

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS



AVALIAÇÃO DA RESERVA OVARIANA ATRAVÉS DO HORMÔNIO ANTI-MÜLLERIANO EM PACIENTES SUBMETIDAS À LIGADURA TUBÁRIA

ANA LUIZA BERWANGER DA SILVA

Porto Alegre, maio de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

AVALIAÇÃO DA RESERVA OVARIANA ATRAVÉS DO HORMÔNIO ANTI-MÜLLERIANO EM PACIENTES SUBMETIDAS À LIGADURA TUBÁRIA

ANA LUIZA BERWANGER DA SILVA

Orientador: Prof^a. Dr^a. Helena von Eye Corleta

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, maio de 2011



Fra Angelico, Anunciação (1435-40)
San Marco, Florença

«D'un côté, la maison, le jardin, tout proches, présents dans la joie de l'Annonce. De l'autre, paysage et ancêtres dans le passé de la faute. Autre temps, autres espaces, la barrière du jardin sépare le temps de la création du monde du temps de sa re-création.»

Anne Cauquelin, *Petit Traité du Jardin Ordinaire*
Éditions Payot & Rivages, 2003

Para José Carlos Pinto Berwanger,

meu avô,

*o maior exemplo de que curiosidade
científica, persistência e otimismo traduzem
a fórmula de uma vida longa, plena e feliz.*

AGRADECIMENTOS

À Dra. HELENA VON EYE CORLETA, que sempre será o primeiro exemplo e a primeira e principal incentivadora da minha formação profissional, agradeço o apoio irrestrito que me proporcionou sempre que precisei definir e perseguir objetivos para o desenho de meu caminho até aqui.

Às colegas ISABELA PIVA FUHRMEISTER, ÂNGELA MARCON D'AVILA, ANA PAULA SANTIN, CATHERINE PRIMO NOGUEIRA DE SÁ e, em especial, ANITA MYLIUS PIMENTEL, pela imensa colaboração, pelo esforço e pelo auxílio, mas, acima de tudo, pela amizade.

Meu agradecimento especial às colegas CAMILA DA RÉ e CRISTINE DIETRICH, sem as quais esta pesquisa não teria sido possível, pela incomensurável ajuda e enorme disposição no recrutamento e seguimento das pacientes.

Aos colegas do Hospital Antoine-Béclère, Clamart, França, particularmente Dr. MICHAEL GRYNBERG e, em especial, Prof. Dr. RENATO FANCHIN, pelo grande estímulo à pesquisa, bem como pela oportunidade de acompanhar e valorizar a arte de escrever artigos científicos.

Ao Prof. Dr. RENÉ FRYDMAN, figura exponencial da medicina francesa, o qual tive a imensa oportunidade de acompanhar durante quase dois anos, cujo exemplo de médico, professor, figura ética e humana vai além de parágrafos escritos em livros, frases lidas em um artigo científico e palavras proferidas em conferências.

Ao Hospital Moinhos de Vento, por oportunizar e priorizar a formação contínua, científica e humana, de seus médicos e funcionários.

A todos os colegas do Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia Molecular (LAGOM) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo auxílio em todas as etapas deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo estímulo à pesquisa científica oportunizada aos alunos desde a graduação.

Finalmente, à família: aos meus AVÓS, pelo carinho, acompanhamento e incentivo a todas as minhas tentativas de alcançar mais um objetivo de vida, desde os primeiros passos; à minha mãe, MARIA LUIZA BERWANGER DA SILVA, amiga, companheira, exemplo de força, persistência, mulher, pesquisadora, profissional e que nunca mede esforços para me mostrar que, na vida, a poesia sempre chegará, apesar de soluços e graças a abraços; ao meu pai, NILTON BRANDÃO DA SILVA, amigo, professor, mestre, meu maior exemplo de postura profissional, ética e humana; minha admiração por tudo que a sua figura representa é proporcional às nossas incontestáveis semelhanças. E, em especial, ao meu irmão, OTÁVIO BERWANGER DA SILVA, não somente pela ajuda na revisão deste trabalho e pelo inspirador modelo de pesquisador, mas principalmente por ter estado sempre ao meu lado de diferentes formas, em diferentes momentos, independentemente das dificuldades ou distâncias, que nunca me impedirão de seguir seus passos e de estar, igualmente, ao seu lado.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SIGLAS	4
RESUMO.....	5
1. REVISÃO DA LITERATURA.....	7
1.1. Ligadura tubária e a Síndrome pós-ligadura tubária	7
1.2. Hormônio Anti-Mülleriano	11
<i>1.2.1. HAM: sinalização, regulação e implicações na foliculogênese.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.2. HAM: marcador quantitativo do status folicular ovariano</i>	<i>17</i>
2. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA	29
3. OBJETIVOS.....	30
3.1. Objetivo Geral.....	30
3.2. Objetivos Secundários.....	30
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
5. ARTIGO.....	47
6. CONCLUSÕES	86
APÊNDICE 1 – Questionário pré-cirúrgico.....	88
APÊNDICE 2 – Questionário pós-cirúrgico	89
APÊNDICE 3 – Ficha de ultrassonografia.....	90

ABREVIATURAS E SIGLAS

CFA = contagem de folículos antrais

E₂ = estradiol

FSH = hormônio folículo-estimulante

HAM = hormônio Anti-Mülleriano

IMC = índice de massa corporal

LH = hormônio luteinizante

LT = ligadura tubária

SOP = síndrome dos ovários policísticos

SPLT = síndrome pós-ligadura tubária

RESUMO

Introdução: A ligadura tubária (LT) representa, atualmente, um dos métodos contraceptivos mais utilizados no Brasil e no mundo. Uma parcela não negligenciável das pacientes submetidas a essa cirurgia, entretanto, queixam-se de sintomas surgidos após a sua realização, principalmente relacionados a mudanças no ciclo menstrual. Estas alterações podem estar relacionadas a alterações na reserva ovariana, cuja avaliação objetiva e eficaz constituía, até alguns anos atrás, tarefa difícil, devido à falta de testes confiáveis. Este estudo avalia a utilização do hormônio Anti-Mülleriano (HAM), como marcador da reserva ovariana nas pacientes com LT.

Objetivos: Avaliar se existe associação independente entre LT e diminuição de reserva ovariana, antes e um ano após a cirurgia, através da dosagem do HAM e, secundariamente, da contagem de folículos antrais (CFA) à ultrassonografia transvaginal.

Métodos: Foi realizada uma coorte prospectiva de 80 pacientes férteis consecutivas submetidas à LT entre maio de 2008 e fevereiro de 2009, as quais foram submetidas a coleta de sangue, para dosagem de HAM, e a uma ultrassonografia transvaginal, para a CFA, antes (exames basais) e um ano após a cirurgia. Para a comparação desses resultados, foi utilizado o teste T de Student. Possíveis fatores de confusão (uso de contraceptivos hormonais, tabagismo, técnica cirúrgica, idade e índice de massa corporal) foram avaliados através de regressão linear simples e múltipla.

Resultados: Não houve alteração significativa nos valores de HAM (média = 1,79ng/ml \pm 1,61 e 2,05ng/ml \pm 2,16 antes e após LT, respectivamente) e da CFA (média = 9,7 \pm 5,9

e $11,1 \pm 5,8$ antes e após LT, respectivamente) um ano após a LT. As análises, tanto uni, quanto multivariada, dos possíveis fatores de confusão demonstrou associação significativa entre a variação de HAM e o uso de contraceptivos hormonais, sendo que houve aumento desse hormônio em pacientes que usavam tal método antes da LT.

Conclusões: Os resultados desta coorte de 12 meses sugerem que a LT não está associada com alterações significativas da reserva ovariana. O uso de contraceptivos hormonais poderia provocar discreta diminuição do HAM, o qual demonstrou aumento após sua suspensão, entretanto tal conclusão deve ser interpretada com restrições, e estudos de seguimento mais longo devem ser considerados.

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Ligadura tubária e a Síndrome pós-ligadura tubária

A LT é um método contraceptivo largamente usado no mundo, devido à sua eficácia e irreversibilidade (1-4), sendo um dos mais utilizados no Brasil. A taxa de prevalência nacional de uso dessa técnica, em mulheres entre 20 e 50 anos, é de 25 a 30% (5). Constitui um dos métodos com menor variação eficácia-efetividade, pois sua ação contraceptiva independe da usuária. As taxas de falha descritas na literatura oscilam entre 0,4 a 0,02 gestações em 100 mulheres/ano submetidas ao procedimento (6). Avanços nas técnicas cirúrgicas utilizadas tornaram o procedimento seguro e de rápida realização. Considerando-se então a alta prevalência de uso da LT, torna-se evidente que qualquer efeito adverso associado a essa técnica pode produzir um grande impacto sobre a população (1, 7).

Sabe-se que a LT provoca efeitos pós-operatórios variados, muitas vezes indesejados (2, 3), sendo as alterações do ciclo menstrual os mais freqüentemente observados. O conjunto desses sintomas se denomina “Síndrome pós-Ligadura Tubária”, caracterizada por irregularidade ou alteração do padrão menstrual, sangramento de escape (*spotting*), dismenorréia, exacerbação de sintomas pré-menstruais, dor pélvica, dispareunia, mudanças na vida sexual, alterações hormonais e menopausa prematura (3, 7-11). Essa variedade de sintomas, muitas vezes subjetivos, torna esse quadro clínico difícil de ser caracterizado ou confirmado. Algumas mulheres podem referir apenas sangramento irregular ou mais intenso (queixa que pode variar dependendo do entendimento da paciente), enquanto outras relatam mudança da

vida sexual, da saúde emocional, ou exacerbação de sintomas pré-menstruais. A repercussão de tais alterações pode ser relacionada ao número de pacientes que procuram o seu ginecologista, após se submeterem à LT, solicitando histerectomia (9). Outro dado relevante é a evidência de infertilidade persistente em casos de reanastomose tubária realizados com sucesso, sugerindo possível deficiência de função ovariana, semelhante ao que se observa em mulheres submetidas a histerectomia (esteroidogênese alterada) (2). Acredita-se que esse fenômeno ocorra devido aos danos ocorridos, durante a cirurgia, aos vasos sanguíneos da mesossalpinge, que são ligados ou contorcidos, o que levaria a alterações na irrigação dos ovários e provável modificação nas concentrações hormonais dos mesmos (12, 13).

A síndrome foi descrita pela primeira vez em 1951, por Williams *et al.* (14). Os autores acompanharam 200 mulheres que se haviam submetido à LT por um período de 10 anos e concluíram que 24% delas apresentavam irregularidade menstrual a longo prazo. Da mesma forma, outros autores também descreveram alterações significativas no ciclo menstrual, em um estudo multicêntrico que envolveu 5070 mulheres acompanhadas pelo período de 5 anos (15). Apesar disso, atualmente, não existe consenso sobre a real existência desse quadro clínico.

Várias hipóteses já foram sugeridas na tentativa de explicar a ocorrência da SPLT. Dentre elas, a mais aceita atribui os sintomas a alterações na vascularização ovariana causadas pela cirurgia, devido à destruição de porções da mesossalpinge, levando a danos no tecido ou na irrigação dos ovários (3, 7, 10, 11) semelhante ao que foi descrito após histerectomia. Além disso, a drenagem venosa também poderia ser

prejudicada, já que os plexos venosos estão localizados próximos às respectivas artérias (1). Teoricamente, esse dano vascular reduziria a sinalização dos ovários à liberação de gonadotrofinas, com conseqüentes anormalidades no crescimento folicular e na função do corpo lúteo. Assim, os hormônios ovarianos seriam afetados, já que sua produção está intimamente relacionada à irrigação sangüínea, e várias alterações menstruais poderiam surgir (2, 3, 7, 9-11), inclusive falência ovariana prematura, através da diminuição do *pool* folicular total (1, 7).

Outros autores sugeriram, como possível causa, a ocorrência de hipertensão ovariana devido à oclusão ou interrupção do fluxo sangüíneo, o que causaria uma insuficiência da micro-circulação, seguida de necrose tecidual (2). Apesar de parecerem lógicas, não há atualmente evidências objetivas das alterações vasculares, nem da redução dos níveis de E₂ e progesterona após LT (3, 10).

Há, ainda, a idéia de que a SPLT poderia se originar de torção ovariana, alterações na inervação das tubas uterinas ou varicosidades útero-ovarianas, resultando, também, em mudanças hormonais, alterações histológicas do endométrio e aumento do sangramento menstrual. Nenhuma dessas hipóteses, entretanto, obteve suporte científico (4). As eventuais alterações menstruais ou dolorosas que venham a ocorrer após a ligadura podem ser devidas simplesmente à suspensão do método previamente utilizado (Dispositivo Intra-Uterino com progestágeno ou anticoncepcional hormonal combinado oral) que, de alguma forma, regularizava os ciclos da paciente ou controlava seu fluxo menstrual.

Em relação às mudanças hormonais, inúmeros estudos já tentaram provar, através de exames laboratoriais, a ocorrência de alterações que justifiquem a sintomatologia apresentada por essas pacientes. Alguns autores demonstraram níveis baixos de progesterona na fase lútea, assim como já se descreveu diminuição da concentração sérica de E₂ pré-ovulatório (8). Esses resultados não puderam ser reproduzidos por outros trabalhos científicos (1, 7, 16, 17).

Sugere-se também que o tipo de técnica cirúrgica empregada poderia ter efeito no surgimento da síndrome. Desde a primeira LT realizada, já se descreveram mais de duzentas técnicas diferentes para a sua prática. Assim, as menos traumáticas teoricamente produziriam sintomas mais leves, enquanto outras poderiam determinar complicações maiores a longo prazo (8, 10), sugerindo, por exemplo, que a frequência de SPLT poderia ser dependente da via cirúrgica de realização (laparoscópica ou laparotômica).

