

GUSTAVO SALATA ROMÃO<sup>1</sup>

PAULA ANDRÉA DE ALBUQUERQUE SALLES NAVARRO<sup>2</sup>

RUI ALBERTO FERRIANI<sup>2</sup>

LUCIANA AZOR DIB<sup>3</sup>

JHENIFER RODRIGUES<sup>3</sup>

MARIA ALBINA VERCEZE BORTOLIEIRO<sup>4</sup>

# Hormônio anti-Mülleriano sérico para predição da resposta ovariana em ciclos de reprodução assistida

*Serum anti-Müllerian hormone to predict ovarian response in assisted reproduction cycles*

## Artigo Original

### Palavras-chave

Hormônio anti-Mülleriano  
Técnicas reprodutivas assistidas  
Indução da ovulação

### Keywords

Anti-Müllerian hormone  
Reproductive techniques, assisted  
Ovulation induction

## Resumo

**OBJETIVOS:** Comparar as concentrações séricas do hormônio anti-Mülleriano (AMH) no sétimo dia de estimulação ovariana em pacientes boas e más respondedoras. **MÉTODOS:** Foram incluídas 19 mulheres com idade  $\geq 35$  anos, ciclos menstruais regulares e que foram submetidas à estimulação ovariana para reprodução assistida. Foram excluídas mulheres portadoras de endometriose ou síndrome dos ovários policísticos ou aquelas submetidas previamente à cirurgia ovariana. Foram coletadas amostras de sangue periférico no dia basal e no sétimo dia de estimulação para dosagens de AMH, hormônio folículo estimulante (FSH) e estradiol. Os níveis de AMH foram avaliados pelo método de enzimoimunoensaio (ELISA) e os níveis de FSH e estradiol foram avaliados por imunoquimioluminescência. Ao final do ciclo, as pacientes foram classificadas como normo (obtenção de quatro ou mais oócitos durante a captação) ou más respondedoras (obtenção de menos de quatro oócitos ou cancelamento do ciclo por má resposta) e analisadas comparativamente em relação aos níveis hormonais, duração da estimulação ovariana, número de folículos recrutados, embriões produzidos e transferidos através do teste t. A associação entre os níveis de AMH e os parâmetros acima também foi avaliada pelo teste de correlação de Spearman. **RESULTADOS:** Não houve diferença significativa entre os grupos para os níveis de AMH, FSH e estradiol no dia basal e no sétimo dia de estimulação ovariana, sendo observada correlação significativa entre os níveis de AMH do sétimo dia e a quantidade total de FSH exógeno utilizada ( $p=0,02$ ). **CONCLUSÕES:** Os níveis de AMH obtidos no sétimo dia do ciclo de estimulação ovariana não parecem prever o padrão de resposta ovariana, não sendo recomendadas as suas dosagens para esta finalidade.

## Abstract

**PURPOSE:** To compare serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels on the seventh day of ovarian stimulation between normal and poor responders. **METHODS:** Nineteen women aged  $\geq 35$ , presenting with regular menses, submitted to ovarian stimulation for assisted reproduction were included. Women with endometriosis, polycystic ovarian syndrome or those who were previously submitted to ovarian surgery were excluded. On the basal and seventh day of ovarian stimulation, a peripheral blood sample was drawn for the determination of AMH, FSH and estradiol levels. AMH levels were assessed by ELISA and FSH, and estradiol by immunochemiluminescence. At the end of the stimulation cycle patients were classified as normal responders (if four or more oocytes were obtained during oocyte retrieval) or poor responders (if less than four oocytes were obtained during oocyte retrieval or if the cycle was cancelled due to failure of ovulation induction) and comparatively analyzed by the t-test for hormonal levels, length of ovarian stimulation, number of follicles retrieved, and number of produced and transferred embryos. The association between AMH and these parameters was also analyzed by the Spearman correlation test. **RESULTS:** There was no significant difference between groups for basal or the seventh day as to AMH, FSH and estradiol levels. There was a significant correlation between seventh day AMH levels and the total amount of exogenous FSH used ( $p=0.02$ ). **CONCLUSIONS:** AMH levels on the seventh day of the ovarian stimulation cycle do not seem to predict the pattern of ovarian response and their determination is not recommended for this purpose.

