

Figura 2: Associação entre a diferença de glicemia (difGlic) e a diferença do IMC (difIMC) – A – e a diferença da relação PC/PA (difPCPA) - B.

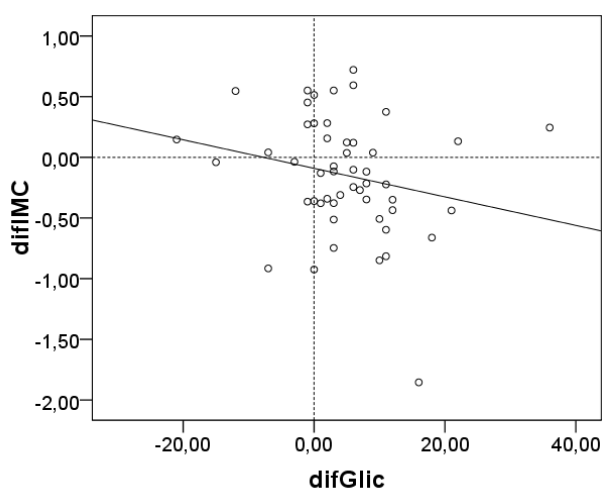


Fig. 2 A

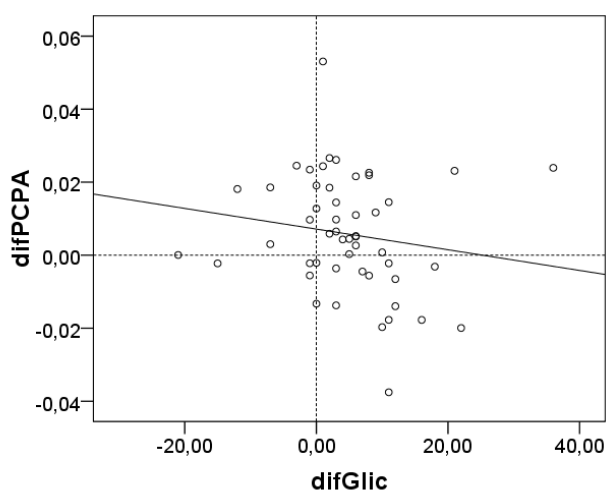


Fig. 2 B

No que diz respeito à IR e à ingestão nutricional, analisamos a relação (correlação de Spearman) entre as diferenças dos valores de glicemia, insulinemia e HOMA-R e as diferenças da ingestão energética, de glícidos, de lípidos, de fibra e de proteínas. Encontramos, com significado estatístico, relação negativa entre as diferenças de insulinemia e de ingestão de gorduras

totais ($p=0,016$, $\rho=-0,337$) (Fig. 3-A), de gorduras saturadas ($p=0,041$, $\rho=-0,287$), de gorduras monoinsaturadas ($p=0,007$, $\rho=-0,374$) e de hidratos de carbono complexos ($p=0,026$, $\rho=-0,311$).

Figura 3: Associação entre a diferença de insulinemia (difInsul) e a diferença da ingestão de gorduras totais (difGTot) – A - e entre a diferença do HOMA-R (difHOMA) e a diferença da ingestão de gorduras monoinsaturadas (difGMono) - B.

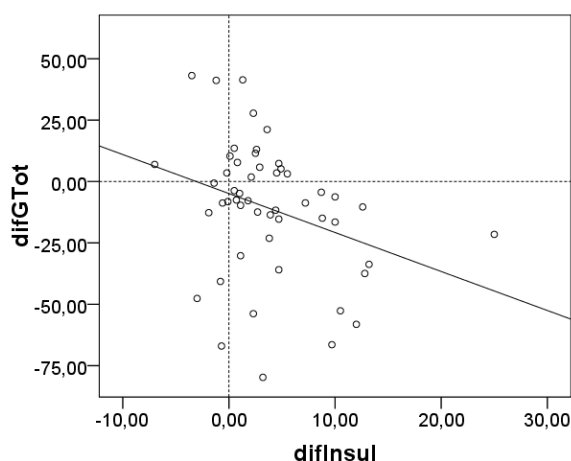


Fig. 3 A

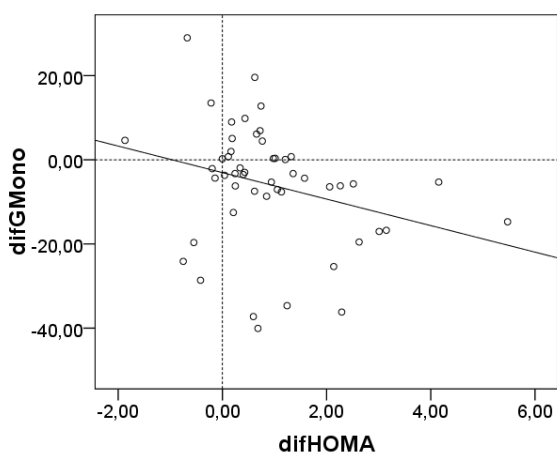


Fig. 3 B

As diferenças de glicemia não se relacionaram, com significado estatístico, com nenhuma das variáveis analisadas.

A diferença do índice HOMA-R relacionou-se negativamente com a diferença da ingestão de gorduras totais ($p=0,027$, $\rho=-0,312$) e de gorduras monoinsaturadas ($p=0,015$, $\rho=-0,342$) (Fig. 3-B).

Ou seja, sabendo que a insulinemia aumentou ao longo do tratamento e que a ingestão de gorduras totais, saturadas e monoinsaturadas e de glícidos complexos diminuiu, a relação inversa observada significa que quanto maior a subida da insulina, maior a descida na ingestão relatada destes nutrientes.

O mesmo se observou relativamente ao HOMA-R: quanto maior a subida do índice, maior a descida na ingestão de gorduras totais e gorduras monoinsaturadas.

5. Discussão

Os dois extremos do peso corporal parecem prejudicar seriamente a função reprodutora e o sucesso dos TPMA [10, 15]. Na nossa amostra apenas uma participante apresentava baixo peso, pelo que não nos foi possível investigar esta situação. Participantes com excesso de peso e com obesidade constituíram 30,8% da nossa amostra inicial, pelo que pudemos averiguar algumas interações com os tratamentos.