A razão para a falta de entendimento sobre a real existência da síndrome, bem como de sua etiologia, provavelmente se deve à dificuldade de se avaliar, de forma objetiva e confiável, a função ovariana após a LT (1). Muitos exames já foram propostos e testados nesse sentido, dentre eles as dosagens séricas de FSH, LH, E₂ e inibina B na primeira fase do ciclo menstrual. Esse último hormônio foi utilizado como preditor precoce de diminuição da reserva ovariana, a qual seria seguida de elevação do FSH (7), porém seus resultados não mostram alterações importantes a curto prazo, o que diminui a confiabilidade nesse marcador. A ultrassonografia pélvica transvaginal é igualmente empregada, há muitos anos, para a determinação do volume ovariano, da vascularização e principalmente da CFA. Com exceção da CFA, os outros parâmetros

avaliados não foram capazes de demonstrar a etiologia da síndrome, assim como não são considerados marcadores suficientemente confiáveis de reserva ovariana (18).

1.2. Hormônio Anti-Mülleriano

Na atualidade, a dosagem do hormônio Anti-Mülleriano, também conhecido como Substância Inibitória Mülleriana, tem sido exaustivamente estudada como marcador endócrino promissor para prever não somente o status, como também o declínio da função ovariana. Esse hormônio, produzido pelas células de Sertoli (19), foi inicialmente estudado por seu papel regulador da diferenciação sexual masculina, induzindo a regressão dos ductos de Müller (20, 21). Após o nascimento, contudo, descobriu-se que o HAM também é expresso pelas células da granulosa de folículos ovarianos em crescimento (22).

Muitos estudos indicam que o HAM exerce, no ovário, um papel essencial na regulação da foliculogênese. Produzido na mulher exclusivamente pelas células da granulosa dos folículos ovarianos (23) em vários estágios de crescimento (24), o HAM se tornou rapidamente um marcador clínico incontestável do funcionamento ovariano (25-28). De fato, após o início do ano 2000, paralelamente à utilização da técnica ELISA (cuja sensibilidade permite detectar o HAM sérico na mulher), observou-se um crescimento exponencial do número de publicações científicas sobre esse hormônio (mais de duzentas), demonstrando o grande interesse por esse novo marcador. Nos últimos anos, o papel do HAM na regulação da foliculogênese feminina e suas aplicações clínicas permanecem como tema central de inúmeras pesquisas.

1.2.1. HAM: sinalização, regulação e implicações na foliculogênese

O HAM constitui uma glicoproteína homodimérica (29), cujo gene está localizado no cromossomo 19 (19p13.2-13.3). Trata-se de um fator de crescimento, membro da superfamília TGF- β (30, 31). Seu papel fisiológico principal nos mamíferos envolve a diferenciação sexual masculina. Produzido pelas células de Sertoli testiculares, ele induz a regressão dos canais de Müller (20, 21). Recentemente, foi demonstrado que, na mulher, o HAM é produzido exclusivamente pelas células da granulosa dos folículos ovarianos (23), processo que se inicia a partir da 36ª semana de vida intra-uterina (32, 33). Observa-se um aumento progressivo de sua expressão entre o nascimento e a puberdade, sendo que se torna indetectável no sangue periférico após a menopausa (32).

A sinalização do HAM passa, como é o caso de outros membros da superfamília TGF- β , pela ligação a dois tipos de receptores transmembrana serina/treonina quinase: o receptor do tipo I, cujo peso molecular é de 55-60 kDa, igualmente conhecido como *activin receptor-like kinase*, e o receptor do tipo II, cujo peso molecular é mais significativo que aquele do tipo I (31, 34).

A ligação entre o ligante e seu receptor do tipo II recruta e ativa as quinases do receptor do tipo I, os quais induzem a fosforilação de substâncias citoplasmáticas chamadas proteínas Smad. O HAM, como as *bone morphogenetic proteins*, utiliza um receptor do tipo I, ativando a via de sinalização Smad1 (35). A natureza exata do receptor do tipo I do HAM, contudo, não está completamente estabelecida (36).

Em homens, a regulação do HAM é efetuada em parte através das gonadotrofinas (37, 38). Na ausência do efeito inibidor dos androgênios, a produção de HAM nas células de Sertoli é estimulada pelo FSH (39-41), sugerindo que exista uma função dessa gonadotrofina na regulação do HAM testicular. O efeito estimulador do FSH sobre a produção de HAM testicular poderia ser atribuído tanto à proliferação das células de Sertoli, quanto ao aumento da expressão do HAM dentro dessas células (42). No ovário, o papel do FSH sobre a produção de HAM pelas células da granulosa ainda não está totalmente esclarecido (43, 44). Efetivamente, observou-se que as taxas de HAM, diferentemente das de inibina B e de estradiol, não se alteraram após a administração de 300 UI de FSH ou após o uso de citrato de clomifeno durante cinco dias (45). Paralelamente, mulheres cujas gonadotrofinas endógenas foram anteriormente inibidas pelo uso de contraceptivo hormonal oral não mostraram alteração das taxas periféricas de HAM, apesar do fato de que o número de grandes folículos antrais estivesse diminuído à ultrassonografia (46, 47).

Além de um possível efeito regulador das gonadotrofinas sobre a produção de HAM pelas células da granulosa, o oócito também poderia possuir um papel importante na regulação positiva desse hormônio (48), como é o caso de outras proteínas implicadas na regulação do processo da foliculogênese (49). Entretanto, muitas dúvidas persistem a respeito dos fatores intra e extra-ovarianos envolvidos na regulação da produção ovariana de HAM.

No ovário humano, o HAM provavelmente exerce um papel chave na regulação

da foliculogênese. Formulou-se a hipótese de que ele poderia influenciar na iniciação do crescimento folicular, já que uma depleção acelerada do estoque de folículos primordiais foi demonstrada em ratas deficientes em HAM (50). Esses animais “HAM-knockout” apresentaram um número de folículos pré-antrais e antrais significativamente maior que os ratos controle. Tais dados foram confirmados em estudo subsequente do mesmo grupo, onde os autores observaram diminuição de 40 a 50% no número de folículos em crescimento em ovários neonatais de ratas criadas em presença de HAM (51). Esses resultados, entretanto, permanecem discutíveis, pois não puderam ser reproduzidos por outros investigadores (52).

A análise dos principais estudos sobre o papel do HAM sugere uma ação parácrina inibitória desse hormônio sobre a iniciação do crescimento folicular, diminuindo a sensibilidade dos folículos primordiais ao FSH (53) (**Figura 1**). Essa hipótese surgiu da observação de ratas deficientes em HAM que possuem mais folículos em crescimento do que as ratas controle, a despeito de concentrações de FSH circulantes mais baixas (50), como descrito acima. Além disso, a cultura de folículos pré-antrais, em presença de HAM, inibe de maneira tempo-dependente a proliferação de células da granulosa induzida pelo FSH (54).

O HAM parece exercer ainda outros efeitos sobre o folículo, como a supressão da síntese da enzima aromatase (55-57) e da expressão dos receptores de LH sobre as células da granulosa (56). Esses dados traduzem a existência de uma ação inibitória do HAM sobre a diferenciação das células da granulosa induzida pelo FSH. Dessa forma, o HAM teria papel não somente no recrutamento folicular inicial (50), mas também no recrutamento cíclico, em relação aos folículos mais desenvolvidos (51). Apesar de

todos esses dados, a ação fisiológica do HAM na mulher ainda não está totalmente elucidada.

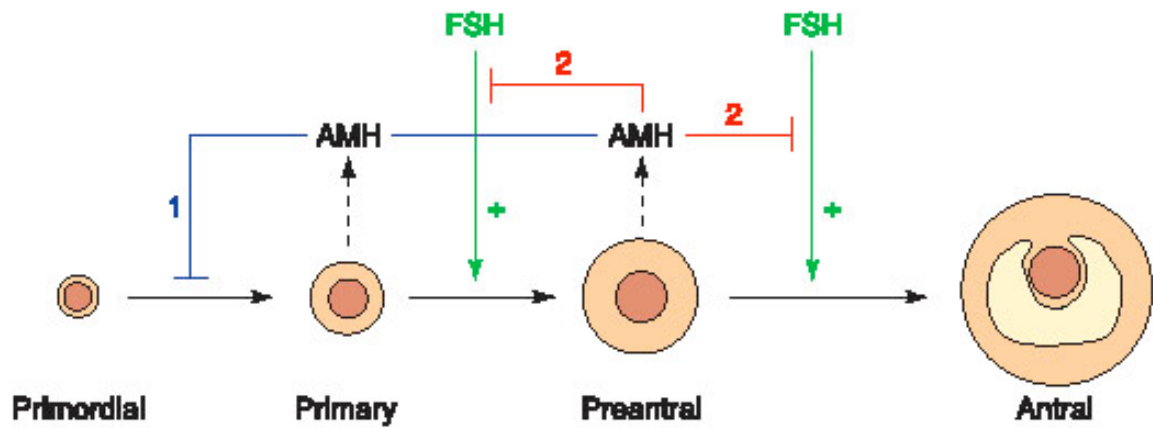


Figura 1. Possível papel inibidor do HAM sobre dois mecanismos-chave da foliculogênese: 1) recrutamento folicular inicial e 2) efeito estimulador do FSH sobre o crescimento dos folículos pré-antrais e selecionáveis. Adaptado de Durlinger *et al.* (53).

1.2.2. HAM: marcador quantitativo do status folicular ovariano

O envelhecimento ovariano constitui um processo longo e complexo, caracterizado por uma perda quantitativa e qualitativa dos folículos ovarianos (58). Entre a 3^a e a 4^a décadas de vida, a mulher tende a perder 3/4 de sua reserva folicular (59, 60), fenômeno determinante para o seu potencial de fertilidade (61, 62).

Com o objetivo de quantificar de maneira não invasiva a importância da perda folicular em cada mulher, certo número de marcadores hormonais foi proposto em complemento à CFA realizada através de ultrassonografia transvaginal (63-65), mas a confiabilidade desses testes ainda é sujeito de debate (66, 67). Esses parâmetros são essencialmente baseados na capacidade dos folículos antrais precoces, em resposta ao FSH, de produzir inibina B e E₂, e à ação moduladora desses dois hormônios sobre a secreção de FSH durante a fase de transição lúteo-folicular, ao longo do ciclo menstrual. Por definição, esses testes hormonais não levam em consideração os outros folículos pouco ou não sensíveis ao FSH e/ou que não atingiram o estágio antral, mas que contribuem à fisiologia do ciclo menstrual e ao potencial reprodutivo da mulher (61). Além disso, trata-se de testes suscetíveis a vieses causados por fatores de confusão relacionados ao status de crescimento folicular e à variabilidade de tamanho dos folículos antrais precoces ao longo da fase folicular precoce (6, 68).

Tais limites dos testes hormonais de rotina como marcadores do status folicular ovariano explicam, ao menos em parte, a variabilidade de seus resultados de um ciclo a outro (69-71), fenômeno que contrasta com a estabilidade a curto prazo da reserva folicular e do potencial de fertilidade feminino (61). A necessidade, na prática clínica,

de um marcador do status folicular ovariano que seja, ao mesmo tempo, de dosagem e reprodutibilidade fáceis, pouco variável e que apresente boa correlação com a reserva ovariana ainda se fazia presente até os últimos anos.

As primeiras demonstrações de interesse clínico do HAM como marcador do status folicular ovariano são relativamente recentes na prática ginecológica. De Vet *et al.* (25), em uma coorte de 41 pacientes normo-ovulantes, demonstraram uma diminuição significativa das concentrações de HAM entre duas consultas médicas realizadas com $2,6 \pm 1,7$ anos de intervalo, contrastando com a estabilidade dos outros marcadores hormonais analisados (FSH, E_2 , inibina B) (**Figura 2**). Esses resultados reforçam o papel do HAM como parâmetro de escolha para a avaliação do envelhecimento ovariano. Além disso, esses autores observaram que o número de folículos selecionáveis se mostra estreitamento associado às concentrações séricas de HAM. Fanchin *et al.* demonstraram que tal associação é significativamente mais intensa que aquela entre FSH, inibina B e E_2 e o número de folículos selecionáveis no 3º dia do ciclo (26).

Sabe-se que mulheres normo-ovulatórias demonstram concentrações decrescentes de HAM com o passar da idade, sendo essas mudanças detectadas mais precocemente que outras alterações hormonais, como o aumento do FSH e a baixa de inibina B, assim como a diminuição folicular demonstrável pela ultrassonografia transvaginal (22, 53, 72). Acredita-se que as alterações dos marcadores da função ovariana na mulher iniciariam com um declínio sérico do HAM, seguido pela diminuição de inibina B e, por último, o aumento de FSH (25, 73).