### Correspondência

Gustavo Salata Romão  
Rodovia Washington Luís, km 235, SP-310  
CEP: 13565-905  
São Carlos (SP), Brasil

### Recebido

19/09/12

### Aceito com modificações

29/10/12

<sup>1</sup>Departamento de Medicina, Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR – São Carlos (SP), Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

<sup>3</sup>Programa de Pós-graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

<sup>4</sup>Laboratório do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

## Introdução

O Hormônio Anti-Mülleriano (AMH) é um polipeptídeo membro da superfamília TGF- $\beta$ , da qual também fazem parte as inibinas, as activinas, as proteínas relacionadas à morfogênese óssea (BMPs) e aos fatores de crescimento e diferenciação (GDFs)<sup>1</sup>. Em fetos femininos a expressão de AMH inicia-se a partir da 36ª semana de vida intrauterina, quando os ductos müllerianos já se tornaram insensíveis ao seu efeito biológico<sup>2</sup>. Seus níveis séricos são indetectáveis ou extremamente baixos ao nascimento e se elevam durante a puberdade, alcançando os níveis semelhantes aos do sexo masculino nessa ocasião<sup>3</sup>. Durante a vida reprodutiva feminina, o AMH é detectável no soro durante todo o ciclo menstrual, apresentando níveis decrescentes com o avançar da idade<sup>4</sup>. Na mulher adulta, o AMH é produzido somente pelas células da granulosa ovariana. Sua expressão pelos folículos primários é discreta e se eleva em folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais (de até 6 ou 7 mm de diâmetro), quando atinge níveis máximos. A partir de então, a expressão de AMH declina gradualmente à medida que os folículos crescem, tornando-se indetectável durante a fase de crescimento folicular dependente de FSH. Não foi detectada expressão de AMH pelos folículos atrésicos<sup>5,6</sup>.

Em nível ovariano, o AMH exerce seu papel no controle do crescimento folicular pelas vias parácrina e autócrina. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram um efeito inibitório do AMH sobre o recrutamento folicular a partir do *pool* de folículos primordiais<sup>7</sup> e um efeito dessensibilizador ao FSH nos pequenos folículos antrais<sup>6</sup>.

Os níveis séricos de AMH estão fortemente relacionados ao número de folículos antrais e à reserva folicular<sup>8</sup> e, em decorrência desses aspectos, o AMH tem sido apontado como o marcador mais precoce do declínio da função ovariana<sup>6</sup>.

Ao longo do ciclo menstrual, os níveis séricos de AMH apresentam apenas pequenas flutuações<sup>9</sup>. Além disso, os níveis séricos dessa proteína apresentam grande reprodutibilidade interciclo e, conseqüentemente, uma única amostra sanguínea é suficiente para a avaliação realística da reserva ovariana, o que não ocorre em relação às detecções do FSH<sup>10</sup>. Também verificou-se que os níveis séricos de AMH apresentam menor variação intra e interciclo em relação à contagem de folículos antrais (AFC)<sup>11</sup>.

A associação entre os níveis basais de AMH e o padrão de resposta à estimulação com gonadotrofinas exógenas foi reportada inicialmente por Seifer et al.<sup>12</sup>. Desde então, outros estudos confirmaram a superioridade do AMH obtido no segundo ou terceiro dia de estimulação ovariana controlada em relação à idade feminina, níveis de FSH, estradiol e inibina B na predição do número de oócitos captados para fertilização *in vitro* (FIV)<sup>6,13</sup>.

Um estudo prospectivo não randomizado de grande porte demonstrou que a individualização dos protocolos de estimulação ovariana controlada baseada nas concentrações de AMH repercute na redução do risco de hiper-resposta com manutenção das taxas de gestação<sup>14</sup>.