Segundo alguns autores, as mulheres obesas têm menor probabilidade de engravidar e maior probabilidade de insucesso com os TPMA [49, 59, 60]. Na nossa amostra, encontramos associação entre um IMC mais elevado e o cancelamento do ciclo, o que está de acordo com trabalhos anteriores [61], mas não entre o IMC e a duração da estimulação ovárica, como descrito em alguns trabalhos [10, 28, 58, 67]. Não encontramos associação entre o resultado do tratamento (engravidar ou não) e outras medidas antropométricas e as medidas obtidas pela Bioimpedância, contrariamente ao descrito [10, 26, 28, 58, 60]. Em discordância com o relatado, que aponta para uma menor taxa de sucesso nos casos de presença de resistência à insulina, também não encontramos relação entre o resultado e os parâmetros relacionados com a IR [28].

Encontramos, sim, associação entre a dose de gonadotrofinas e a presença de excesso de peso e obesidade, ou seja, as situações de sobrecarga ponderal obrigam à utilização de doses superiores de gonadotrofinas, como descrito [59, 61]. Encontramos, também, associação entre a dose de gonadotrofinas e a relação PC/PA e a glicemia iniciais, ou seja, quanto maior a relação PC/PA e quanto maior o valor da glicemia, maior a dose necessária para a estimulação ovárica. Talvez a gordura abdominal tenha efectivamente mais influência no decurso do tratamento do que a gordura corporal total [27].

Embora a nossa investigação não visasse avaliar estas relações com o decurso e o sucesso dos tratamentos, não poderíamos deixar de o fazer, tendo disponível a informação referente a esta população. Apesar de os nossos

resultados serem, em parte, coincidentes com os de outros trabalhos, não podemos deixar de apontar algumas características que o nosso trabalho apresenta. Primeiro porque inclui diferentes tipos de TPMA e de causas de infertilidade. Segundo, o tamanho amostral é reduzido, o que não permitiu a constituição de subgrupos. Terceiro, alguns trabalhos utilizam grupos de estudo com características diferentes do nosso. Todos estes factos condicionaram, certamente, a comparação entre os resultados obtidos.

É frequentemente referido por mulheres submetidas a estes tratamentos que com o aumento do número de ciclos realizados aumenta o seu peso. No nosso estudo, com o aumento do número de ciclos não aumentaram os parâmetros antropométricos e de Bioimpedância como o peso, o IMC, os perímetros ou a massa gorda e a água corporal, nem os valores da glicose, insulina e HOMA-R. Portanto, em oposição ao referido, o aumento do número de ciclos realizados não leva necessariamente ao aumento do peso, do IMC ou mesmo da massa gorda ou da água corporal.

A nossa amostra inicial era constituída maioritariamente por normoponderais (68,2%), seguiam-se as que tinham excesso de peso (24,3%) e as obesas representaram apenas 6,5% da amostra. Apenas uma participante apresentava baixo peso. No final do tratamento mantinha-se uma percentagem superior de participantes com peso normal, seguindo-se as que tinham excesso de peso. Manteve-se idêntica a percentagem de obesas e de magras.

Da amostra inicial de 107 participantes, apenas 63 completaram as avaliações nos três momentos do estudo. De referir que as participantes que não completaram as 3 avaliações eram as que apresentavam peso, IMC, PC, PA e MG superior. Para avaliarmos a evolução de todos os parâmetros utilizamos sub-amostras com as participantes que concluíram as três avaliações.

Durante o tempo do tratamento, e contrariamente ao esperado, observamos uma diminuição do peso e do IMC, embora esta diminuição não tivesse significado estatístico.

Na amostra inicial, 9,3% das participantes apresentava valores de PC superiores 88 cm, o que as coloca em zona de risco metabólico [89] e de sofrer alterações da fertilidade [14]. Mas o valor inicial médio é de 74,2 cm e durante o tempo de duração do tratamento aumentou 0,5 cm, o que nos parece um valor importante, embora não seja significativo estatisticamente.

Em todos os momentos de avaliação, encontramos uma relação PC/PA média de 0,75. No entanto, 10 e 13% no início e final do estudo respectivamente, destas mulheres têm uma relação PC/PA superior a 0,8, que também as coloca em risco de sofrer de irregularidades menstruais [14] e outros distúrbios metabólicos, como a insulinoresistência ou a diabetes [89]. Durante o período do tratamento, esta relação também sofre um aumento de 0,005, valor estatisticamente significativo.

Portanto, durante os tratamentos de procriação medicamente assistida, não se verificam aumentos de peso ou de IMC, contrariamente ao que esperávamos em consequência do reportado por mulheres anteriormente submetidas a estes tratamentos. Observamos, sim, um aumento do perímetro da cintura e da relação PC/PA, o que poderá ser a explicação para a percepção que estas mulheres têm do aumento de peso durante os ciclos de tratamento.

Relativamente aos parâmetros obtidos pela Bioimpedância que avaliamos no nosso trabalho, podemos concluir que a nossa amostra se encontra dentro dos intervalos de referência de massa gorda para esta população, 20 a 30% [95], em todos os momentos de avaliação.

Já o teor de água corporal total destas mulheres está reduzido, ronda os 53%, sendo que o valor de referência para esta população é de 55% [96]. A distribuição da água no interior das células deve ser aproximadamente 55 a 65% da água total e no exterior 35 a 45% da água total, sendo o intervalo de referência para a água extracelular de 38 a 45% [95-98]. No início dos tratamentos, os valores de água extracelular estavam dentro do intervalo, embora muito próximos do limite inferior, 38,4%, ou seja, embora no total a

água corporal estivesse inferior ao recomendado, a sua distribuição no organismo estava ainda em equilíbrio.

Os valores do ângulo de fase encontrados em mulheres da mesma faixa etária no NHANES III foram de 7,7 a 7,8 e o intervalo de referência situa-se entre 6 e 8. Nestas mulheres o ângulo de fase médio está exactamente no limite máximo, no 1º momento. O ângulo de fase aumenta na medida em que diminui a água extracelular.

Portanto, todos estes dados sugerem-nos que estas mulheres se encontram, no início do tratamento, com uma composição em massa gorda normal mas em estado de desidratação.