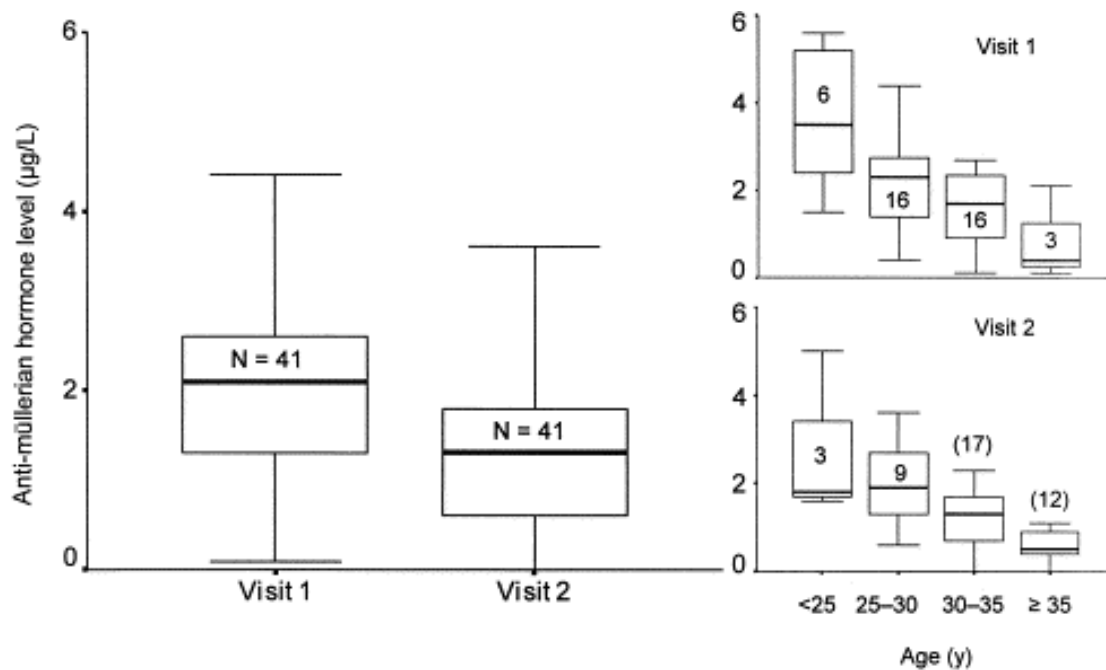


Figura 2. Evolução das concentrações de HAM medidas no 3^o dia do ciclo menstrual em um grupo de mulheres ao longo de duas consultas médicas efetuadas com intervalo médio de $2,6 \pm 1,7$ anos (gráfico à esquerda) e em função da idade das pacientes (gráficos à direita). Observa-se que o HAM constitui, contrariamente ao FSH, à inibina B, ao E₂ e ao número de folículos selecionáveis, o único marcador que varia significativamente ($p < 0,001$) com a idade. Adaptado de De Vet *et al.* (25).

O HAM possui características biológicas específicas que o distinguem dos testes hormonais clássicos utilizados até então como preditores da reserva ovariana. Esse hormônio é produzido pelas células da granulosa de uma grande quantidade de folículos, a partir do estágio primário (74, 75) até o estágio antral precoce (inferior a 8 mm) (24, 51, 76). Os folículos que se encontram em um estágio de crescimento além do estágio antral precoce perdem progressivamente a capacidade de expressar o HAM (76, 77), fato que limita o viés de medida provocado pelo desenvolvimento folicular precoce (78-80). Dessa forma, uma das principais vantagens do HAM como marcador da reserva ovariana, em relação aos outros testes originalmente utilizados, é a de que provavelmente consiste no único marcador potencialmente capaz de avaliar a população folicular como um todo, incluindo folículos ainda inativos, já que esse hormônio reflete a transição folicular do estado primordial a antral precoce (81).

Mesmo que os mecanismos implicados na regulação da produção do HAM ainda sejam relativamente pouco conhecidos, como visto anteriormente, tudo indica que tal regulação seja independente do FSH (53). Todas essas especificidades fisiológicas do HAM corroboram a hipótese de que sua medida sérica possa fornecer informações confiáveis sobre o estado de uma grande quantidade de folículos, sem a interferência da dinâmica das secreções hormonais dos folículos que se encontram na fase de transição lúteo-folicular. Nesse sentido, Fanchin *et al.* demonstraram que, no 3^o dia do ciclo menstrual, a correlação entre a medida sérica do HAM e a CFA é significativamente mais forte do que a correlação entre essa medida ultrassonográfica e a inibina B ou o FSH (26). Paralelamente, em pacientes portadoras de SOP, caracterizadas por um excesso de folículos em crescimento, essa forte correlação entre

o HAM sérico e a CFA exemplifica bem as altas taxas séricas desse hormônio encontradas (82). Observa-se ainda que, ao contrário do que ocorre com a inibina B e o FSH, o desenvolvimento folicular precoce não altera a relação do HAM com a CFA (68, 79).

A associação entre as concentrações sanguíneas do HAM e o funcionamento ovariano tem sido objeto de pesquisa nos últimos quinze anos. A primeira publicação nesse sentido data de 1997 (83). Esses autores demonstraram que, comparadas a pacientes submetidas a LT ou portadoras de endometriose, mulheres com diagnóstico de SOP apresentam concentrações séricas e intra-foliculares de HAM mais elevadas. Tais resultados foram confirmados por Cook *et al.* (84), comparando-se mulheres normo-ovulantes a pacientes portadoras de SOP. A associação entre concentrações elevadas de HAM e excesso folicular foi em seguida descrita por outras equipes (82, 85).

A evolução das concentrações sanguíneas de HAM ao longo do ciclo menstrual também tem sido objeto de pesquisa. Um estudo, realizado em 20 pacientes durante três períodos do ciclo menstrual (86) mostra que os valores de HAM sérico são mais elevados durante a fase peri-ovulatória em relação ao início da fase folicular ou à fase lútea (**Figura 3**). Tais resultados contradizem dados que mostram uma diminuição da expressão de HAM com a ocorrência da maturação folicular final (76, 87), porém esses autores concluíram que as pequenas flutuações séricas encontradas provavelmente não possuem relevância clínica. Outros pesquisadores acharam resultados semelhantes (88, 89), porém sugeriram que essas pequenas variações provavelmente não são clinicamente consideráveis. A ausência de variação significativa das

concentrações de HAM durante os primeiros dias da fase folicular (90) sugere que a expressão desse hormônio permanece estável durante tal fase do ciclo. O mesmo grupo demonstrou, em estudo subsequente, níveis estáveis de HAM medidos em dias alternados em 12 mulheres normo-ovulantes, de idade média de 23 ± 3 anos (91). Pode-se presumir, dessa forma, que a produção de HAM pelos folículos não dominantes mascare a diminuição de suas concentrações circulantes que deveria ser observada durante a fase final da foliculogênese. Fanchin *et al.* demonstraram que, na mulher, a capacidade folicular de produção do HAM diminui naqueles folículos que se encontram além do estado antral precoce, durante o período terminal da foliculogênese (77).

Em relação à fase lútea e à possível influência de processos de luteinização e de formação do corpo lúteo (76) sobre as concentrações séricas de HAM, além do trabalho de Cook *et al.* (86) descrito acima (**Figura 3**), outro estudo demonstrou uma leve diminuição dessas concentrações após a luteinização folicular, utilizando-se a estimulação ovariana como modelo de estudo (92).

Sowers *et al.* (93) descreveram resultados interessantes no que se refere ao comportamento do HAM ao longo do ciclo menstrual: o estudo demonstrou padrões de variação diferentes nos níveis de HAM, dependendo da “idade ovariana”, ou seja, em ovários “mais jovens” (níveis mais altos de HAM), as dosagens séricas desse hormônio demonstraram variação significativa entre os dias 2 e 7 do ciclo, enquanto que “ovários de idade mais avançada” exibiram níveis baixos de HAM, com pequena variação. Os autores salientaram que a idade cronológica não necessariamente reflete a idade ovariana, o que pode causar viés de interpretação quando pacientes de

diferentes idades são comparadas. Esses achados foram reproduzidos por outro grupo inglês (94), sugerindo que, em pacientes que apresentam baixos níveis de HAM, esse poderia ser dosado em qualquer dia do ciclo, já que seus valores tendem a apresentar resultados estáveis ao longo do ciclo menstrual; tal observação não foi encontrada em mulheres que apresentavam níveis mais altos de HAM, nas quais a fase do ciclo poderia alterar os resultados, influenciando na interpretação dos mesmos.

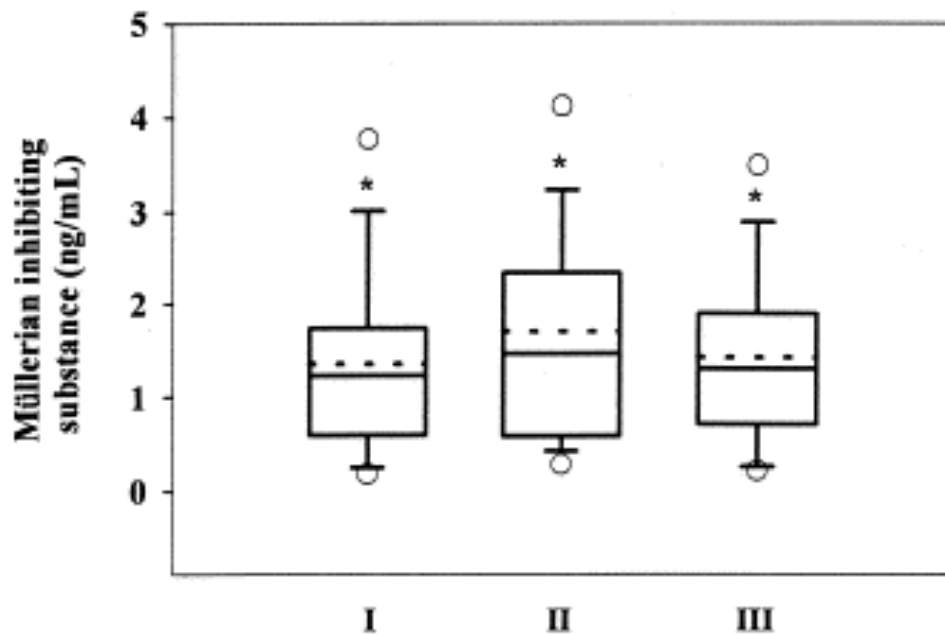


Figura 3. Concentrações circulantes de HAM no início da fase folicular (I), na fase pré-ovulatória (II) e na fase lútea (III) do ciclo menstrual em 20 mulheres voluntárias. Observa-se que as concentrações peri-ovulatórias são mais elevadas ($p < 0,008$) que nos outros dois períodos do ciclo (asteriscos e círculos abertos = valores extremos; linha cheia = medianas; linhas tracejadas = p75). Adaptado de Cook *et al.* (86).

Outra questão importante sobre o uso do HAM na prática clínica é seu comportamento em mulheres que usam métodos anticoncepcionais hormonais. Baseando-se no fato de que a ação desse hormônio parece ser independente de gonadotrofinas, pode-se pensar que seus níveis permanecem inalterados em pacientes usuárias de estrogênios e/ou progestágenos exógenos. Para esclarecer essa questão, Somunkiran *et al.* (46) conduziram um estudo em 30 pacientes portadoras de SOP e outras 15 normo-ovulantes. Os autores realizaram dosagens hormonais, incluindo HAM, antes e após o sexto ciclo de uso de pílula anticoncepcional hormonal combinada e observaram que os níveis desse hormônio não se alteraram em nenhum dos grupos. Essa informação é ratificada pelo fato de que o HAM é secretado por folículos que praticamente não possuem sensibilidade a FSH, como os folículos pré-antrais. Já os outros marcadores estudados (FSH, LH e CFA) demonstraram variações significativas, como esperado (**Figura 4**). Tais autores inclusive sugerem o uso de HAM sérico como ferramenta diagnóstica para SOP, em pacientes em uso de anticoncepção hormonal, já que todos os outros parâmetros utilizados para o diagnóstico dessa síndrome encontram-se invariavelmente alterados em vigência desse tratamento (46).

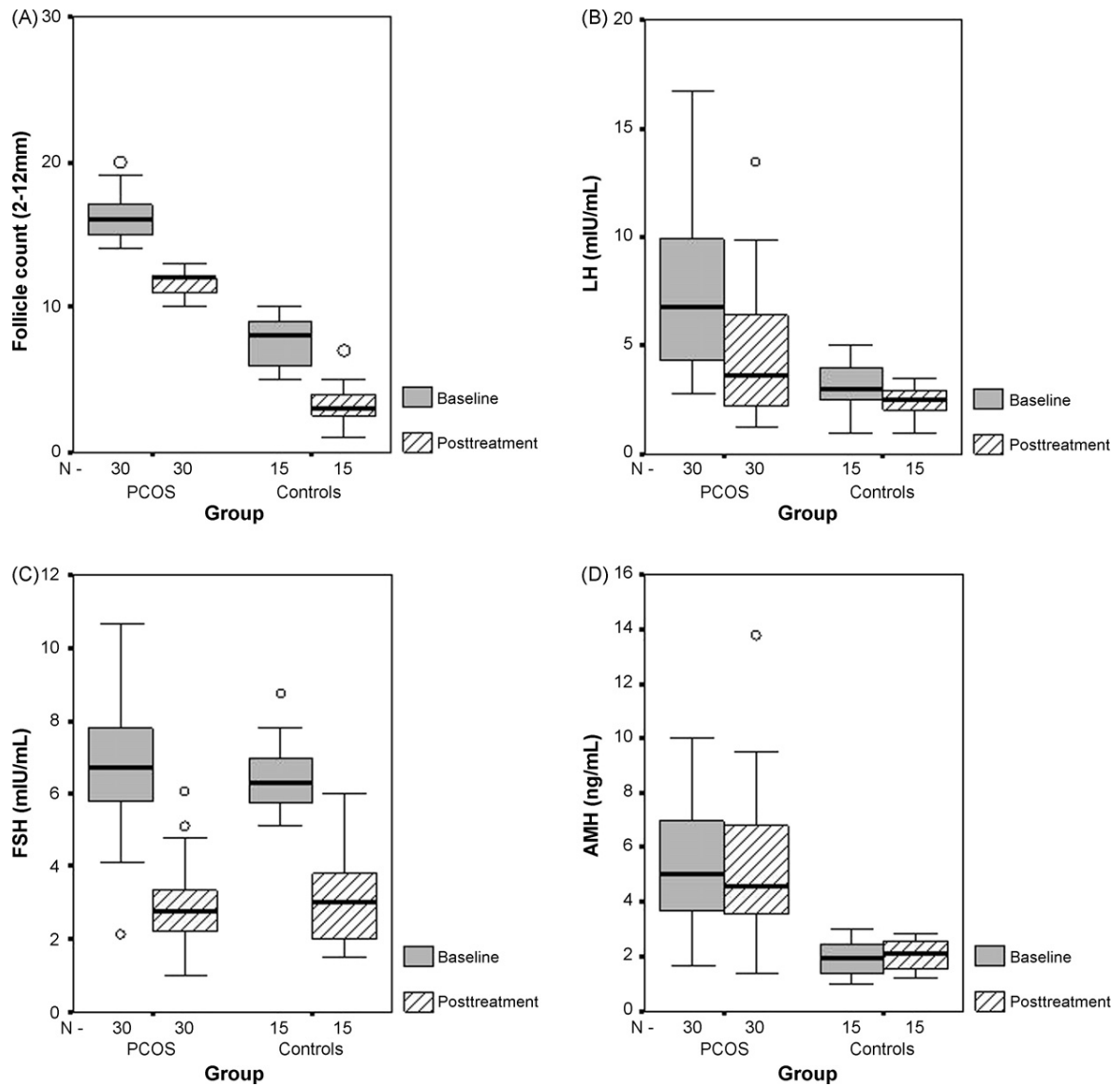


Figura 4. Variações de CFA (A), e níveis séricos de LH (B), FSH (C) e HAM (D) antes e após o uso de pílula anticoncepcional hormonal combinada durante 6 meses. Observa-se que o único parâmetro que não demonstra alteração significativa são os níveis séricos de HAM. Adaptado de Somunkiran *et al.* (46).