Outro estudo comparou as dosagens séricas de AMH entre o terceiro e o quinto dia de estimulação ovariana controlada para a predição da resposta ovariana e taxas de gestação em 80 mulheres submetidas à dessensibilização hipofisária e à estimulação controlada para fertilização assistida<sup>15</sup>. No estudo em questão, o quinto dia foi utilizado para a segunda coleta de AMH porque correspondeu ao dia do primeiro retorno das pacientes para a monitorização ultrassonográfica. Dentre as pacientes avaliadas, 20 tiveram o ciclo de estimulação cancelado devido à má resposta. Este grupo (teste) foi comparado às demais pacientes (grupo controle) para pareamento por idade, raça, índice de massa corpórea, níveis de FSH basal e indicação para FIV ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Os resultados mostraram que os níveis séricos de AMH do quinto dia foram significativamente mais baixos no grupo teste em relação aos controles. A análise desses resultados pela curva ROC demonstrou que os níveis de AMH do quinto dia apresentaram maior valor preditivo para o cancelamento dos ciclos em relação aos níveis basais de AMH.

Os procedimentos de reprodução assistida envolvem, além de alto custo, dispêndio de tempo e desgaste emocional por parte dos casais. As taxas de sucesso dos serviços de reprodução assistida raramente consideram o número de ciclos cancelados, os quais geralmente são resultantes da má resposta ovariana aos protocolos de estimulação. O cancelamento tardio dos ciclos aumenta consideravelmente o custo e a duração do tratamento, tornando desfavorável a relação custo/efetividade dos procedimentos. A predição antecipada da má resposta à estimulação ovariana fornece subsídios para o aconselhamento apropriado dos casais cujo tratamento não será promissor.

Este estudo teve como objetivo comparar as concentrações séricas de AMH, FSH e estradiol no sétimo dia de estimulação ovariana controlada entre pacientes boas e más respondedoras, além da performance nos ciclos para os dois grupos de pacientes.

## Métodos

Este estudo prospectivo controlado não randomizado foi desenvolvido no Serviço de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, entre outubro de 2007 e julho de 2009. O respectivo projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local

e todo o seu desenvolvimento foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque.

Foram selecionadas mulheres com idade  $\geq 35$  anos, com ciclos menstruais regulares, agendadas para procedimentos de fertilização assistida de alta complexidade FIV ou ICSI, sendo incluídas 19 mulheres que completaram a rotina básica de investigação para infertilidade conjugal de acordo com os protocolos do serviço e manifestaram sua concordância em participar do estudo pela assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Foram excluídas mulheres com idade  $< 35$  anos, aquelas que apresentavam irregularidade menstrual nos últimos seis meses, mulheres com diagnóstico de Síndrome dos Ovários Policísticos ou endometriose, história pregressa de cirurgias sobre um dos ovários e/ou ooforectomias, subnotificação de dados referentes à ficha de caso novo do Ambulatório de Esterilidade Conjugal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, mulheres agendadas para procedimento de doação de oócitos como receptoras, que tiveram o ciclo de indução suspenso antes do sétimo dia de estimulação ovariana ou que tiveram o ciclo de indução suspenso após o sétimo dia de estimulação ovariana por causa diferente de má resposta ovariana.

De acordo com o padrão de resposta à estimulação ovariana, as pacientes foram classificadas como normo respondedoras (aquelas que apresentaram quatro ou mais oócitos durante o procedimento de aspiração folicular) ou más respondedoras (pacientes que tiveram o ciclo cancelado por má resposta ou que obtiveram menos de quatro oócitos durante o procedimento de aspiração folicular).

Todas as pacientes foram submetidas à estimulação ovariana com FSH recombinante (Gonal-F; Serono ou Puregon-Pen; Organon) na dose de 300 a 450 UI subcutâneas /dia a partir da verificação ultrassonográfica de endométrio com espessura inferior a 5 mm e ausência de folículo dominante ou cisto ovariano maior que 10 mm de diâmetro médio no dia basal. Em todas as pacientes incluídas o bloqueio hipofisário foi assegurado pela administração de acetato de leuprolide (0,5 mg subcutâneo/dia), iniciado na fase lútea média do ciclo precedente e mantido até a ocasião da maturidade folicular, quando a ultrassonografia transvaginal identificasse a presença de pelo menos dois folículos com diâmetro médio maior que 18 mm. A partir do sexto dia de estimulação ovariana, as doses de gonadotrofinas foram reajustadas mediante o crescimento folicular observado até a ocasião da maturidade folicular, quando foi administrado hCG recombinante (Ovidrel; Serono) na dose de 250  $\mu$ g por via subcutânea em dose única.