Avaliando como evoluem estes parâmetros ao longo do tratamento, detectamos um aumento significativo da massa gorda, que se mantém ainda dentro do intervalo de referência, da água intracelular e do ângulo de fase, que ultrapassam os limites superiores, e uma diminuição significativa da massa não gorda, da água corporal total e da água extracelular que fica abaixo do limite inferior recomendado.

Como anteriormente referimos, não observamos uma alteração significativa do peso e do IMC, embora tenham diminuído, pelo que este aumento de massa gorda e diminuição de água corporal poderia ser apenas reflexo de alterações na composição em água destas mulheres. No entanto, verificamos um aumento do PC e da relação PC/PA. Assim, este aumento da massa gorda parece dever-se efectivamente a acumulação de tecido adiposo na zona abdominal.

Este aumento de massa gorda também se poderia dever à diminuição da actividade física, que é recomendada na segunda fase do tratamento (entre o 2º e o 3º momento). No entanto, a percentagem de mulheres que praticavam actividade física no início do tratamento já era muito reduzida e por isso não houve associação com os parâmetros antropométricos e de Bioimpedância iniciais. Também não encontramos associação entre a diminuição da actividade física e as alterações verificadas nestes parâmetros durante o estudo.

As alterações que verificamos na composição em água destas mulheres, ou seja, a diminuição da água corporal total e da extracelular e o aumento da água intracelular e do ângulo de fase, reflectem naturalmente o aumento da massa gorda, mas também um agravamento do estado de hidratação, no sentido da desidratação.

Nos ciclos menstruais naturais não se verificam estas alterações, quer na massa gorda e não gorda, quer na água corporal total [99]. Assim, parece que estas modificações da composição corporal estão relacionadas com os tratamentos a que estas mulheres são submetidas.

Sabendo-se que a acumulação de gordura abdominal reflecte a predominância da acção de androgénios sobre a dos estrogénios, ainda que os níveis destes esteróides circulantes não reflectam a sua acção nos tecidos [100], e sabendo que os receptores dos androgénios estão localizados preferencialmente nos pré-adipócitos da zona abdominal [32], podemos concluir que o aumento observado do tecido adiposo abdominal se deve ao aumento dos androgénios. Mais, durante estes tratamentos, a estimulação ovárica é conseguida com a utilização da hormona FSH e o aumento desta hormona leva ao aumento de produção de esteróides sexuais, estrogénios, androgénios e progesterona. Simultaneamente, na nossa amostra, ao longo do tratamento aumentaram os valores de insulina, que também conduzem ao aumento dos androgénios circulantes [33]. Portanto, em face do exposto, pensamos ser este aumento de androgénios livres o factor que leva a acumulação de tecido adiposo na zona abdominal nas mulheres que se submetem a estes tratamentos de infertilidade.

Os nossos resultados são coincidentes com os de um estudo efectuado com o objectivo de avaliar a evolução destes parâmetros da Bioimpedância numa população de mulheres durante TPMA [101]. Neste, também não se observaram alterações de peso e observou-se aumento da massa gorda e diminuição da água corporal total. Concluiu-se que durante os tratamentos o estado de hidratação se alterava no sentido da desidratação, podendo estar na origem do Síndrome de Hiperestimulação [101]. Não observamos nenhum caso na nossa amostra, até pela apertada vigilância ecográfica e laboratorial que

hoje em dia é utilizada, pelo que não foi possível avaliar esta associação, mas é uma hipótese que se coloca.

Sabe-se que o aumento dos estrogénios, em particular do estradiol, pode levar ao aumento da angiotensina II, resultando em retenção de sódio e de líquidos [7]. No entanto, durante os tratamentos o valor sérico de estradiol é controlado e alterações do seu valor condicionam uma diminuição da dose de gonadotrofinas ou mesmo o cancelamento do ciclo. Por outro lado, o aumento da progesterona inibe a aldosterona e desta forma leva a maior excreção de sódio e líquidos [102]. Poderá ser este aumento da progesterona o responsável pela diminuição verificada no teor em água corporal na nossa amostra.

No entanto, estas mulheres iniciam os tratamentos já desidratadas, e esta desidratação tem necessariamente relação com a insuficiente ingestão de fluidos, que não pudemos comprovar pois o nosso estudo não previa a avaliação da ingestão hídrica.

Parece-nos importante que se dê continuidade ao estudo das alterações da composição corporal, uma vez que, em face dos resultados que encontramos, estas mulheres sofrem aumento da massa gorda e desidratam. Talvez seja importante que durante estes tratamentos sejam fornecidas informações nutricionais no sentido de tentar evitar estas situações que poderão prejudicar a saúde das mulheres e o saudável desenvolvimento do embrião.

Da avaliação da **ingestão nutricional** da amostra, concluímos que houve uma diminuição da ingestão relatada entre os dois momentos de avaliação, no início e final do tratamento.

No primeiro momento, estas mulheres ingeriam em média 2257 kcal, o que representa um valor energético total diário de 35,9 kcal/kg/dia. Deste valor energético, 51,3% era fornecido sob a forma de glícidos, 32,6% sob a forma de lípidos, 17,1% sob a forma de proteínas e 0,8% como etanol.

No 3º momento, decorrido o tempo de duração do tratamento, encontramos uma ingestão energética média de 1978 kcal, ou seja, 32,2

kcal/kg/dia. Deste valor, 50,5% era fornecido por glícidos, 32,0% por lípidos, 18,5% por proteínas e 0,5% por etanol.

Nos dois momentos os valores enquadram-se nos valores recomendados pela Organização Mundial de Saúde de 15 a 20% de proteínas e 50 a 60% de glícidos. No entanto a ingestão energética total e a de lípidos média ultrapassa o recomendado, 30 kcal/kg/dia e 30% do valor energético total em lípidos.

Quanto ao tipo de gordura, encontramos um consumo de gordura saturada que ultrapassa ligeiramente os 10% do valor energético total (VET) recomendados, nos dois momentos. O consumo de MUFA está dentro do aconselhado (de 10 a 15% do VET). Já os PUFA foram ingeridos em quantidades (cerca de 5%) bastante mais baixas que o limite recomendado de 10% do VET. A ingestão de colesterol ultrapassou um pouco os 300 mg/dia recomendados mas o total de fibra alimentar ingerido está dentro do intervalo de referência, de 20 a 30 g por dia.