Semelhantemente, Streuli *et al.* (47) também concluíram que os níveis séricos de HAM permanecem inafetados em mulheres usuárias de contraceptivos hormonais orais e vaginais. Mais uma vez, esses dados são consistentes com o conceito de que o HAM reflete o crescimento contínuo (não-cíclico) dos folículos pequenos no ovário, que parece independente de gonadotrofinas.

Nesse sentido, seria lógico assumir que os níveis de HAM séricos não apresentariam flutuações durante o ciclo menstrual e, assim, não seriam afetados por mudanças hormonais como aquelas induzidas pela administração de hormônios exógenos, incluindo contracepção hormonal, e gestação (47). La Marca e Volpe (95) avaliaram os níveis séricos de HAM durante a gestação e o puerpério inicial. Os valores de HAM permaneceram estáveis em ambas as situações, sugerindo que o desenvolvimento folicular inicial e, conseqüentemente, a produção de HAM persistem durante a gestação, independentemente da diminuição nos níveis de FSH.

Baseando-se no exposto acima, considera-se também que o HAM constitui melhor marcador que a idade cronológica na predição do grau de envelhecimento ovariano, levantando a hipótese de que sua utilização poderia ter valia também para estimar a idade do início da menopausa (96). Outro tipo de paciente que se poderia beneficiar da dosagem do HAM são aquelas portadoras de graus variados de hipergonadotrofismo, como a insuficiência ovariana prematura, casos em que o HAM parece ser o melhor parâmetro de avaliação da depleção do *pool* de folículos ovarianos e possivelmente o melhor teste para diagnosticar essa condição (97).

Dessa forma, considerando-se a estabilidade do HAM nas várias etapas da

fisiologia reprodutiva (pequena variabilidade inter-ciclo no 3º dia do ciclo menstrual (98) e razoável estabilidade de seus valores séricos ao longo do ciclo (99)), esse hormônio, em associação à CFA, apresenta-se como um dos marcadores mais confiáveis do status folicular ovariano (25, 67, 100-102).

2. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

O freqüente aparecimento de queixas relacionadas principalmente ao ciclo menstrual por parte das pacientes submetidas à LT ainda instiga, nos ginecologistas, dúvidas sobre a possibilidade de essa cirurgia causar danos ao funcionamento dos ovários de mulheres jovens. Os trabalhos que investigaram a existência de uma verdadeira síndrome decorrente da esterilização tubária não esclarecem, de maneira objetiva e eficaz, essa questão, tornando dúbia a maneira como a paciente deve ser informada antes do procedimento, assim como a interpretação de suas eventuais queixas pós-cirúrgicas a curto e longo prazo.

Sabe-se que mulheres normo-ovulatórias demonstram concentrações decrescentes de HAM com o passar da idade, e que tais mudanças são detectadas mais precocemente que outras alterações clínicas (aumento do FSH, baixa da inibina B, diminuição folicular demonstrável pela ultrassonografia transvaginal). Dessa forma, o HAM tem sido relatado como o marcador mais fidedigno da reserva ovariana da mulher, já que seria capaz de detectar mudanças sutis e a curto prazo.

Até o momento, existem poucos trabalhos na literatura utilizando o HAM para a avaliação de alterações na reserva ovariana após a LT (103, 104).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Avaliar se existe associação independente entre LT e diminuição de reserva ovariana, medidos através da dosagem do HAM, antes e um ano após a cirurgia.

3.2. Objetivos Secundários

- Avaliar se existe alteração na contagem de folículos antrais à ultrassonografia pélvica transvaginal, um ano após a realização da LT.
- Avaliar se fatores pessoais (idade da paciente, IMC, tabagismo e uso de métodos anticoncepcionais hormonais ou não hormonais) e inerentes à LT (via cirúrgica – laparotômica ou laparoscópica) modificam a função ovariana após um ano da cirurgia.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cevrioglu AS, Degirmenci B, Acar M, Yilmazer M, Erol D, Kahraman A *et al.* Examination of changes caused by tubal sterilization in ovarian hormone secretion and uterine and ovarian artery blood flow rates. *Contraception* 2004;70:467-73.
2. Fagundes ML, Mendes MC, Patta MC, Rodrigues R, Berezowski AT, de Moura MD *et al.* Hormonal assessment of women submitted to tubal ligation. *Contraception* 2005;71:309-14.
3. Geber S, Caetano JP. Doppler colour flow analysis of uterine and ovarian arteries prior to and after surgery for tubal sterilization: a prospective study. *Hum Reprod* 1996;11:1195-8.
4. Revel A, Abramov Y, Yagel S, Nadjari M. Utero-ovarian morphology and blood flow after tubal ligation by the Pomeroy technique. *Contraception* 2004;69:151-6.
5. Nicolau AI, de Moraes ML, Lima DJ, de Souza Aquino P, Pinheiro AK. [Tubal ligation: the characterization of sterilized users of a public service]. *Rev Esc Enferm USP* 2011;45:55-61.
6. Kuscu E, Duran HE, Zeyneloglu HB, Demirhan B, Bagis T, Saygili E. The effect of surgical sterilization on ovarian function: a rat model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;100:204-7.

7. Carmona F, Cristóbal P, Casamitjana R, Balasch J. Effect of tubal sterilization on ovarian follicular reserve and function. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:447-52.
8. Dede FS, Dilbaz B, Akyuz O, Caliskan E, Kurtaran V, Dilbaz S. Changes in menstrual pattern and ovarian function following bipolar electrocauterization of the fallopian tubes for voluntary surgical contraception. *Contraception* 2006;73:88-91.
9. Gentile GP, Kaufman SC, Helbig DW. Is there any evidence for a post-tubal sterilization syndrome? *Fertil Steril* 1998;69:179-86.
10. Kelekci S, Yilmaz B, Yakut Y, Yasar L, Savan K, Sonmez S. Hormonal and ovarian stromal blood supply changes after laparoscopic tubal sterilization: a prospective controlled study. *Contraception* 2006;73:279-83.
11. Kutlar I, Ozkur A, Balat O, Ugur MG, Genco Y, Aksoy F. Effects of three different sterilization methods on utero-ovarian Doppler blood flow and serum levels of ovarian hormones. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;122:112-7.
12. Berger GS, Radwanska E, Hammond JE. Possible ovulatory deficiency after tubal ligation. *Am J Obstet Gynecol* 1978;132:699-700.
13. Kaiser R, Kusche M, Würz H. Hormone levels in women after hysterectomy. *Arch Gynecol Obstet* 1989;244:169-73.
14. Williams EL, Jones HE, Merrill RE. The subsequent course of patients sterilized by tubal ligation; a consideration of hysterectomy for sterilization. *Am J Obstet Gynecol* 1951;61:423-6.

15. Wilcox LS, Martinez-Schnell B, Peterson HB, Ware JH, Hughes JM. Menstrual function after tubal sterilization. *Am J Epidemiol* 1992;135:1368-81.
16. Bulent Tiras M, Noyan V, Ozdemir H, Guner H, Yildiz A, Yildirim M. The changes in ovarian hormone levels and ovarian artery blood flow rate after laparoscopic tubal sterilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;99:219-21.
17. Harlow BL, Missmer SA, Cramer DW, Barbieri RL. Does tubal sterilization influence the subsequent risk of menorrhagia or dysmenorrhea? *Fertil Steril* 2002;77:754-60.
18. Gülekli B, Bulbul Y, Onvural A, Yorukoglu K, Posaci C, Demir N *et al.* Accuracy of ovarian reserve tests. *Hum Reprod* 1999;14:2822-6.
19. Tran D, Muesy-Dessole N, Josso N. Anti-Müllerian hormone is a functional marker of foetal Sertoli cells. *Nature* 1977;269:411-2.
20. Wilson JD, Griffin JE, George FW. Sexual differentiation: early hormone synthesis and action. *Biol Reprod* 1980;22:9-17.
21. Wilson JD, Griffin JE, Leshin M, George FW. Role of gonadal hormones in development of the sexual phenotypes. *Hum Genet* 1981;58:78-84.
22. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006;131:1-9.

23. Vigier B, Picard JY, Tran D, Legeai L, Josso N. Production of anti-Müllerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology* 1984;114:1315-20.
24. 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;10:77-83.
25. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.
26. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003;18:323-7.
27. 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;77:468-71.
28. Silva ALB, Vilodre LCF. Avaliação da reserva ovariana: métodos atuais. *Femina* 2009;37:149-54.
29. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr Rev* 2001;22:657-74.

30. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM, Cheung A *et al.* Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986;45:685-98.
31. Massagué J, Attisano L, Wrana JL. The TGF-beta family and its composite receptors. *Trends Cell Biol* 1994;4:172-8.
32. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S *et al.* Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:571-6.
33. Rajpert-De Meyts E, Jørgensen N, Graem N, Müller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3836-44.
34. Josso N, di Clemente N, Gouédard L. Anti-Müllerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol* 2001;179:25-32.
35. Gouédard L, Chen YG, Thevenet L, Racine C, Borie S, Lamarre I *et al.* Engagement of bone morphogenetic protein type IB receptor and Smad1 signaling by anti-Müllerian hormone and its type II receptor. *J Biol Chem* 2000;275:27973-8.
36. di Clemente N, Josso N, Gouédard L, Belville C. Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads. *Mol Cell Endocrinol* 2003;211:9-14.

37. Blyth B, Duckett JW. Gonadal differentiation: a review of the physiological process and influencing factors based on recent experimental evidence. *J Urol* 1991;145:689-94.
38. Kuroda T, Lee MM, Ragin RC, Hirobe S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance production and cleavage is modulated by gonadotropins and steroids. *Endocrinology* 1991;129:2985-92.
39. Al-Attar L, Noël K, Dutertre M, Belville C, Forest MG, Burgoyne PS *et al.* Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-Müllerian hormone production in the postnatal mouse. *J Clin Invest* 1997;100:1335-43.
40. Lasala C, Carré-Eusèbe D, Picard JY, Rey R. Subcellular and molecular mechanisms regulating anti-Müllerian hormone gene expression in mammalian and nonmammalian species. *DNA Cell Biol* 2004;23:572-85.
41. Young J, Chanson P, Salenave S, Noël M, Brailly S, O'Flaherty M *et al.* Testicular anti-mullerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:724-8.
42. Lukas-Croisier C, Lasala C, Nicaud J, Bedecarrás P, Kumar TR, Dutertre M *et al.* Follicle-stimulating hormone increases testicular Anti-Mullerian hormone (AMH) production through sertoli cell proliferation and a nonclassical cyclic adenosine 5'-monophosphate-mediated activation of the AMH Gene. *Mol Endocrinol* 2003;17:550-61.

43. Bath LE, Wallace WH, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Müllerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Hum Reprod* 2003;18:2368-74.
44. Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, Chang RJ. Serum anti-mullerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1871-4.
45. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2008;90:737-43.
46. Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. Anti-Müllerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;134:196-201.
47. Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2008;90:395-400.
48. Salmon NA, Handyside AH, Joyce IM. Expression of Sox8, Sf1, Gata4, Wt1, Dax1, and Fog2 in the mouse ovarian follicle: implications for the regulation of Amh expression. *Mol Reprod Dev* 2005;70:271-7.

49. Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996;383:531-5.
50. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA *et al.* Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999;140:5789-96.
51. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW *et al.* Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002;143:1076-84.
52. McGee EA, Smith R, Spears N, Nachtigal MW, Ingraham H, Hsueh AJ. Müllerian inhibitory substance induces growth of rat preantral ovarian follicles. *Biol Reprod* 2001;64:293-8.
53. Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 2002;124:601-9.
54. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM *et al.* Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001;142:4891-9.
55. di Clemente N, Ghaffari S, Pepinsky RB, Pieau C, Josso N, Cate RL *et al.* A quantitative and interspecific test for biological activity of anti-müllerian hormone: the fetal ovary aromatase assay. *Development* 1992;114:721-7.

56. di Clemente N, Goxe B, Remy JJ, Cate R, Josso N, Vigier B *et al.* Inhibitory effect of AMH upon the expression of aromatase and LH receptors by cultured granulosa cells of rat and porcine immature ovaries. *Endocrine* 1994;2:553 - 8.
57. Vigier B, Forest MG, Eychenne B, Bézard J, Garrigou O, Robel P *et al.* Anti-Müllerian hormone produces endocrine sex reversal of fetal ovaries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:3684-8.
58. Faddy MJ. Follicle dynamics during ovarian ageing. *Mol Cell Endocrinol* 2000;163:43-8.
59. Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women; variations at different ages. *Acta Anat (Basel)* 1952;14:108-23.
60. Pastor CL, Vanderhoof VH, Lim LC, Calis KA, Premkumar A, Guerrero NT *et al.* Pilot study investigating the age-related decline in ovarian function of regularly menstruating normal women. *Fertil Steril* 2005;84:1462-9.
61. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996;17:121-55.
62. Reuss ML, Kolton S, Tharakan T. Transvaginal ultrasonography in gynecologic office practice: assessment in 663 premenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1189-94.
63. Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable

screening test for detecting 'poor responders' in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1994;9:1607-11.

64. Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis LM, Liu HC *et al.* The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1988;50:298-307.
65. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 1987;2:645-7.
66. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002;77:328-36.
67. van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH *et al.* Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11:601-6.
68. Grynberg M, Feyereisen E, Scheffer JB, Koutroubis P, Frydman R, Fanchin R. Early follicle development alters the relationship between antral follicle counts and inhibin B and follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3. *Fertil Steril* 2010;93:894-9.
69. Brown JR, Liu HC, Sewitch KF, Rosenwaks Z, Berkeley AS. Variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels in eumenorrheic women. *J Reprod Med* 1995;40:620-4.

70. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB, Schoemaker J. Intercycle variability of ovarian reserve tests: results of a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2004;19:590-5.
71. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999;72:845-51.
72. Haadsma ML, Bukman A, Groen H, Roeloffzen EM, Groenewoud ER, Heineman MJ *et al.* The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum Reprod* 2007;22:1925-31.
73. Seifer DB, Maclaughlin DT. Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril* 2007;88:539-46.
74. Münsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development* 1991;113:613-24.
75. Taketo T, Saeed J, Manganaro T, Takahashi M, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance production associated with loss of oocytes and testicular differentiation in the transplanted mouse XX gonadal primordium. *Biol Reprod* 1993;49:13-23.
76. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP *et al.* Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II

receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology* 1995;136:4951-62.

77. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2003;18:328-32.
78. Fanchin R, Cunha-Filho JS, Schonäuer LM, Righini C, de Ziegler D, Frydman R. Luteal estradiol administration strengthens the relationship between day 3 follicle-stimulating hormone and inhibin B levels and ovarian follicular status. *Fertil Steril* 2003;79:585-9.
79. Grynberg M, Genro V, Gallot V, El-Ali A, Frydman R, Fanchin R. Early follicle development during the luteal-follicular transition affects the predictability of serum follicle-stimulating hormone but not antimüllerian hormone levels on cycle day 3. *Fertil Steril* 2010;94:1827-31.
80. Klein NA, Battaglia DE, Miller PB, Branigan EF, Giudice LC, Soules MR. Ovarian follicular development and the follicular fluid hormones and growth factors in normal women of advanced reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1946-51.
81. de Carvalho BR, Rosa e Silva AC, Rosa e Silva JC, dos Reis RM, Ferriani RA, Silva de Sá MF. Ovarian reserve evaluation: state of the art. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:311-22.

82. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S *et al.* Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5957-62.
83. Fallat ME, Siow Y, Marra M, Cook C, Carrillo A. Müllerian-inhibiting substance in follicular fluid and serum: a comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis. *Fertil Steril* 1997;67:962-5.
84. Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum müllerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril* 2002;77:141-6.
85. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:318-23.
86. Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME. Serum müllerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil Steril* 2000;73:859-61.
87. Hirobe S, He WW, Lee MM, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in granulosa and Sertoli cells coincides with their mitotic activity. *Endocrinology* 1992;131:854-62.
88. Streuli I, Fraise T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof P, de Ziegler D. Clinical uses of anti-Müllerian hormone assays: pitfalls and promises. *Fertil Steril* 2009;91:226-30.

89. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhäuser MH. Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril* 2008;89:927-33.
90. 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;19:2738-41.
91. La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod* 2006;21:3103-7.
92. Fanchin R, Méndez Lozano DH, Louafi N, Achour-Frydman N, Frydman R, Taieb J. Dynamics of serum anti-Müllerian hormone levels during the luteal phase of controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2005;20:747-51.
93. Sowers M, McConnell D, Gast K, Zheng H, Nan B, McCarthy JD *et al.* Anti-Müllerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles. *Fertil Steril* 2010;94:1482-6.
94. Rustamov O, Pemberton PW, Roberts SA, Smith A, Yates AP, Patchava SD *et al.* The reproducibility of serum anti-Müllerian hormone in subfertile women: within and between patient variability. *Fertil Steril* 2011;95:1185-7.
95. La Marca A, Volpe A. AntiMüllerian serum levels during pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64:715-6.

96. van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT *et al.* Relationship of serum antimüllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2129-34.
97. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC *et al.* Anti-Müllerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:786-92.
98. 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;20:923-7.
99. 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;22:766-71.
100. da Silva AL, Even M, Grynberg M, Gallot V, Frydman R, Fanchin R. [Anti-Müllerian hormone: player and marker of folliculogenesis]. *Gynecol Obstet Fertil* 2010;38:471-4.
101. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril* 2004;82:180-5.

102. Weghofer A, Margreiter M, Fauster Y, Schaetz T, Brandstetter A, Boehm D *et al.* Age-specific FSH levels as a tool for appropriate patient counselling in assisted reproduction. *Hum Reprod* 2005;20:2448-52.
103. Goynumer G, Kayabasoglu F, Aydogdu S, Wetherilt L. The effect of tubal sterilization through electrocoagulation on the ovarian reserve. *Contraception* 2009;80:90-4.
104. Grant MA, Chow GE, Burney RO. Evaluation of Ovarian Reserve Following Tubal Sterilization Using Anti-Müllerian Hormone. *Fertil Steril* 2011;95:S7.

5. ARTIGO

Impact of tubal ligation on ovarian reserve measured by Anti-Müllerian Hormone: A Prospective Cohort Study

Ana Luiza Berwanger da Silva, MD¹; Camila da Ré, MD²; Cristine Dietrich, MD³; Isabela Piva Fuhrmeister, MD, MsC⁴; Anita Pimentel, MsC⁴; Helena Von Eye Corleta, MD, MsC, PhD⁵

¹ Postgraduate Student, Postgraduate Program in Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

² Medical student, Medicine School, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brazil.

³ Medical Resident, Hospital Materno-Infantil Presidente Vargas, Porto Alegre, Brazil

⁴ Human Reproduction Clinic - GERAR, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil.

⁵ Professor, Department of Gynecology and Obstetrics and Postgraduate Program in Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

From the Gynecology Division of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Postgraduate Program in Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brazil.

Correspondence:

Prof. Dr. Helena von Eye Corleta

Rua Ramiro Barcelos, 910 conj. 905

Porto Alegre, RS, Brasil, CEP 90035-001

Phone/FAX: (55) (51) 3311-5699

E-mail: hcorleta@portoweb.com.br

Corporate Affiliations: The authors have no affiliation to manufacturers of medical supply or equipment, and have no potential conflicts of interest to declare.

Abbreviations

AFC = antral follicle count

AMH = Anti-Müllerian hormone

BMI = body mass index

ELISA = Enzyme Linked Immunosorbent Assay

FSH = follicle stimulating hormone

PTLS = post-tubal ligation Syndrome

TL = tubal ligation

ABSTRACT

Objective: To investigate whether ovarian reserve may change after tubal ligation (TL), we evaluated fertile women submitted to this method by pre- and postoperative serum Anti-Müllerian hormone (AMH) level and by antral follicle count (AFC) on vaginal ultrasound. Other factors considered potential confounders were age, body mass index, smoking, surgical technique and prior contraceptive method.

Design: Prospective cohort study.

Setting: Two university hospitals.

Patients: Eighty fertile women desiring TL.

Interventions: All patients had undergone TL. Serum AMH levels and AFC were measured preoperative and 12 months after operation.

Main Outcome Measure: Serum AMH levels.

Results: Fifty-two patients completed the study protocol. Mean AMH level was 1.79 ng/ml \pm 1.61 before operation and 2.05 ng/ml \pm 2.16 after 12 months. Mean AFC was 9.7 \pm 5.9 and 11.1 \pm 5.8 before and after TL respectively. These differences were not statistically significant. The use of a hormonal contraceptive method showed a significant association with an increase in AMH during follow-up.

Conclusions: This study suggests that ovarian reserve is not altered by TL. Women using a hormonal contraceptive method may have a slight decrease on AMH levels during the use of this method, showing an increase of those levels after interruption of

hormones. These results, though, should be interpreted with caution, and further studies are necessary to clarify this issue.

Key Words: tubal ligation, Anti-Müllerian hormone, ovarian reserve, hormonal contraceptives.

INTRODUCTION

Tubal sterilization is one of the most employed techniques of contraception worldwide, with very high safety (1-3). In Brazil, near 30 to 40% of women who finished their offspring ask for this method of birth control (4). Despite its efficacy, a non negligible number of patients submitted to this procedure complain of a variety of symptoms, mostly related to menstrual cycle changes. Together, these symptoms are called “post-tubal ligation syndrome”, which include irregular cycles, increased or prolonged menstrual flow, spotting, dysmenorrhea, dispareunia, among others (5-7).

As the main used techniques for tubal ligation today are simple and safe and its results are reliable, this is indeed a very good but definitive contraceptive technique; then, any possible symptoms and side-effects secondary to the surgery should be very well informed to the patient prior to the choice of this method.

Since the first report of a so-called PTLs, in 1951, by Williams *et al.* (8), many authors (9-22) have exhaustively tried to determine, in an objective manner, the existence of changes in the ovarian function, which could characterize a real syndrome. Most of the tests and methods used to verify possible alterations on the ovarian reserve or irrigation (serum hormones, like FSH and Estradiol, ultrasonographic parameters, like ovarian volume and Doppler of ovarian vessels and determination of menstrual pattern by questionnaires) (23) are subjective or not capable of showing variations on a short-term basis, making them not reliable enough to clarify this condition.

On the last decades, literature concerning AMH has presented promising data

concerning its capacity to determine ovaries function and reserve (24, 25). This hormone, initially known for determining male sex differentiation, has been recently considered the best existing predictor of ovarian reserve, as it can only be detected in serum from the menarche (26) until the age of menopause (27), making this test a reliable marker of the reproduction potential of a woman. Also, it has a minor inter (28) and intracycle (29-31) variability, being able to detect subtle changes in ovarian reserve, since it decreases slowly as age advances (32). Furthermore, most studies show that the variations on AFC (performed by vaginal ultrasound) are compatible to the decrease of AMH levels, as women approach to menopause (33), making the combination of these two tests the best method to evaluate ovarian reserve and potential nowadays (24, 32, 34-39). The aim of this study is to objectively evaluate a possible independent association between TL and decrease of ovarian reserve, in women who underwent TL, by the measurement of serum AMH prior to and 1 year after this procedure. Our secondary objectives are to verify this decrease as well by the verification of the AFC on vaginal ultrasound and to investigate the possible influence of factors such as age, BMI, smoking, surgical technique and prior contraceptive method on these alterations.

METHODS

Study Design, Setting and Participants

We conducted a prospective cohort study including 80 consecutive women who spontaneously asked for tubal sterilization and who had no contra-indications for the

surgery, from May 2008 to February 2009. Patients' follow-up was conducted until February 2010. The choice of this contraceptive method and of the surgical technique was already determined by the patient and her physician at the moment of recruitment. All women were recruited from the Family Planning Unit from two university-hospitals in Porto Alegre, Brazil (Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Hospital Materno-Infantil Presidente Vargas).

Eligibility Criteria

Inclusion criteria were fertile women (who had at least one living child) between 20 and 40 years old, who spontaneously asked for TL independently from this study and who agreed to sign the informed consent. Exclusion criteria included any of the following: previous surgery on ovaries or Fallopian tubes, previous history of infertility, chemo or radiotherapy, hemodialysis and women who refused to sign the informed consent.

Study Procedures

Prior to surgery (baseline data) and after signing the informed consent, all patients had a sample of blood withdrawn. Blood samples were immediately centrifuged and serum was stored at -80°C until assay, at the end of the study, when all samples were measured together for AMH, avoiding possible variations of reading. Measurements were made by using ELISA (Beckman Coulter, Genese Immunotech, France), as described elsewhere (40). Also before TL, all patients had a vaginal ultrasound for AFC. This exam was performed by two experienced sonographers on a private Human Reproduction clinic in Porto Alegre, Brazil. The ultrasound equipment

used was always the same (Siemens Sonoline Adara™ with a 5 MHz transvaginal probe). This evaluation was performed on any day of the menstrual cycle. By AFC, we understand the count of all small follicles, between 2 and 10 mm, measured in both ovaries.

The choice of the technique performed for TL (laparoscopic, by bipolar coagulation or mini-laparotomic, by Pomeroy's technique) was made by the patient's physician, according to the characteristics and eventual contraindications of each patient. The surgical procedures were made in Hospital de Clínicas de Porto Alegre and in Hospital Materno-Infantil Presidente Vargas, Porto Alegre, Brazil, independently of this study.

Six months after the surgery, patients were called to know if they had any unpleasant symptoms or if they needed any additional information. Twelve months after the surgery, patients came back to the clinic where they first had the vaginal ultrasound for a new AFC (with the same sonographers and equipment) and also for another blood sample collection for serum AMH verification, which was processed in the exact same method as prior to the surgical procedure. After the end of the follow-up period, all serum samples were thawed in room temperature for the measurement of AMH.

Variables and Outcomes of Interest

Our primary outcome of interest was variation on baseline serum AMH (ng/ml), defined as a 20% decrease of its values in a 1-year follow-up. A secondary outcome used was alteration on AFC in the same period. Factors considered potential

confounders (independent variables) were age, BMI, smoking, surgical technique and prior contraceptive method.