A aspiração folicular foi realizada 35 a 36 horas após a administração de hCG por transdutor transvaginal acoplado a uma agulha de punção. Os oócitos obtidos

foram selecionados para FIV ou ICSI considerando-se a indicação prévia ao procedimento, a quantidade de oócitos disponíveis e a qualidade do sêmen após a capacitação espermática no dia da aspiração folicular.

Os oócitos selecionados para FIV foram inseminados seis horas após a captação com uma concentração de 250 mil espermatozoides por microgota. Os oócitos selecionados para ICSI foram submetidos à remoção das células do *cumulus oophorus* com hialuronidase previamente à injeção intracitoplasmática de espermatozoides. Três dias após o procedimento de fertilização assistida foi realizada a transferência de até três embriões por paciente. A suplementação da fase lútea foi realizada com progesterona micronizada (Evocanil; 600 mg/dia) ou progesterona vaginal (Crinone 8%; uma aplicação/dia), estendendo o seu uso até a 12ª semana de gestação em caso de positividade do teste gravídico. A confirmação da gravidez foi realizada pela dosagem do hCG sanguíneo no 15º dia após a transferência embrionária.

Foram considerados critérios indicativos ao cancelamento dos ciclos de indução a ausência de pelo menos três folículos com diâmetro médio  $\geq 14$  mm visualizados na ultrassonografia transvaginal após oito a nove dias de estimulação ovariana com gonadotrofinas (cancelamento precoce) e/ou ausência de critérios de maturidade folicular para administração do hCG após quatro a cinco dias de prorrogação do tratamento com critérios iniciais considerados insatisfatórios (cancelamento tardio)<sup>15</sup>.

Para cada ciclo de estimulação ovariana foi realizado o primeiro exame (ultrassonografia basal) na data marcada para o início da estimulação ovariana, no qual foram avaliados a espessura endometrial, o volume e o status folicular dos ovários, bem como a presença de cistos anexiais que pudessem interferir no processo de estimulação ovariana. Um segundo exame de ultrassonografia foi realizado seis dias após a ultrassonografia basal para acompanhar o desenvolvimento folicular e endometrial (considerando-se sua espessura e padrão ecográfico). A partir da segunda ultrassonografia, os demais exames foram realizados de acordo com as necessidades específicas de cada paciente, até que fosse obtido um número apropriado de folículos maduros para a administração do HCG.

As amostras sanguíneas foram coletadas entre às 8h00 e às 10h00 do sétimo dia de estimulação ovariana e processadas em até duas horas após a coleta. O volume de sangue coletado foi dividido em duas alíquotas, sendo a primeira utilizada para as dosagens de FSH e estradiol, e a segunda congelada e estocada a  $-20^{\circ}$  C para dosagem posterior de AMH.

Todas as dosagens hormonais foram realizadas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. As dosagens séricas de FSH e estradiol foram obtidas pelo método da

imunoquimioluminescência através de conjuntos específicos (Immulite, DPC Med Lab, Los Angeles, USA), sendo suas concentrações expressas em unidades internacionais por litro (UI/L) para o FSH e picogramas por mL (pg/mL) para o estradiol. A sensibilidade do método para a detecção de FSH e estradiol foram 0,3 UI/L e 10 pg/mL, respectivamente.

As dosagens séricas de AMH foram obtidas pelo método de ELISA, utilizando-se o kit comercial específico \*HZ\* AMH EIA KIT RUO (Beckman-Coulter), sendo seus valores expressos em picomoles por litro (pmol/L), utilizando-se o AMH humano recombinante como padrão. O limite de detecção do AMH utilizando este protocolo ultrasensível foi de 0,7 pmol/L.

Os grupos boas respondedoras e más respondedoras foram comparados para idade, índice de massa corpórea, dosagens basais de FSH e estradiol, performance durante os ciclos de estimulação e níveis de AMH, estradiol e FSH no sétimo dia de estimulação ovariana. Todas as variáveis numéricas foram analisadas para normalidade (teste KS), sendo utilizados testes t para comparação entre variáveis de distribuição paramétrica e teste de Mann-Whitney para comparar variáveis de distribuição não paramétrica. Para a correlação entre os níveis de AMH do sétimo dia e as demais variáveis foram utilizados os

coeficientes de Pearson (distribuições paramétricas) ou Spearman (distribuições não paramétricas). Em todos os testes estatísticos foram consideradas significativas as diferenças para  $p < 0,05$ .