O teor em vitaminas e minerais ingerido pela nossa amostra está acima das recomendações de ingestão e não ultrapassa os limites superiores de ingestão da OMS [103].

Se compararmos a ingestão relatada pela nossa amostra com a ingestão de mulheres na mesma faixa etária do estudo do Consumo Alimentar do Porto, inserido no projecto EPIPorto – Inquérito de Saúde e Nutrição do Porto [104], encontramos no 1º momento, uma ingestão ligeiramente superior ao intervalo de confiança a 95% de energia, glícidos (simples e complexos), lípidos (mono, e polinsaturados, n3 e n6), de fibra, de vitaminas A, B2, B6, B12, C, E, cálcio, magnésio e potássio. A ingestão da nossa amostra era ligeiramente inferior em proteínas e vitamina K e bastante inferior em colesterol. Não encontramos diferenças relativamente aos outros nutrientes.

Na nossa amostra a ingestão de etanol e de cafeína é consideravelmente inferior à da população, o que seria de esperar.

Assim, de uma forma geral parece não haver diferenças significativas entre o padrão nutricional das mulheres da nossa amostra e o da população de

mulheres da mesma faixa etária que integrou o estudo do Consumo Alimentar do Porto.

Segundo Lim e colaboradores, determinados nutrientes poderiam ter influência no resultado dos TPMA [57], pelo que tentamos encontrar uma possível associação entre o padrão nutricional destas mulheres e o resultado do tratamento. Na nossa amostra o resultado dos tratamentos não foi influenciado pela ingestão, nos 12 meses anteriores ao início do tratamento, de nenhum dos nutrientes que avaliamos.

Relativamente à influência de alguns nutrientes no aparecimento da infertilidade de causa ovulatória, averiguamos, através de regressão logística, na nossa amostra esta relação. Talvez pelo reduzido número de participantes com este tipo de infertilidade, apenas 16, não conseguimos encontrar associações significativas com as proteínas, o ferro ou o ácido fólico, como apresentado por Chavarro e colaboradores [69-73].

No entanto, encontramos associação com a ingestão de glícidos, de gorduras totais e de saturadas. Quanto às gorduras totais, a ingestão de cada grama acima da média aumenta o risco deste tipo de infertilidade em 12,2%, o que está de acordo com o descrito [69]. Curiosamente, reduzem o risco deste tipo de infertilidade, o aumento da ingestão de glícidos, 1,7% por cada grama adicional, bem como o aumento da ingestão de gorduras saturadas, 16,4% por cada grama adicional, em oposição ao descrito por Chavarro [69]. Estas gorduras poderão ter origem nos lacticínios gordos, que este autor também associou a menor risco deste tipo de infertilidade [71].

Na nossa amostra também encontramos associação entre o risco de infertilidade ovulatória e o IMC e a actividade física. Um IMC elevado aumenta o risco enquanto a prática de actividade física diminui. Por cada ponto acima da média de IMC o risco aumenta 19% e por cada duas horas semanais de actividade reduz-se 6 vezes o risco. Também estes achados vão de encontro ao descrito [73].

Sabendo que a IR é um dos factores que prejudicam a fertilidade e o sucesso dos TPMA e que a dieta pode ser determinante para a instalação e manutenção deste estado [75-84], avaliamos a existência de associação entre o valor do índice HOMA-R inicial e final e a ingestão nutricional nos respectivos momentos de avaliação. Não encontramos qualquer associação, contrariamente ao descrito. Este resultado pode ter ficado a dever-se ao reduzido número de mulheres com valores elevados de HOMA-R, correspondentes a estados de IR, que encontramos na nossa amostra.

Da análise das alterações que se verificaram entre o primeiro e o terceiro momento de avaliação da ingestão nutricional, pudemos concluir que se verificou uma diminuição significativa da ingestão energética, de lípidos e de glícidos, assim como dos tipos de gordura excepto a *trans*, dos tipos de fibra alimentar, do etanol, da cafeína e da água dos alimentos. Relativamente às vitaminas e minerais observamos, com significado estatístico, diminuição da ingestão de vitaminas B1, B2, B3, B6, C e E, de ácido fólico, de ácido pantoténico, de ferro, magnésio, fósforo, potássio, selénio, sódio e zinco.

Todos os valores da segunda avaliação nutricional também se encontravam acima dos valores recomendados.

Relativamente ao etanol e à cafeína seria de esperar esta diminuição, uma vez que a sua redução é uma das recomendações nutricionais para o período de gravidez que se espera que resulte dos tratamentos.

Relativamente à diminuição da ingestão nutricional relatada por estas mulheres, não estávamos à espera de encontrar estes resultados, até pelas frequentes referências ao aumento de peso que dizem sofrer. Uma vez que a ingestão durante o período de tratamento nunca havia sido avaliada, não podemos avaliar se se trata de uma situação efectiva e realmente diminui a ingestão ou se terá sido influenciada pelo facto de as participantes estarem a ser alvo de observação e o observador ser nutricionista.

No nosso estudo não encontramos qualquer relação entre a variação dos parâmetros da composição corporal (peso, IMC, PC, PA, PC/PA, MG,

MNG, ACT, AInt, AExt) e a variação da ingestão energética, de glúcidos, de lípidos, de proteínas, de fibra e de água dos alimentos.

Dos parâmetros antropométricos avaliados, verificamos que o peso e o IMC diminuíram, o que estaria de acordo com a diminuição da ingestão. No entanto, a diminuição não é significativa e talvez por isso não tenhamos encontrado associação.

Dados os aumentos observados no decurso do tratamento no PC, na relação PC/PA e na massa gorda, seria de esperar não encontrarmos qualquer relação com a variação da ingestão nutricional, que diminuiu.

Para determinarmos a presença de insulinoresistência na nossa amostra optamos pelo índice HOMA-R, que é um método de determinação da IR com forte correlação com outros métodos, como o clamp euglicémico, e é bastante mais simples de realizar [105].

Verificamos que os valores de glicemia, insulinemia e do HOMA-R aumentaram significativamente no decurso do tratamento, embora, em média, se tivessem sempre mantido inferiores ao limite máximo.