For statistical analysis, we divided patients into three groups of age: 25-30, 31-35 and > 35 years old (as there were no patients below 25 years old). BMI was calculated through the formula “weight over height squared”. Patients were considered as non-smoker if they were completely free of smoking until 1 year before their inclusion in this study. All others were considered as smokers (active smoking, regardless of the quantity or those who quit less than 1 year before recruitment). Possible surgical techniques were laparoscopic, by bipolar cauterization and mini-laparotomic, through Pomeroy’s technique. Contraceptive methods were divided as hormonal methods (combined oral pill, hormonal implant and injectable contraceptive) and non-hormonal methods (condom, copper IUD and no method at all) which were being used until TL.

Sample Size Calculation

Sample size calculation was based on the work of van Rooj *et al.* (41). In order to detect a variation equal or superior to 20% on serum AMH between baseline and the 12-month measurement, considering $p < 0.05$ significance and 80% sample power, it would be necessary to include at least 40 patients in the study.

Statistical Analysis

We used the paired T-test to compare pre- and post-surgical (12 months) AMH and AFC. The differences between post- and pre-surgical AMH and AFC were calculated as the difference between the 12-month and baseline measurements, and are hereafter referred to as AMH delta and AFC delta.

The relationship between AMH delta and AFC delta was evaluated through the Spearman correlation coefficient, since AMH delta presented a non-normal distribution.

The relationship between AMH and AFC delta and its possible predictors (use of hormonal contraceptives, smoking habit, surgical technique, age and BMI) was evaluated through simple and multiple linear regression. A p value < 0.05 was considered statistically significant.

Ethical Aspects

This study fulfilled the principals and policy of research involving human beings (Resolution 196/96 from the National Health Council) and was approved by the Ethics Committee of both hospitals involved (project n° 08-123). All patients were informed about the study protocol before the surgery and signed the informed consent when they agreed to participate.

RESULTS

From May 2008 to February 2009, 80 patients who fulfilled the eligibility criteria for this study and who signed the informed consent were recruited. Twenty-eight patients were excluded during the follow-up: 18 because of loss of contact (phone numbers and/or addresses provided were no longer available), 5 for incomplete data (patients that did not have a blood sample collected and ultrasound performed), 3 because they moved out from the city/state/country and 2 who withdrew their

consent. 52 patients then completed the protocol and had their data analyzed (**Figure 1**).

Patients' characteristics are detailed in **Table 1**. Mean age at the time of surgery was 32.5 ± 4.5 years old. Mean BMI was 29.9 ± 4.8 . Thirty-two patients (61.5%) were using a hormonal contraceptive method prior to surgery, while 20 patients (38.4%) were using non-hormonal methods or no method at all. Smoking was referred by 20 patients (38.4%). Thirty-five patients (67.3%) were submitted to laparoscopic and 17 (32.7%) to laparotomic technique.

Baseline AMH varied from 0.05 ng/ml to 9.2 ng/ml (mean = $1.79 \text{ ng/ml} \pm 1.61$), and 12-month measurement was 0.05 ng/ml and 9.8 ng/ml for minimal and maximal values, respectively (mean = $2.05 \text{ ng/ml} \pm 2.16$), as shown in **Figure 2**. **Figures 3 to 8** show the differences of AMH according to age groups. Baseline AFC varied from 1 to 28 (mean = 9.7 ± 5.9) and the 12-month count, from 2 to 33 (mean = 11.1 ± 5.8) (**Figure 9**). The variations between both AMH and AFC (AMH delta and AFC delta) were not statistically significant considering a $p < 0.05$ (**Table 2** and **Figure 10**).

The analysis of predictors of AMH and AFC is shown in **Table 3**. The only variable associated with AMH delta variation during this 12-month period (both in the univariate and multivariate analysis) were hormone contraceptives, where its use showed a statistically significant association with an increase in AMH during follow-up. In the AFC analysis, no variable showed consistent association with its delta (**Table 3**). BMI showed an association with AFC delta in the comparison of BMI 25-30 versus <25, but this relationship was not maintained in the >30 versus <25 analysis, and should

therefore be interpreted with caution.

DISCUSSION

This study evaluated the possible occurrence of changes on ovarian function after TL (on the search for a PTLS) by serum AMH and, secondarily, by AFC. We found that women who underwent TL showed no significant alterations in serum AMH and AFC one year after the procedure, when compared to baseline values. However, small (non significant) alterations in AMH and AFC were compatible and also showed similar variation curves according to age. Furthermore, with the exception of hormonal contraceptive methods, none of the possible influencing factors analyzed (age, BMI, smoking and surgical technique) showed an independent association with AMH delta and none with AFC delta. Our study then suggests that there is no influence of TL in ovarian function and reserve on a 1-year follow-up period. Both AMH and AFC showed a (non-significant) small increase in their values after 12 months of TL.

These results are consistent with previous research (10-13, 16, 18) that showed no significant variation on ovarian function after TL, with even longer follow-up. This data come from studies that used ancient and non-efficient methods for evaluating ovarian reserve on a short-term basis, like estradiol, FSH, ovarian Doppler and menstrual questionnaires. Nonetheless, studies that found evidences of an occurrence of PTLS (6, 42, 43) used the same tests, so it is not even possible to differentiate if those results are a reliable reflex of ovarian reserve changing or not. Our study, then, tested this hypothesis with the best methods available for analyzing possible

alterations on ovarian functioning, and our results, despite our small population, could clarify a little bit more this issue.

We consider the small increase on AMH and AFC values after 12 months of TL clinically irrelevant, not only because it was not statistically significant, but also because small variations on AMH levels can be found in young and specially fertile women (44, 45). Small and temporary variations on AMH levels after surgical procedure were already described by other authors (46, 47), who found decreased AMH levels immediately after surgery (ovarian cystectomy or oophorectomy) and increase of those values on subsequent months. They suggested that the increased serum AMH levels reflect either reperfusion of ovarian tissue, activation of follicles or regeneration of ovarian follicle pool (46).

To our knowledge, there are few studies in literature that have evaluated ovarian function after TL by serum AMH (48, 49). Grant *et al.* (49) compared a group of 50 women with a history of TL desiring fertility to a 33 patients control group of healthy women from couples with male factor infertility. They found a positive association between TL and reduced ovarian reserve (measured by serum AMH and total AFC), mainly in those who had a bipolar coagulation technique. However, neither the amount of time passed after TL, nor patient's age, both very important factors to consider on evaluating the impact of the surgery on ovarian function, were not mentioned, so we cannot know whether patient's groups were really comparable regarding to this. Moreover, this was a transversal study, so it did not include follow-up, which can impair the results. The other one (48) was a 10-month prospective randomized study of 80 patients submitted to TL (through eletrocoagulation or

mechanical clips techniques). Authors found a significant difference between the postoperative 10th-month total ovarian volumes and AFC between the electrocoagulation and mechanical clips application groups. Serum AMH, though, showed no significant differences. Since AMH and AFC normally show paired values, one might question whether these results are a real reflex of the ovarian reserve of the patients. Nonetheless, this paper represents an important study on this field, with a methodology very similar to ours.

We also tried to search for potential factors that could influence ovarian function and the possible associated symptoms of patients after TL, performing a multivariate analysis. When tested to age, BMI, surgical technique and smoking, still there were no differences on the AMH and AFC delta variation. However, concerning to the contraceptive method used prior to TL, we observed interesting results: when the patient was a user of hormonal methods (combined pill, hormonal implant or trimestral injection), AMH showed a statistically significant, though slight, increase after 1 year of TL. We interpreted this finding as the following: patients in use of hormones may have a minor decrease on AMH levels during its use, which would subsequently increase after interruption of this contraceptive method. This hypothesis would also explain the non significant augmentation on AMH values after the 1-year follow-up period, as more than 60% of the patients studied were in use of a hormonal contraception before TL. Regarding to AFC delta, this association was not significant. Still, these results should be interpreted with caution, as we used a small population and a follow-up of only one year. Indeed, most studies show that serum AMH values are not influenced by any personal factors, including the use of hormonal

contraceptive methods (31, 50).

When we compared the delta variation on serum AMH values to the delta variation on AFC values, we found very similar curves. This comparison is consistent with literature, as we described before, but what is interesting on this finding is that, in our study, AFC was not necessarily verified on days 2 to 4 of the menstrual cycle, as normally recommended. Instead, the ultrasound was made on any day of the cycle, according to the availability of the patient to come to the clinic. These findings could be interesting on questioning the standard method of verifying AFC (51, 52), in the sense that maybe the phase of the cycle should not be so strict, which would largely facilitate this evaluation (which is already a known advantage of serum AMH).

We recognize some limitations of our study. Time of follow-up after TL was limited, and a longer period could maybe allow the achievement of more consistent data. We chose not to have a control group, but this could have strengthened statistical power taking into account a short period protocol. Also of concern is the important loss of patients during the follow-up phase. We understand that the difficulties found to keep in touch with the patients can be assigned mainly to the fact that participants were all recruited from public hospitals, which are usually sought, in our country, by low social-economic status population, who may not understand the importance of committing to a study protocol. Nevertheless, the minimum number established to reach statistical power was respected.

Despite its limitations, our results can be considered applicable to other populations of patients submitted to TL because we had an embracing sample of

women that usually look for this contraceptive method, concerning to age and BMI. Furthermore, the ovarian reserve tests used in this study are considered the best parameters to evaluate small alterations in ovarian functioning and are not influenced by personal characteristics. To our knowledge, this was the first research on PTLs using those tests performed in our country. Also of concern, it the fact that trials evaluating the influence of the use of hormonal contraception on AMH levels were made with study populations smaller than ours.

Briefly, we can summarize our results in three statements: 1) after 12 months of TL, the population studied did not show a significant difference on ovarian reserve measured by AMH and AFC; 2) the use of hormonal contraception was the only parameter that revealed a significant association with the variation on AMH during the study period, showing a slight tendency to increase of AMH levels after stopping this method; 3) we clearly observed, as previously described, smaller values of AMH and AFC in older women (specially more than 35 years old) regarding to younger women.

In conclusion, the results of our current 12-month follow-up cohort study suggest that TL does not provoke any significant decrease in ovarian reserve and potential, which put in doubt the real existence of a PTLs. We also found an increase on AMH levels in patients using hormonal contraception after interruption of this method. Still, these results should be interpreted with caution, and further researches using AMH and longer follow-up should be considered.

REFERENCES

1. Peterson HB, Xia Z, Hughes JM, Wilcox LS, Tylor LR, Trussell J. The risk of pregnancy after tubal sterilization: findings from the U.S. Collaborative Review of Sterilization. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1161-8; discussion 8-70.
2. Stock RJ. Sterilization failures. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:970.
3. Stovall TG, Ling FW, O'Kelley KR, Coleman SA. Gross and histologic examination of tubal ligation failures in residency training program. *Obstet Gynecol* 1990;76:461-5.
4. Nicolau AI, de Moraes ML, Lima DJ, de Souza Aquino P, Pinheiro AK. [Tubal ligation: the characterization of sterilized users of a public service]. *Rev Esc Enferm USP* 2011;45:55-61.
5. DeStefano F, Huezo CM, Peterson HB, Rubin GL, Layde PM, Ory HW. Menstrual changes after tubal sterilization. *Obstet Gynecol* 1983;62:673-81.
6. Hargrove JT, Abraham GE. Endocrine profile of patients with post-tubal-ligation syndrome. *J Reprod Med* 1981;26:359-62.
7. Rioux JE. Late complications of female sterilization: a review of the literature and a proposal for further research. *J Reprod Med* 1977;19:329-40.
8. Williams EL, Jones HE, Merrill RE. The subsequent course of patients sterilized by tubal ligation; a consideration of hysterectomy for sterilization. *Am J Obstet Gynecol* 1951;61:423-6.

9. Bulent Tiras M, Noyan V, Ozdemir H, Guner H, Yildiz A, Yildirim M. The changes in ovarian hormone levels and ovarian artery blood flow rate after laparoscopic tubal sterilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;99:219-21.
10. Carmona F, Cristóbal P, Casamitjana R, Balasch J. Effect of tubal sterilization on ovarian follicular reserve and function. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:447-52.
11. Cevrioglu AS, Degirmenci B, Acar M, Yilmazer M, Erol D, Kahraman A *et al.* Examination of changes caused by tubal sterilization in ovarian hormone secretion and uterine and ovarian artery blood flow rates. *Contraception* 2004;70:467-73.
12. Dede FS, Dilbaz B, Akyuz O, Caliskan E, Kurtaran V, Dilbaz S. Changes in menstrual pattern and ovarian function following bipolar electrocauterization of the fallopian tubes for voluntary surgical contraception. *Contraception* 2006;73:88-91.
13. Duran B, Demirkoprulu N, Guvenal T, Arici S, Tuncer E, Cetin M *et al.* Histopathological changes in ovary and endometrium after tubal ligation: a rat model. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003;82:220-4.
14. Fagundes ML, Mendes MC, Patta MC, Rodrigues R, Berezowski AT, de Moura MD *et al.* Hormonal assessment of women submitted to tubal ligation. *Contraception* 2005;71:309-14.

15. Geber S, Caetano JP. Doppler colour flow analysis of uterine and ovarian arteries prior to and after surgery for tubal sterilization: a prospective study. *Hum Reprod* 1996;11:1195-8.
16. Gentile GP, Kaufman SC, Helbig DW. Is there any evidence for a post-tubal sterilization syndrome? *Fertil Steril* 1998;69:179-86.
17. Harlow BL, Missmer SA, Cramer DW, Barbieri RL. Does tubal sterilization influence the subsequent risk of menorrhagia or dysmenorrhea? *Fertil Steril* 2002;77:754-60.
18. Kelekci S, Yilmaz B, Yakut Y, Yasar L, Savan K, Sonmez S. Hormonal and ovarian stromal blood supply changes after laparoscopic tubal sterilization: a prospective controlled study. *Contraception* 2006;73:279-83.
19. Kuscu E, Duran HE, Zeyneloglu HB, Demirhan B, Bagis T, Saygili E. The effect of surgical sterilization on ovarian function: a rat model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;100:204-7.
20. Kutlar I, Ozkur A, Balat O, Ugur MG, Genco Y, Aksoy F. Effects of three different sterilization methods on utero-ovarian Doppler blood flow and serum levels of ovarian hormones. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;122:112-7.
21. Revel A, Abramov Y, Yagel S, Nadjari M. Utero-ovarian morphology and blood flow after tubal ligation by the Pomeroy technique. *Contraception* 2004;69:151-6.