## Resultados

Das 19 pacientes incluídas, 11 foram classificadas como normo respondedoras e oito como más respondedoras, não sendo significativas as diferenças para a idade ( $36,6 \pm 1,7$  e  $36,4 \pm 1,2$  anos respectivamente, com  $p=0,8$ ) e índice de massa corpórea ( $24 \pm 4,3$  kg/m<sup>2</sup> e  $24,9 \pm 2,7$  kg/m<sup>2</sup>, respectivamente, com  $p=0,6$ ). Também foi verificada equivalência entre os grupos para o volume ovariano direito ( $p=0,2$ ) e esquerdo ( $p=0,1$ ), e para os níveis de estradiol ( $p=0,6$ ) e FSH ( $p=0,2$ ) no início do ciclo de estimulação ovariana controlada. Estes dados estão representados na Tabela 1.

A comparação entre os grupos no sétimo dia de estimulação ovariana não demonstrou diferenças significativas para os níveis séricos de AMH ( $5,7 \pm 3,0$  pmol/L para as normo respondedoras e  $5,2 \pm 5,3$  pmol/L para as más respondedoras, com  $p=0,7$ ), estradiol ( $408,2 \pm 434,8$  pg/mL para as normo respondedoras e  $492,5 \pm 407,7$  pg/mL para as más respondedoras, com  $p=0,6$ ) e FSH ( $22,8 \pm 9,2$  UI/L para as normo respondedoras e  $25,6 \pm 8,8$  UI/L para as más respondedoras, com  $p=0,5$ ). Quanto aos demais parâmetros de performance dos ciclos de estimulação, não houve diferenças significativas entre os grupos em relação à quantidade total de FSH exógeno utilizado ( $p=0,3$ ), duração do período de estimulação ovariana ( $p=0,3$ ), total de folículos no dia de administração de hCG ( $p=0,5$ ), número de folículos intermediários no dia de administração de hCG ( $p=0,4$ ), número de embriões produzidos ( $p=3$ ) e transferidos ( $p=0,1$ ). Estes resultados estão representados na Tabela 2.

Houve correlação significativa entre os níveis de AMH do sétimo dia e a quantidade total de FSH exógeno

**Tabela 1.** Comparações entre os grupos do estudo para as características clínicas, volume dos ovários e dosagens hormonais no início do ciclo de estimulação ovariana controlada (basal)

	Normo respondedoras*	Más respondedoras*	Valor p
Idade	36,6±1,7 anos	36,4±1,2 anos	0,8 **
IMC	24±4,3 kg/m <sup>2</sup>	24,9±2,7 kg/m <sup>2</sup>	0,6 **
Volume do ovário D	4,6±2,6 cm <sup>3</sup>	7,1±5,2 cm <sup>3</sup>	0,2 ***
Volume do ovário E	4,0±1,9 cm <sup>3</sup>	5,5±2,5 cm <sup>3</sup>	0,1 ***
Estradiol	33,6±10,4 pg/mL	36,1±14,1 pg/mL	0,6 ***
FSH	2,5±1,1 UI/L	3,7±2,7 UI/L	0,2 **

(\* ) Valores representados em média±desvio padrão. (\*\* ) Teste t de student.  
(\*\*\*) Teste de Mann-Whitney.