Detectamos participantes com valores indicadores de IR, ou seja, com índice HOMA-R igual ou superior a 3,9, no 2º momento (2 participantes, 2,1%) e no 3º momento (7 participantes, 12,7%), mas não no 1º momento. Estas mulheres que desenvolveram IR apresentavam de início parâmetros antropométricos com valores bastante acima da média da amostra, que as colocam no primeiro grau da obesidade, com perímetro da cintura e relação PC/PA acima dos limites de risco e teor em massa gorda que ultrapassa em muito o recomendável.

O estado de insulinoresistência é influenciado pela composição corporal, particularmente, pela gordura abdominal [36, 37]. Em consonância com esta afirmação encontramos, no primeiro momento, associação positiva entre os parâmetros relacionados com a IR, glicemia, insulinemia e HOMA-R, e o peso, o IMC, o PC, o PA, a relação PC/PA e a massa gorda e associação negativa com a massa não gorda, a água corporal total e a água extracelular. No terceiro momento não encontramos associação para os valores de glicemia,

mas encontramos as mesmas associações para a insulinemia e o índice HOMA-R. Ou seja, de facto na nossa amostra os valores mais elevados de HOMA-R associam-se a valores mais elevados de peso, de IMC e de MG, representando a gordura corporal total, e também de PC e da relação PC/PA, representando a gordura abdominal.

Mas avaliando a evolução destes parâmetros relacionados com a IR e a dos antropométricos e de Bioimpedância, ao longo do tratamento, apenas encontramos associações negativas entre a glicemia e o peso, o IMC e a relação PC/PA. E esta associação diz-nos que quanto maior o aumento da glicemia, maior a diminuição do peso e do IMC e menor o aumento da relação PC/PA. Esta associação e a ausência de qualquer associação com a insulinemia e o HOMA-R estão totalmente em desacordo com o esperado.

Colocamos a hipótese de o aumento do PC e da relação PC/PA estarem na origem do aumento verificado nos valores de glicemia, insulinemia e do índice HOMA-R, uma vez que aumentaria a disponibilidade de ácidos gordos livres. Mas, além de não encontrarmos associações neste sentido, o que se poderia dever ao reduzido tamanho amostral, as associações encontradas para a glicemia são negativas.

De qualquer forma, em média estas mulheres já têm, à partida, excesso de peso e de gordura corporal, especialmente abdominal. Com o aumento da gordura abdominal que se verifica durante o processo, vai haver um aumento de ácidos gordos livres e de androgénios e ambos conduzem ao aumento da insulina e à insulinoresistência [40, 46].

Sabendo-se que a leptina inibe o receptor e a sinalização da insulina, contribuindo para a hiperinsulinemia e o aparecimento da IR [31, 46], assim como outras adipocinas [12, 30, 33] e que a adiponectina tem efeitos opostos [13, 47], é possível que o aumento da massa gorda verificada nas nossas participantes leve ao aumento da leptina e outras adipocinas e à diminuição da adiponectina e ao conseqüente aumento da insulinemia e do índice HOMA-R, que observamos no nosso trabalho.

De que tenhamos conhecimento, nunca havia sido reportado um aumento de prevalência da Insulinoresistência durante estes tratamentos. Esta

situação pode ter consequências no decurso de uma gravidez deles resultante e aumenta o risco de abortamento [65].

Relativamente à relação destes parâmetros determinantes da IR com a alteração da ingestão ao longo do tratamento, encontramos associação entre o maior aumento da insulinemia e a maior diminuição na ingestão relatada de gorduras totais, saturadas e monoinsaturadas e de glícidos complexos. Um maior aumento do HOMA-R estava associado a maior diminuição na ingestão de gorduras totais e gorduras monoinsaturadas.

A nossa hipótese à partida era a existência de associação entre o aumento dos valores destes parâmetros e o aumento da ingestão de energia, de glícidos, de gorduras, especialmente as saturadas e as *trans* e mesmo de proteínas, como tem sido descrito, mas, curiosamente, os nossos dados vão no sentido inverso ao descrito [75-84].

Em face do observado relativamente aos parâmetros antropométricos e de ingestão nutricional, podemos concluir que este aumento da glicemia, da insulinemia e do índice HOMA-R não se relaciona com aumento da ingestão, nem com variações do peso ou do IMC, mas eventualmente, com o aumento da massa gorda abdominal, verificada através do aumento do PC e da relação PC/PA.

6. Conclusão

No nosso estudo pudemos observar que ao longo do decurso dos tratamentos de procriação medicamente assistida o PC, a relação PC/PA e a massa gorda aumentam, enquanto o peso e o IMC diminuem discretamente. Estes aumentos não se devem à diminuição da actividade física ou a alterações da ingestão nutricional. Parecem ser um efectivo reflexo do aumento do tecido adiposo na zona abdominal. Verifica-se um agravamento do estado de desidratação com que estas mulheres iniciam o tratamento.

O padrão nutricional destas mulheres é idêntico ao da população de mulheres da mesma idade e da mesma área, embora ultrapasse ligeiramente os limites recomendados para a ingestão energética e de lípidos. A ingestão dos restantes nutrientes está de acordo com as normas estabelecidas para uma alimentação equilibrada. Durante o período do tratamento a ingestão total relatada de macro e micronutrientes diminui, mantendo-se, dentro dos valores recomendados pela OMS.

Ao longo dos tratamentos, os valores da glicemia e insulinemia, bem como o índice HOMA-R, aumentam e surgem mesmo casos de IR, inexistentes no início, e cada vez mais frequentes até ao final do tratamento. Este aparecimento da IR não se relacionou com a ingestão nutricional relatada nem com as alterações nas medidas antropométricas, mas surge principalmente em mulheres com excesso de peso e de massa gorda, particularmente abdominal. Possivelmente o surgimento desta situação deve-se ao aumento do tecido adiposo abdominal que efectivamente se verifica durante o período de duração dos tratamentos.

Assim, a sujeição a estes tratamentos leva ao aumento da massa gorda, em particular na zona abdominal, que parece levar ao aumento da glicemia e insulinemia e conseqüentemente ao aumento do índice HOMA-R. A insulinoresistência surge durante o período de tratamento, especialmente em mulheres com excesso de peso e massa gorda.