22. Wilcox LS, Martinez-Schnell B, Peterson HB, Ware JH, Hughes JM. Menstrual function after tubal sterilization. *Am J Epidemiol* 1992;135:1368-81.
23. Gülekli B, Bulbul Y, Onvural A, Yorukoglu K, Posaci C, Demir N *et al.* Accuracy of ovarian reserve tests. *Hum Reprod* 1999;14:2822-6.
24. Seifer DB, MaLaughlin DT. Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril* 2007;88:539-46.
25. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006;131:1-9.
26. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S *et al.* Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:571-6.
27. van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT *et al.* Relationship of serum antimüllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2129-34.
28. Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Mullerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod* 2005;20:923-7.
29. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057-63.

30. 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;22:766-71.
31. Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2008;90:395-400.
32. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.
33. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003;18:323-7.
34. da Silva AL, Even M, Grynberg M, Gallot V, Frydman R, Fanchin R. [Anti-Müllerian hormone: player and marker of folliculogenesis]. *Gynecol Obstet Fertil* 2010;38:471-4.
35. Fişcioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakacak Z. Early follicular antimüllerian hormone as an indicator of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2006;85:592-6.
36. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril* 2004;82:180-5.

37. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2008;90:737-43.
38. van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH *et al.* Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11:601-6.
39. Weghofer A, Margreiter M, Fauster Y, Schaetz T, Brandstetter A, Boehm D *et al.* Age-specific FSH levels as a tool for appropriate patient counselling in assisted reproduction. *Hum Reprod* 2005;20:2448-52.
40. Long WQ, Ranchin V, Pautier P, Belville C, Denizot P, Caila H *et al.* Detection of minimal levels of serum anti-Mullerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:540 - 4.
41. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH *et al.* Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005;83:979-87.
42. Cattanach J. Oestrogen deficiency after tubal ligation. *Lancet* 1985;1:847-9.
43. Radwanska E, Headley SK, Dmowski P. Evaluation of ovarian function after tubal sterilization. *J Reprod Med* 1982;27:376-84.

44. Rustamov O, Pemberton PW, Roberts SA, Smith A, Yates AP, Patchava SD *et al.* The reproducibility of serum anti-Müllerian hormone in subfertile women: within and between patient variability. *Fertil Steril* 2011;95:1185-7.
45. Sowers M, McConnell D, Gast K, Zheng H, Nan B, McCarthy JD *et al.* Anti-Müllerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles. *Fertil Steril* 2010;94:1482-6.
46. Chang HJ, Han SH, Lee JR, Jee BC, Lee BI, Suh CS *et al.* Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels. *Fertil Steril* 2010;94:343-9.
47. La Marca A, De Leo V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L *et al.* Anti-Müllerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. *J Soc Gynecol Investig* 2005;12:545-8.
48. Goynumer G, Kayabasoglu F, Aydogdu S, Wetherilt L. The effect of tubal sterilization through electrocoagulation on the ovarian reserve. *Contraception* 2009;80:90-4.
49. Grant MA, Chow GE, Burney RO. Evaluation of Ovarian Reserve Following Tubal Sterilization Using Anti-Müllerian Hormone. *Fertil Steril* 2011;95:S7.
50. Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. Anti-Müllerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;134:196-201.

51. Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril* 2010;94:1044-51.

52. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, teJong FH *et al*. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod* 2003;18:700-6.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Flow diagram of study selection

Figure 2. Variation on serum AMH (ng/ml) after 1-year follow-up

Figure 3. Baseline serum AMH (ng/ml) x age (years)

Figure 4. 12-month serum AMH (ng/ml) x age (years)

Figure 5. Baseline serum AMH (ng/ml) x age (<30 years old)

Figure 6. 12-month serum AMH (ng/ml) x age (< 30 years old)

Figure 7. Baseline serum AMH (ng/ml) x age (>36 years old)

Figure 8. 12-month serum AMH (ng/ml) x age (> 36 years old)

Figure 9. Variation on AFC after 1-year follow-up

Figure 10. Delta AMH x Delta AFC in 1-year follow-up

Table 1. Demographic and clinic characteristics of the study population at the time of recruitment (n=52)

	n	Mean \pm SD*	Percent
Age (years old)	52	32.5 \pm 4.5	
BMI**	52	29.9 \pm 4.8	
Menarche (years old)	52	13.0 \pm 2.8	
Menstrual cycles			
Regular	41		78.8%
Irregular	11		21.2%
Contraceptive method			
Hormonal	32		61.5%
Non-hormonal	20		38.5%
Smoking			
Yes	20		38.5%
No	32		61.5%
Surgical technique			
Laparoscopic	35		67.3%
Laparotomic	17		32.7%

*SD = standard deviation

** BMI = body mass index = weight (kg)/height²(m)

Table 2. Paired T-test comparing pre- and postsurgical (12 months) AMH and AFC

	Baseline	12 months after TL	<i>p</i> value
AMH*	1.79	2.05	0.23
AFC**	9.70	12.08	0.12

* Anti-Müllerian Hormone (values in ng/ml)

** Antral Follicle Count (in both ovaries)

Table 3. Uni and Multivariate analysis of potential ovarian reserve predictors, AMH delta and AFC delta after 1-year follow-up

Predictors	AMH delta				AFC delta			
	Univariate analysis		Multivariate analysis		Univariate analysis		Multivariate analysis	
	B coefficient	95% CI	B coefficient	95% CI	B coefficient	95% CI	B coefficient	95% CI
Use of hormonal contraceptives	1.772	0.946 : 2.597	1.762	0.88 : 2.644	0.345	-3.164 : 3.855	0.824	-3.161 : 4.808
Current smoking	0.852	-0.041 : 1.744	0.373	-0.602 : 1.348	2.317	-1.254 : 5.888	1.572	-2.834 : 5.978
Videolaparoscopic surgery	-0.077	-1.143 : 0.989	-0.489	-1.375 : 0.397	0.897	-2.797 : 4.591	0.088	-3.914 : 4.091
Age								
31-35 years vs 25-30	0.131	-1.134 : 1.397	0.083	-0.906 : 1.072	-1.933	-6.296 : 2.429	-2.253	-6.722 : 2.216
36-40 years vs 25-30	-0.238	-1.423 : 0.946	0.04	-0.872 : 0.952	-0.076	-4.160 : 4.008	-0.36	-4.483 : 3.762
BMI								
25-30 vs <25	-0.438	-1.651 : 0.775	-0.889	-1.795 : 0.017	-3.857	-7.631 : -0.084	-4.641	-8.734 : -0.548
>30 vs <25	0.099	-1.194 : 1.392	-0.769	-1.798 : 0.261	-1.403	-5.425 : 2.620	-2.159	-6.812 : 2.493

Figure 1.

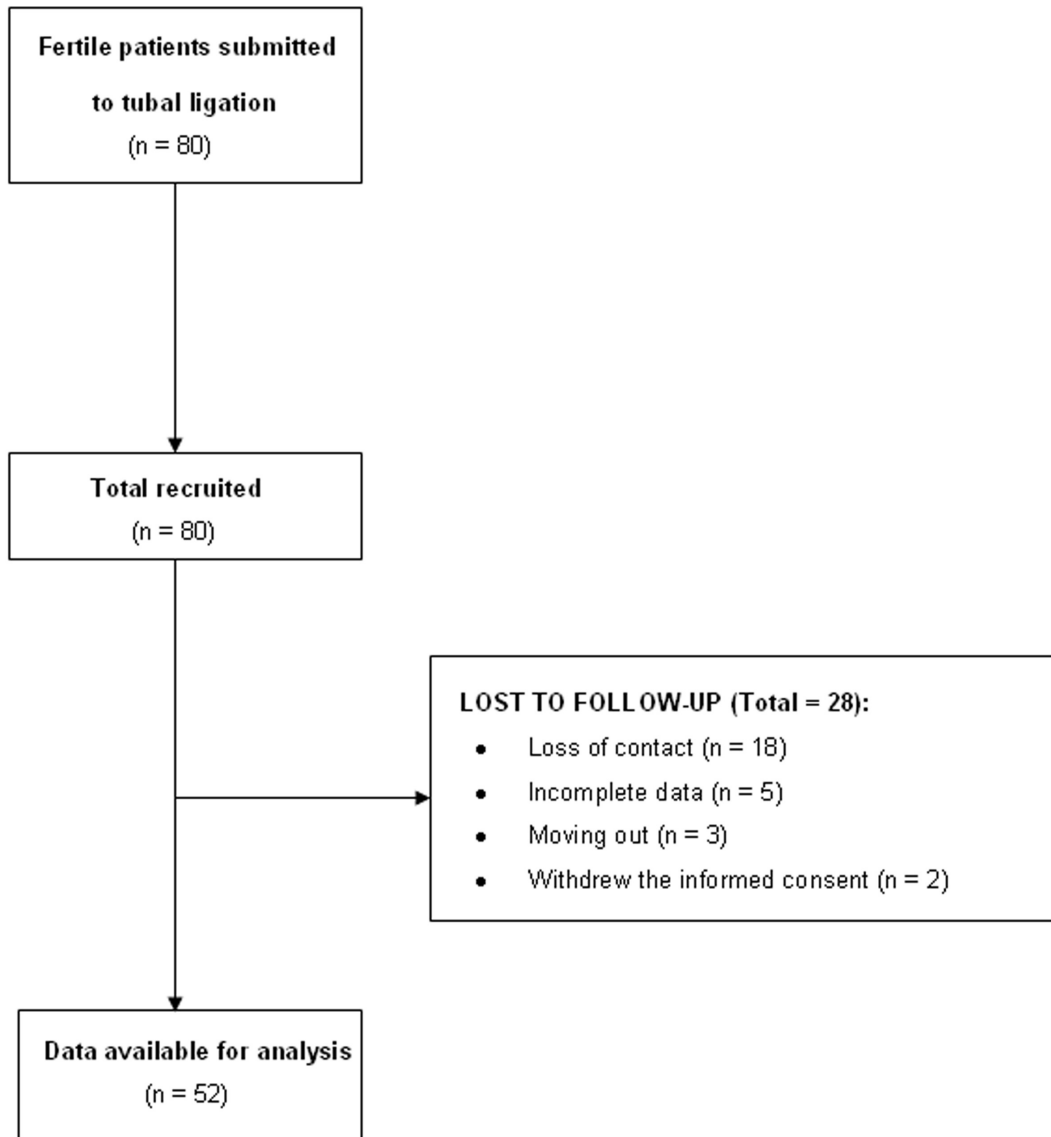


Figure 2.

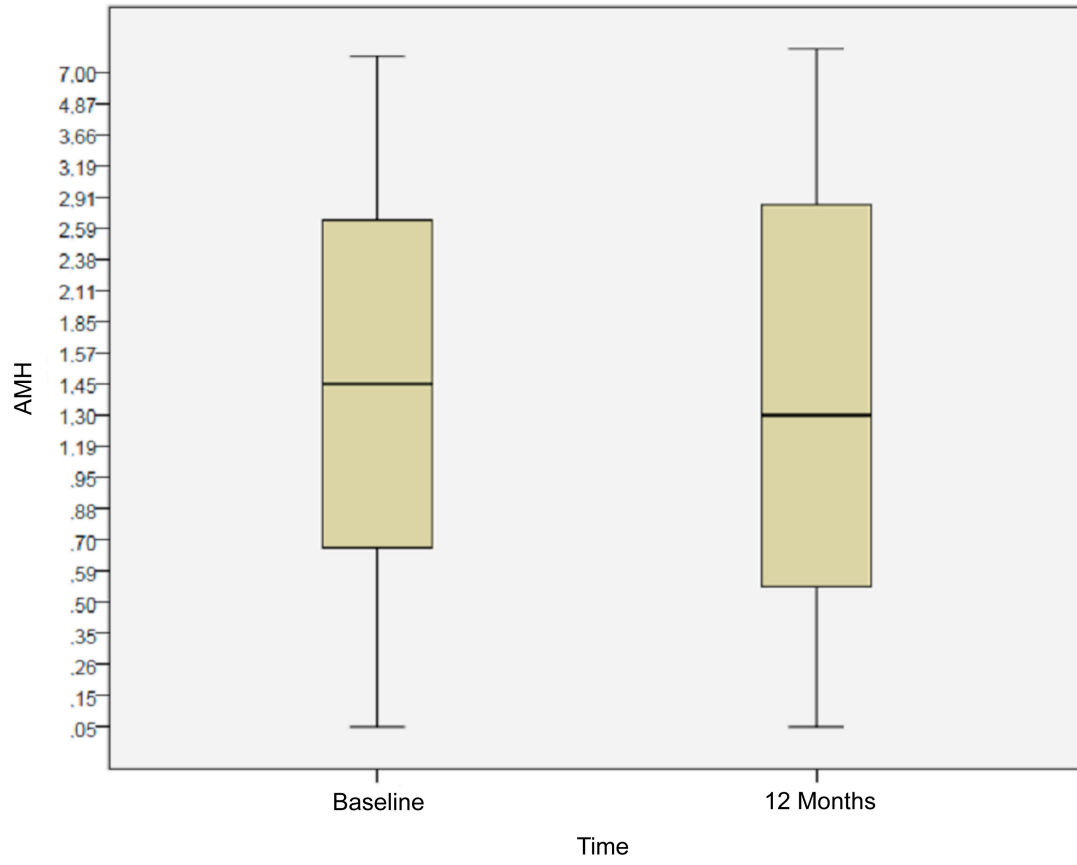


Figure 3.