**Tabela 2.** Comparações entre os grupos para as dosagens hormonais no sétimo dia e performance durante o ciclo de estimulação ovariana controlada

	Normo respondedoras*	Más respondedoras*	Valor p**
Estradiol	408,2±434,8 pg/mL	492,5±407,7 pg/mL	0,6
FSH	22,8±9,2 UI/L	25,6±8,8 UI/L	0,5
AMH	5,7±3,0 pmol/L	5,2±5,3 pmol/L	0,7
Utilização de FSH exógeno	1.981±289 unidades	2.279±726 unidades	0,3
Duração do período de estimulação ovariana	9,4±0,9 dias	8,4±2,4 dias	0,3
Total de folículos no dia de administração de hCG	6,7±2,7	7,3±3,5	0,5
Folículos intermediários no dia de administração de hCG	2,4±1,4	3,7±3,9	0,4
Embriões produzidos	2,4±1,7	1,1±1,6	0,3
Embriões transferidos	2,0±0,76	1,3±0,76	0,1

(\* )Valores representados em média±desvio padrão. (\*\* )Teste de Mann-Whitney.



utilizada ( $r=-0,5$ ,  $p=0,02$ ) e com a proporção entre o número de folículos maduros e o total de folículos no dia da administração do hCG ( $r=-0,5$ ,  $p=0,04$ ) pelo teste de Spearman, não havendo correlações significativas com os demais parâmetros de performance dos ciclos.

## Discussão

No decorrer da última década foi estabelecida a relação entre os níveis séricos de AMH e o padrão de resposta à estimulação ovariana controlada em ciclos de reprodução assistida. A partir dos achados de Seifer et al.<sup>12</sup>, que verificaram que níveis séricos elevados de AMH no terceiro dia da estimulação estavam associados à maior quantidade de oócitos captados, diversos estudos prospectivos e retrospectivos demonstraram elevado valor prognóstico deste marcador para a má resposta ovariana, cancelamento de ciclos e hiper-resposta à estimulação ovariana controlada<sup>6,14,16-20</sup>.

A literatura disponível tem sugerido que o AMH no terceiro dia de estimulação seja superior a outros marcadores, como a idade e os níveis de FSH, estradiol e inibina B na predição da resposta ovariana. Além disso, o AMH e a contagem de folículos antrais (AFC) apresentam valores preditivos semelhantes para a má resposta<sup>21,22</sup>.

Uma meta-análise comparou os valores dos níveis séricos de AMH com a performance da AFC como testes preditores de baixa resposta ovariana e ocorrência de gravidez após FIV. Foram incluídos 23 estudos que avaliaram o AMH e 17 estudos que avaliaram a AFC. A análise pela curva ROC não mostrou diferença significativa para os valores preditivos de AMH ou AFC e, portanto, considera-se que o AMH e a AFC ofereçam níveis equivalentes de acurácia e aplicabilidade clínica para a predição de má resposta à estimulação<sup>21</sup>. Por outro lado, para a predição negativa de gestação ambos os marcadores mostraram-se de baixa performance, e um recente estudo demonstrou que o AMH sérico apresenta maior valor preditivo para a quantidade do que para a qualidade dos oócitos, não havendo diferenças significativas para as taxas de gravidez entre pacientes com altas e baixas concentrações de AMH basal<sup>6</sup>.

Atualmente, a avaliação da reserva ovariana para reprodução assistida corresponde à indicação melhor estabelecida para dosagens séricas de AMH, sendo incluída no protocolo de muitas clínicas em que este exame é rotineiramente realizado antes do início da estimulação ovariana<sup>23</sup>. Mulheres com níveis elevados de AMH são mais propensas à resposta excessiva, devendo-se proceder à readequação das doses de gonadotrofinas administradas para prevenir a Síndrome da Hiperestimulação Ovariana (SHO). Por outro lado, mulheres com níveis reduzidos de AMH são propensas à má resposta à estimulação e,

consequentemente, a piores resultados na FIV, podendo ser apropriadamente aconselhadas, oferecendo-se alternativas de tratamento, como a doação de oócitos<sup>23</sup>.

O custo e a efetividade do uso rotineiro de AMH nos protocolos de FIV foram recentemente avaliados, sugerindo uma economia substancial<sup>24</sup>. Parte dessa economia se atribui à identificação de mulheres propensas à SHO, que podem ser induzidas com doses mais brandas de gonadotrofinas exógenas, com redução significativa nos custos da internação e tratamento hospitalar. Outro aspecto relevante dessa análise propõe a exclusão de mulheres com níveis extremamente baixos de AMH dos programas de FIV, reconhecendo que essas pacientes apresentam chances quase nulas de sucesso, e aquelas com níveis indetectáveis de AMH, que não apresentam nenhuma chance de gravidez com seus próprios oócitos<sup>24</sup>.