Por tudo isso parece-nos importante que estas mulheres sejam aconselhadas a adoptar, previamente ao tratamento, hábitos de ingestão

alimentar e hídrica bem como a adopção de prática de uma actividade física regular, de forma a atingirem um peso mais saudável e, assim, minorar o risco de insucesso e de desenvolver insulinoresistência.

7. Referências Bibliográficas

1. Andersen, A.N., et al., *Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE*. Hum Reprod, 2008. **23**(4): p. 756-771.
2. Reprodução, S.P.d.M.d. www.spmr.pt. 2008 [cited 2008 31 Agosto].
3. Speroff, L. and M. Fritz, *Assisted Reproductive Technologies*, in *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, L.W.a. Wilkins, Editor. 2005: Philadelphia. p. 1215-1274.
4. Fernandez-Fernandez, R., et al., *Novel signals for the integration of energy balance and reproduction*. Mol Cell Endocrinol 2006. **254-255**: p. 127-132.
5. Ganong, W., *The female reproduction system*, in *Review of Medical Physiology*. 2005, Lange Medical Books/McGraw-Hill: New York. p. 433-447.
6. Speroff, L. and M. Fritz, *Regulation of the Menstrual Cycle*, in *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, L.W.a. Wilkins, Editor. 2005: Philadelphia. p. 187-232.
7. Guyton, A. and J. Hall, *Female physiology before pregnancy and female hormones*, in *Textbook of Medical Physiology*. 2006, Elsevier Saunders: Philadelphia. p. 1011-1026.
8. Berne, R., et al., *The reproductive glands*, in *Physiology*. 2004, Mosby: St Louis. p. 947-965.
9. Land, J. and J. Evers, *Risks and complications in assisted reproduction techniques: Report of an ESHRE consensus meeting*. Hum Reprod, 2003. **18**(2): p. 455-457.
10. Fedorcsák, P., et al., *Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment*. Hum Reprod, 2004. **19**(11): p. 2523-2528.
11. Chan, J.L. and C.S. Mantzoros, *Role of leptin in energy-deprivation states: normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhoea and anorexia nervosa*. Lancet, 2005. **366**: p. 74-85.
12. Mitchell, M., et al., *Adipokines: implications for female fertility and obesity*. Reproduction, 2005. **130**: p. 583-597.
13. Budak, E., et al., *Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system*. Fertil Steril, 2006. **85**(6): p. 1563-1581.
14. Moran, L.J. and R.J. Norman, *The obese patient with infertility: a practical approach to diagnosis and treatment*. Nutr Clin Care, 2002. **6**: p. 290-297.
15. Davies, M.J., *Evidence for effects of weight on reproduction in women*. Reprod Biomed Online, 2006. **12**(5): p. 552-61.
16. Jokela, M., M. Elovainio, and M. Kivimaki, *Lower fertility associated with obesity and underweight: the US National Longitudinal Survey of Youth*. Am J Clin Nutr, 2008. **88**(4): p. 886-93.
17. Bolumar, F., et al., *Body Mass Index and Delayed Conception: A European Multicenter Study on Infertility and Subfecundity*. Am J Epidemiol 2000. **151**: p. 1072-9.
18. Furman, M. and G.N. Wade, *Animal models in the study of nutritional infertility*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2007. **14**: p. 475-481.

19. Shahab, M., et al., *Acute Lipoprivation Suppresses Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion without Affecting Food Intake in Female Rats*. J Reprod Dev, 2006. **52**(6): p. 763-72.
20. Loucks, A.B., *Energy Availability, Not Body Fatness, Regulates Reproductive Function in Women*. Exerc Sport Sci Rev, 2003. **31**(3): p. 144-148.
21. Szymanski, L., et al., *Changes in Insulin, Glucose and Ketone Bodies, But Not Leptin or Body Fat Content Precede Restoration of Luteinising Hormone Secretion in Ewes*. J Neuroendocr, 2007. **19**: p. 449-460.
22. Loucks, A.B., *Energy availability and infertility*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2007. **14**(6): p. 470-4.
23. Welt, C., et al., *Recombinant Human Leptin in Women with Hypothalamic Amenorrhea*. N Engl J Med, 2004. **351**: p. 987-97.
24. Bluher, S. and C. Mantzoros, *Leptin in reproduction*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2007. **14**: p. 458-464.
25. Roman, E., A. Ricci, and A. Faletti, *Leptin enhances ovulation and attenuates the effects produced by food restriction*. Mol Cell Endocrinol, 2005. **242**: p. 33-41.
26. Bellver, J., et al., *Obesity and assisted reproductive technology outcomes*. Reprod Biomed Online, 2006. **12**(5): p. 562-8.
27. Pasquali, R., *Obesity, fat distribution and infertility*. Maturitas, 2006. **54**(4): p. 363-71.
28. Balen, A., et al., *The influence of body weight on response to ovulation induction with gonadotrophins in 335 women with World Health Organization group II anovulatory infertility*. BJOG, 2006. **113**: p. 1195-1202.
29. Pasquali, R., L. Patton, and A. Gambineri, *Obesity and infertility*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2007. **14**(6): p. 482-7.
30. Gosman, G.G., H.I. Katcher, and R.S. Legro, *Obesity and the role of gut and adipose hormones in female reproduction*. Hum Reprod Update, 2006. **12**(5): p. 585-601.
31. Pasquali, R. and A. Gambineri, *Metabolic effects of obesity on reproduction*. Reprod Biomed Online, 2006. **12**(5): p. 542-51.
32. Pasquali, R., *Obesity and androgens: facts and perspectives*. Fertil Steril, 2006. **85**: p. 1319-1340.
33. Diamanti-Kandarakis, E. and A. Bergiele, *The influence of obesity on hyperandrogenism and infertility in the female*. Obes Rev, 2001. **2**: p. 231-238.
34. Jain, A., et al., *Pulsatile Luteinizing Hormone Amplitude and Progesterone Metabolite Excretion Are Reduced in Obese Women*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**: p. 2468-2473.
35. De Pergola, G., et al., *Inhibitory effect of obesity on gonadotropin, estradiol, and inhibin B levels in fertile women*. Obesity (Silver Spring), 2006. **14**(11): p. 1954-60.
36. Mittendorfer, B., *Insulin resistance: sex matters*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2005. **8**: p. 367-372.
37. Paniagua, J.A., et al., *Monounsaturated Fat-Rich Diet Prevents Central Body Fat Distribution and Decreases Postprandial Adiponectin Expression Induced by a Carbohydrate-Rich Diet in Insulin-Resistant Subjects*. Diab Care 2007. **30**: p. 1717-1723.