De acordo com os resultados deste estudo, concluímos que os níveis de AMH obtidos no sétimo dia do ciclo de estimulação ovariana não apresentam acurácia satisfatória para predição da resposta ovariana. Portanto, não são justificáveis as dosagens do mesmo nesta ocasião para esta finalidade, tampouco para o reajuste de doses de gonadotrofinas exógenas.

A diferença para as médias dos níveis de AMH no sétimo dia de estimulação ovariana controlada entre os grupos de pacientes que apresentaram boa e má resposta à estimulação ovariana controlada foi de 0,5 pmol/L para uma variabilidade estimada pelo desvio padrão de três nas normo respondedoras e cinco nas más respondedoras. A partir desses valores, para a verificação de uma diferença significativa entre os grupos ( $p<0,05$ ) com poder do teste acima de 80%, precisaríamos de um mínimo de 1.165 pacientes para cada grupo. Apesar da inclusão de apenas 19 pacientes neste estudo, consideramos que os resultados foram suficientemente conclusivos a favor da não utilização das dosagens séricas AMH obtidas no sétimo dia de estimulação ovariana na predição da qualidade da resposta ou no prognóstico reprodutivo por meio da fertilização assistida. Os dados aqui obtidos, embora não nos assegurem por completo, não sugerem que resultados diferentes seriam obtidos com amostras maiores.

Poucos estudos avaliaram os efeitos da estimulação ovariana controlada sobre a secreção de AMH pelo ovário. Diferentemente dos ciclos menstruais normais, em que as concentrações séricas de AMH não apresentam mudanças significativas, verificou-se uma redução gradual de seus níveis em ciclos artificiais. Realizou-se dessensibilização hipofisária com agonistas<sup>8,13</sup> e antagonistas de GnRH<sup>25</sup>. É possível que essa redução reflita as mudanças na distribuição folicular em resposta à estimulação com FSH, que incluem a redução do número de pequenos folículos antrais e o aumento do número de folículos maiores<sup>8</sup>.

Adicionalmente, considera-se que o FSH e o estradiol promoveriam supressão da secreção de AMH<sup>26</sup>, o que poderia justificar a queda nas suas concentrações ao longo da estimulação ovariana controlada<sup>6</sup>.

Dessa forma, é plausível a ideia de que os níveis séricos do AMH no sétimo dia de estimulação possam ser resultantes da interação de uma pluralidade de fatores, apresentando uma relação menos específica com a reserva folicular e com o padrão de resposta à estimulação ovariana em relação às suas dosagens basais.

Neste contexto, nossos achados são discordantes em relação a alguns estudos que propõem a utilização do AMH em qualquer fase do ciclo na predição da resposta ovariana<sup>27</sup>, e corroboram outros<sup>28,29</sup>, não demonstrando correlação significativa entre níveis de AMH no sétimo dia do ciclo de estimulação e a predição da resposta à estimulação ovariana exógena. Foi verificada correlação estatisticamente significativa dos níveis de AMH do sétimo dia com a quantidade total de FSH exógeno utilizada e com a proporção entre o número de folículos maduros e o total de folículos no dia da administração do hCG pelo teste de Spearman. Entretanto, estes achados precisam ser confirmados por estudos com maior número de pacientes,

sendo ainda insuficientes para a indicação formal da utilização desse marcador na predição desses desfechos.

Sumariamente, embora os resultados deste estudo não sejam definitivos, considerando-se o número limitado de pacientes incluídas, apresentam plausibilidade biológica e corroboram outros achados que, em conjunto, não recomendam a utilização das dosagens séricas do AMH do sétimo dia de estimulação ovariana na predição da qualidade de resposta.

As dosagens basais de AMH, por outro lado, justificam-se, considerando-se os inúmeros achados da literatura respaldando sua utilização na predição da resposta ovariana ao estímulo com gonadotrofinas exógenas.

De acordo com estes resultados, concluímos que os níveis séricos de hormônio anti-Mülleriano obtidos no sétimo dia do ciclo de estimulação ovariana não parecem prever o padrão de resposta ovariana, não sendo recomendadas as suas dosagens para esta finalidade.

## Agradecimentos

Projeto Financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

## Referências

1. Taieb J, Grynberg M, Pierre A, Arouche N, Massart P, Belville C, et al. FSH and its second messenger cAMP stimulate the transcription of human anti-Müllerian hormone in cultured granulosa cells. *Mol Endocrinol*. 2011;25(4):645-55.
2. Visser JA, Olaso R, Verhoef-Post M, Kramer P, Themmen AP, Ingraham HA. The serine/threonine transmembrane receptor ALK2 mediates Müllerian inhibiting substance signaling. *Mol Endocrinol*. 2001;15(6):936-45.
3. Hagen CP, Aksglaede L, Sorensen K, Mouritsen A, Juul A. Clinical use of anti-Müllerian hormone (AMH) determinations in patients with disorders of sex development: importance of sex- and age-specific reference ranges. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2011;9 Suppl 1:525-8.
4. Younis JS. Ovarian aging: latest thoughts on assessment and management. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2011;23(6):427-34.
5. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(2):77-83.
6. Anckaert E, Smitz J, Schiettecatte J, Klein BM, Arce JC. The value of anti-Müllerian hormone measurement in the long GnRH agonist protocol: association with ovarian response and gonadotrophin-dose adjustments. *Hum Reprod*. 2012;27(6):1829-39.
7. Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen AP, Hovatta O. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Hum Reprod*. 2006;21(9):2223-7.
8. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*. 2003;18(2):328-32.
9. La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3103-7.
10. Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod*. 2005;20(4):923-7.
11. van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CW, Eijkemans MJ, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod*. 2010;25(1):221-7.
12. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2002;77(3):468-71.
13. La Marca A, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, et al. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Hum Reprod*. 2004;19(12):2738-41.
14. Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod*. 2009;24(4):867-75.

15. Peñarrubia J, Fábregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod.* 2005;20(4):915-22.
16. Elgindy EA, El-Haieg DO, El-Sebaey A. Anti-Müllerian hormone: correlation of early follicular, ovulatory and midluteal levels with ovarian response and cycle outcome in intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil Steril.* 2008;89(6):1670-6.
17. Wunder DM, Guibourdenche J, Birkhäuser MH, Bersinger NA. Anti-Müllerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2008;90(6):2203-10.
18. Nelson SM, Yates RW, Fleming R. Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles-implications for individualization of therapy. *Hum Reprod.* 2007;22(9):2414-21.
19. Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. Relevance of anti-Müllerian hormone measurement in a routine IVF program. *Hum Reprod.* 2008;23(6):1359-65.
20. Nardo LG, Yates AP, Roberts SA, Pemberton P, Laing I. The relationships between AMH, androgens, insulin resistance and basal ovarian follicular status in non-obese subfertile women with and without polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2009;24(11):2917-23.
21. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril.* 2009;91(3):705-14.
22. Broer SL, Dölleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJ. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2011;17(1):46-54.
23. Anderson RA, Nelson SM, Wallace WH. Measuring anti-Müllerian hormone for the assessment of ovarian reserve: when and for whom is it indicated? *Maturitas.* 2012;71(1):28-33.
24. Yates AP, Rustamov O, Roberts SA, Lim HY, Pemberton PW, Smith A, et al. Anti-Müllerian hormone-tailored stimulation protocols improve outcomes whilst reducing adverse effects and costs of IVF. *Hum Reprod.* 2011;26(9):2353-62.
25. Lee JR, Kim SH, Kim SM, Jee BC, Ku SY, Suh CS, et al. Anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation and optimal timing of measurement for outcome prediction. *Hum Reprod.* 2010;25(10):2597-604.
26. Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, et al. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(1):240-5.
27. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, et al. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2007;22(3):766-71.
28. Smeenk JM, Sweep FC, Zielhuis GA, Kremer JA, Thomas CM, Braat DD. Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2007;87(1):223-6.
29. Lie Fong S, Baart EB, Martini E, Schipper I, Visser JA, Themmen AP, et al. Anti-Müllerian hormone: a marker for oocyte quantity, oocyte quality and embryo quality? *Reprod Biomed Online.* 2008;16(5):664-70.