38. Tappy, L. and D. D'Alessio, *Obesity and insulin resistance: is it due to body fat, energy balance or gut factors?* *Curr Op Clin Nutr Met Care*, 2006. **9**: p. 455-457.
39. Guilherme, A., et al., *Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes*. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008. **9**: p. 367-377.
40. Delarue, J. and C. Magnan, *Free fatty acids and insulin resistance*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2007. **10**: p. 142-148.
41. Koutsari, C. and M.D. Jensen, *Free fatty acid metabolism in human obesity*. *J Lipid Res.*, 2006. **47**: p. 1643-1650.
42. Koska, J., et al., *Increased fat accumulation in liver may link insulin resistance with subcutaneous abdominal adipocyte enlargement, visceral adiposity and hypoadiponectinemia in obese individuals*. *Am J Clin Nutr* 2008. **87**: p. 295-302.
43. Kasim-Karakas, S., W. Cunningham, and A. Tsodikov, *Relation of nutrients and hormones in polycysticovary syndrome*. *Am J Clin Nutr*, 2007. **85**: p. 688-94.
44. Petersen, K.F. and G.I. Shulman, *Etiology of Insulin Resistance*. *Am J Med* 2006. **119**(5A): p. 10S-16S.
45. Nelson, S.M. and R. Fleming, *Obesity and reproduction: impact and interventions*. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007. **19**(4): p. 384-9.
46. Liepa, G.U., A. Sengupta, and D. Karsies, *Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Other Androgen Excess-Related Conditions: Can Changes in Dietary Intake Make a Difference?* *Nutr Clin Pract*, 2008. **23**: p. 63-71.
47. Metwally, M., T.C. Li, and W.L. Ledger, *The impact of obesity on female reproductive function*. *Obes Rev*, 2007. **8**(6): p. 515-23.
48. Toth, B., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptors: new players in the field of reproduction*. *Am J Reprod Immunol*, 2007. **58**(3): p. 289-310.
49. Ramsay, J.E., I. Greer, and N. Sattar, *Obesity and reproduction*. *BMJ* 2006. **333**: p. 1159-1162.
50. Vettor, R., et al., *Review article: adipocytokines and insulin resistance*. *Aliment Pharmacol Ther*, 2005. **22**(suppl 2): p. 3-10.
51. Demir, B., et al., *Serum leptin level in women with unexplained infertility*. *J Reprod Immunol*, 2007. **75**(2): p. 145-9.
52. Hill, M.J., et al., *The utility of serum leptin and follicular fluid leptin, estradiol and progesterone levels during an in vitro fertilization cycle*. *J Assist Reprod Genet*, 2007. **24**: p. 183-188.
53. (ESHRE), T.E.C.W.G., *Nutrition and reproduction in women*. *Hum Reprod Update*, 2006. **12**(3): p. 193-207.
54. Unkila-Kallio, L., et al., *Leptin during assisted reproductive cycles: the effect of ovarian stimulation and of very early pregnancy*. *Hum Reprod* 2001. **16**: p. 657-62.
55. Lagaly, D.V., et al., *Role of adiponectin in regulating ovarian theca and granulosa cell function*. *Mol Cell Endocrinol* 2008. **284**: p. 38-45.
56. Al-Harithy, R. and S. Al-Ghamdi, *Serum resistin, adiposity and insulin resistance in Saudi women with type 2 diabetes mellitus*. *Ann Saudi Med* 2005. **25**(4): p. 283-287.
57. Lim, S.S., M. Noakes, and R.J. Norman, *Dietary effects on fertility treatment and pregnancy outcomes*. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2007. **14**(6): p. 465-9.

58. Dodson, W.C., A.R. Kunselman, and R.S. Legro, *Association of obesity with treatment outcomes in ovulatory infertile women undergoing superovulation and intrauterine insemination*. *Fertil Steril*, 2006. **86**(3): p. 642-6.
59. Linné, Y., *Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy*. *Obesity reviews*, 2004. **5**: p. 137-143.
60. Maheshwari, A., L. Stofberg, and S. Bhattacharya, *Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology—a systematic review*. *Hum Reprod Update*, 2007. **13**(5): p. 433-444.
61. Dokras, A., et al., *Obstetric outcomes after in vitro fertilization in obese and morbidly obese women*. *Obstet Gynecol*, 2006. **108**(1): p. 61-9.
62. Lintsen, A., et al., *Effects of subfertility cause, smoking and body weight on the success rate of IVF*. *Hum Reprod*, 2005. **20**(7): p. 1867-1875.
63. Nelson, S.M. and R.F. Fleming, *The preconceptional contraception paradigm: obesity and infertility*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(4): p. 912-915.
64. Dale, P.O., et al., *The impact of insulin resistance on the outcome of ovulation induction with low-dose follicle stimulating hormone in women with polycystic ovary syndrome*. *Hum Reprod*, 1998. **13**(3): p. 567-70.
65. Tian, L., et al., *Insulin Resistance Increases the Risk of Spontaneous Abortion after Assisted Reproduction Technology Treatment*. *J Clin Endocrinol Metab* 2007. **92**: p. 1430-1433.
66. Fleming, R., et al., *Dynamics of FSH-induced follicular growth in subfertile women: relationship with age, insulin resistance, oocyte yield and anti-Mullerian hormone*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(6): p. 1436-41.
67. Dechaud, H., et al., *Obesity does not adversely affect results in patients who are undergoing in vitro fertilization and embryo transfer*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006. **127**: p. 88–93.
68. Wass, P., et al., *An android body fat distribution in females impairs the pregnancy rate of in-vitro fertilization-embryo transfer*. *Hum Reprod*, 1997. **12**(9): p. 2057-2060.
69. Chavarro, J.E., et al., *Dietary fatty acid intakes and the risk of ovulatory infertility*. *Am J Clin Nutr*, 2007. **85**(1): p. 231-7.
70. Chavarro, J.E., et al., *Protein intake and ovulatory infertility*. *Am J Obstet Gynecol*, 2008. **198**(2): p. 210 e1-7.
71. Chavarro, J.E., et al., *A prospective study of dairy foods intake and anovulatory infertility*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(5): p. 1340-7.
72. Chavarro, J.E., et al., *Use of multivitamins, intake of B vitamins, and risk of ovulatory infertility*. *Fertil Steril*, 2008. **89**(3): p. 668-76.
73. Chavarro, J.E., et al., *Diet and lifestyle in the prevention of ovulatory disorder infertility*. *Obstet Gynecol*, 2007. **110**(5): p. 1050-8.
74. Wakefield, S.L., et al., *Maternal supply of omega-3 polyunsaturated fatty acids alter mechanisms involved in oocyte and early embryo development in the mouse*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008. **294**: p. E425–E434.
75. Marsh, K. and J. Brand-Miller, *The optimal diet for women with polycystic ovary syndrome?* *Br J Nutr*, 2005. **94**: p. 154-165.
76. Brand-Miller, J., et al., *Low-Glycemic Index Diets in the Management of Diabetes. A meta-analysis of randomized controlled trials*. *Diab Care* 2003. **26**: p. 2261-2267.

77. Due, A., et al., *Comparison of the effects on insulin resistance and glucose tolerance of 6-mo high-monounsaturated-fat, low-fat, and control diets*. *Am J Clin Nutr*, 2008. **87**: p. 855-62.
78. Clarke, S., *The multidimensional regulation of gene expression by fatty acids: polyunsaturated fats as nutrient sensors*. *Curr Opin Lipidol*, 2004. **15**(13-18).
79. Giacco, R., et al., *Fish oil, insulin sensitivity, insulin secretion and glucose tolerance in healthy people: Is there any effect of fish oil supplementation in relation to the type of background diet and habitual dietary intake of n-6 and n-3 fatty acids?* *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2007. **17**: p. 572-580.
80. Griffin, M.D., et al., *Effects of altering the ratio of dietary n6 to n3 fatty acids on insulin sensitivity, lipoprotein size, and postprandial lipemia in men and postmenopausal women aged 45–70 y: the OPTILIP Study*. *AmJ Clin Nutr*, 2006. **84**: p. 1290-8.
81. Risérus, U., *Trans fatty acids and insulin resistance*. *Atheroscler Suppl*, 2006. **7**: p. 37-39.
82. Risérus, U., *Fatty acids and insulin sensitivity*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008. **11**: p. 100-105.
83. Santos, L.C.d., et al., *Calcium intake and its relationship with adiposity and insulin resistance in post-pubertal adolescents*. *J Hum Nutr Diet*, 2008. **21**: p. 109-116.
84. Choi, H., et al., *Dairy consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in men: a prospective study*. *Arch Intern Med* 2005. **165**: p. 997–1003.
85. Lee, R. and D. Nieman, *Nutritional Assessment*. Second ed. 1996, St Louis: Mosby.
86. Gibson, S., *Principles of Nutritional Assessment*. 1990, Oxford: Oxford University Press.
87. Jelliffe, D., et al., *Community nutritional assessment with special reference to less technically developed countries*. 1989, Oxford: Oxford University Press.
88. Frisancho, A.R., *New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status*. *Am J Clin Nutr*, 1981. **34**(11): p. 2540-5.
89. Lee, R. and D. Nieman, *Nutritional Assessment*. 4th ed. 2007, New York: McGraw Hill.
90. WHO, *Obesity preventing and managing the global epidemic report of a WHO consultation 2000*, WHO: Geneve.
91. ESPEN, G., *Bioelectrical Impedance Analysis - part II: utilization in clinical practice*. *Clin Nutr*, 2004. **23**: p. 1430-1453.
92. Matthews, D., et al., *Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man*. *Diabetologia*, 1985. **28**: p. 412-419.
93. Willett, W., *Food frequency methods*, in *Nutritional Epidemiology*, W. Willett, Editor. 1998, Oxford University Press: New York.
94. Lopes, C., *Reproducibility and validity of semi-quantitative food frequency questionnaire*. In *Diet and Myocardial Infarction: A Community-Based Case–Control Study*. 2000, Universidade do Porto: Porto.
95. Heymsfield, S., et al., *Human Body Composition*. 2 ed. 2005: Human Kinetics.
96. Martinoli, R., et al., *Total body water estimation using bioelectrical impedance: a meta-analysis of the data available in the literature*. *Acta Diabetol*, 2003. **40 Suppl 1**: p. S203-6.

97. Charney, P., *Water, electrolytes and acid-base balance*, in *Krause's Food and Nutrition Therapy*, L.K. Mahan and S. Escott-Stump, Editors. 2008, Saunders Elsevier: St Louis.
98. Basile, C., et al., *Total body water in health and disease: Have anthropometric equations any meaning?* *Nephrol Dial Transplant*, 2008. **23**(6): p. 1997-2002.
99. Machado, R.B., et al., *Effects of two different oral contraceptives on total body water: a randomized study*. *Contraception*, 2006. **73**(4): p. 344-7.
100. Wake, D.J., et al., *Intra-adipose sex steroid metabolism and body fat distribution in idiopathic human obesity*. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2007. **66**(3): p. 440-6.
101. São-Marcos, T., *Estudo da variação da composição corporal em mulheres submetidas a técnicas de reprodução medicamente assistida* in *Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação*. 1998, Universidade do Porto: Porto.
102. Oelkers, W.K., *Effects of estrogens and progestogens on the renin-aldosterone system and blood pressure*. *Steroids*, 1996. **61**(4): p. 166-71.
103. www.iom.edu. 2008 [cited 2008].
104. <http://higiene.med.up.pt/consumoalimentarporto>. 2008 [cited; Consumo Alimentar do Porto].
105. Martins, W., et al., *Agreement among insulin sensitivity indexes on the diagnosis of insulin resistance in polycystic ovary syndrome and ovulatory women*. *Eur J Obst Gyn Repr Biol* 2007. **133**: p. 203-207.