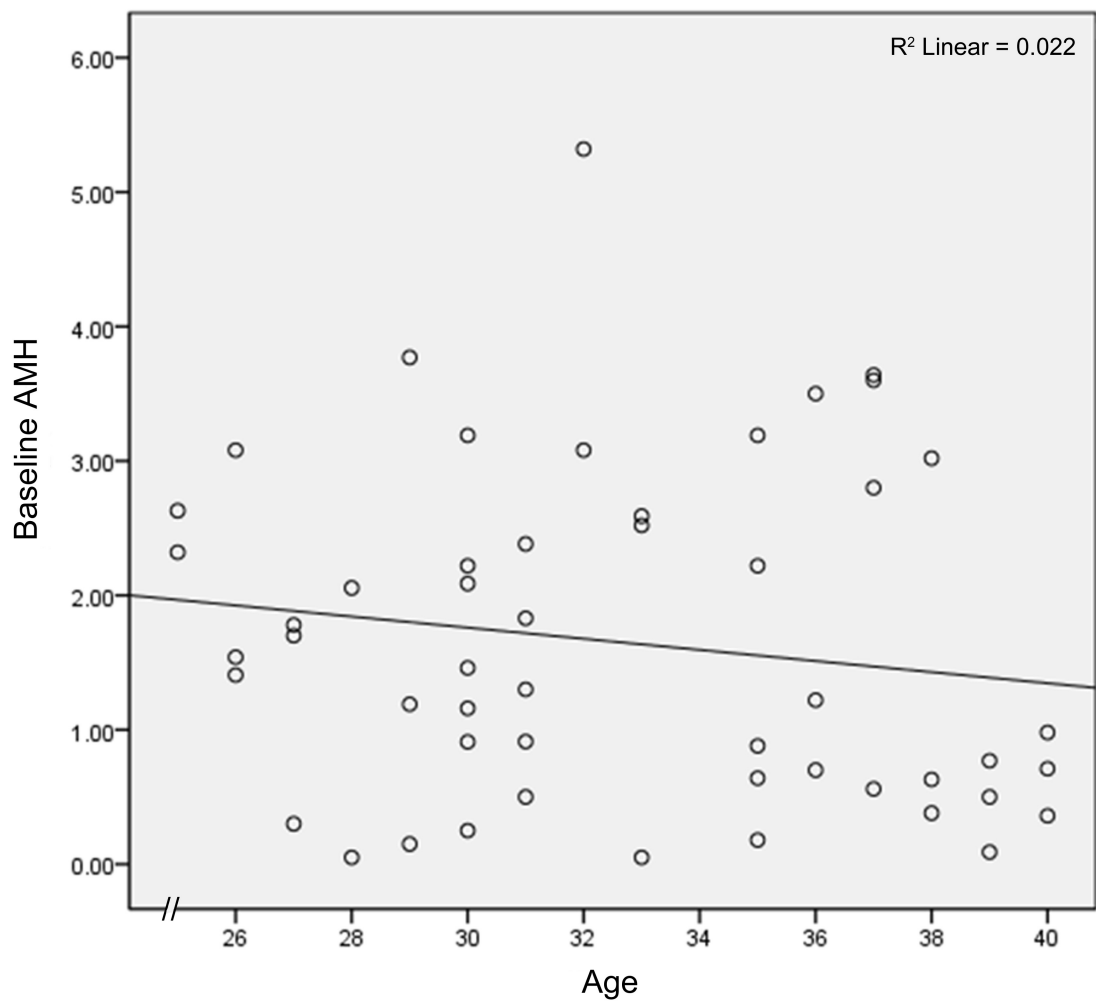


Figure 4.

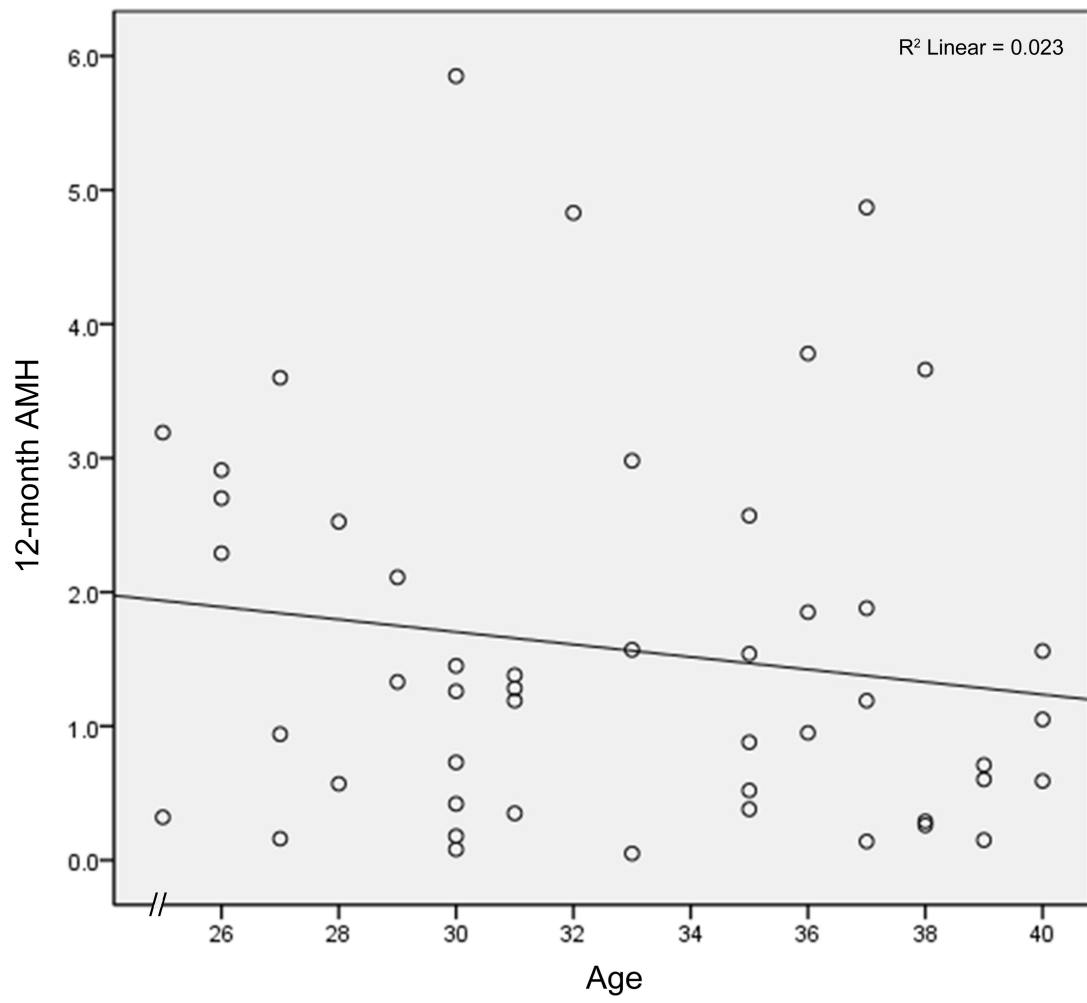


Figure 5.

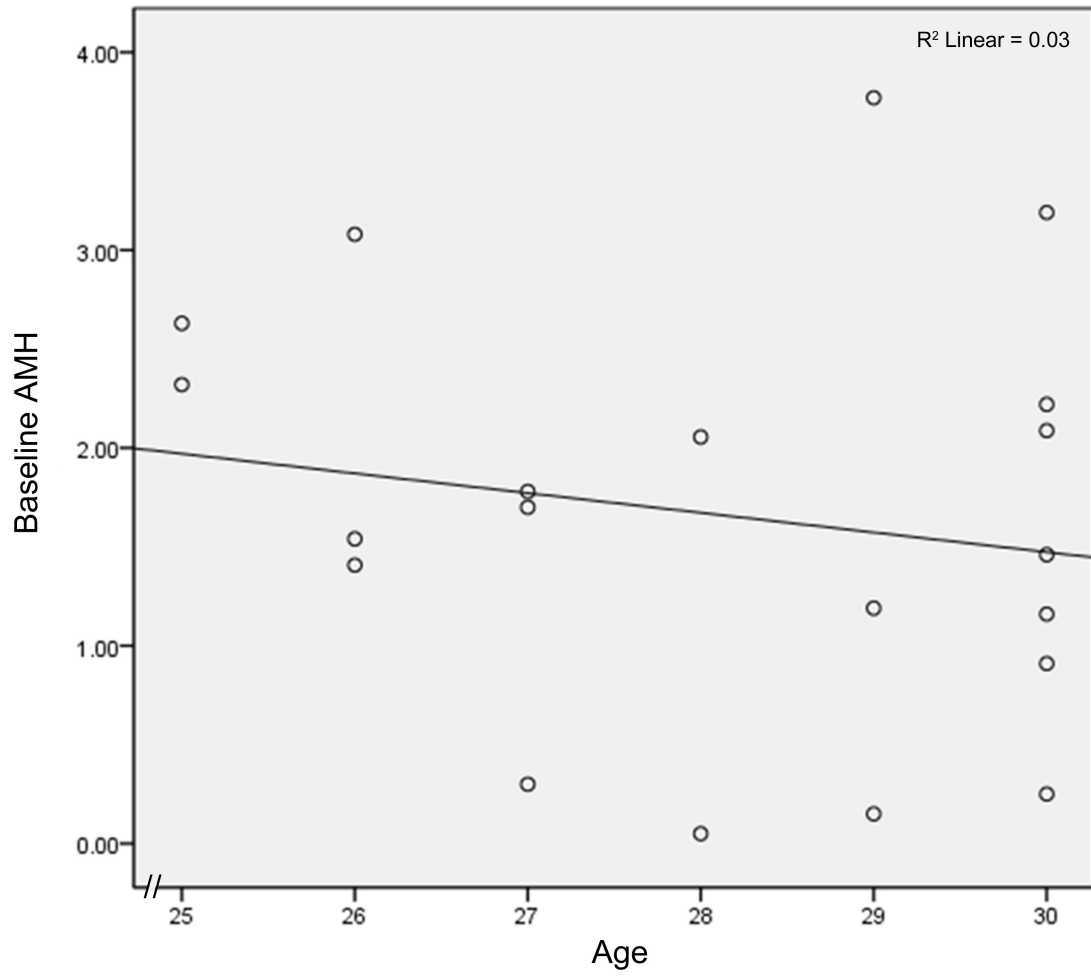


Figure 6.

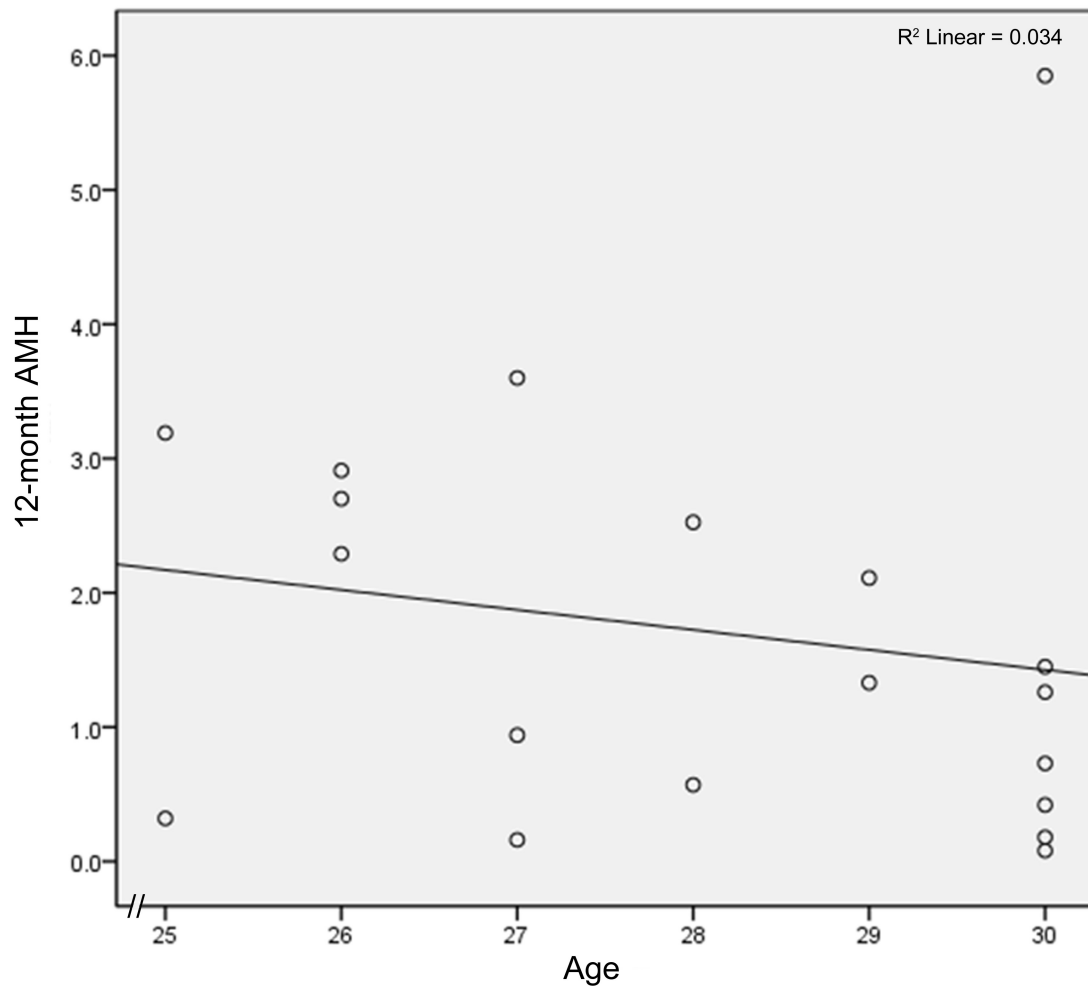


Figure 7.

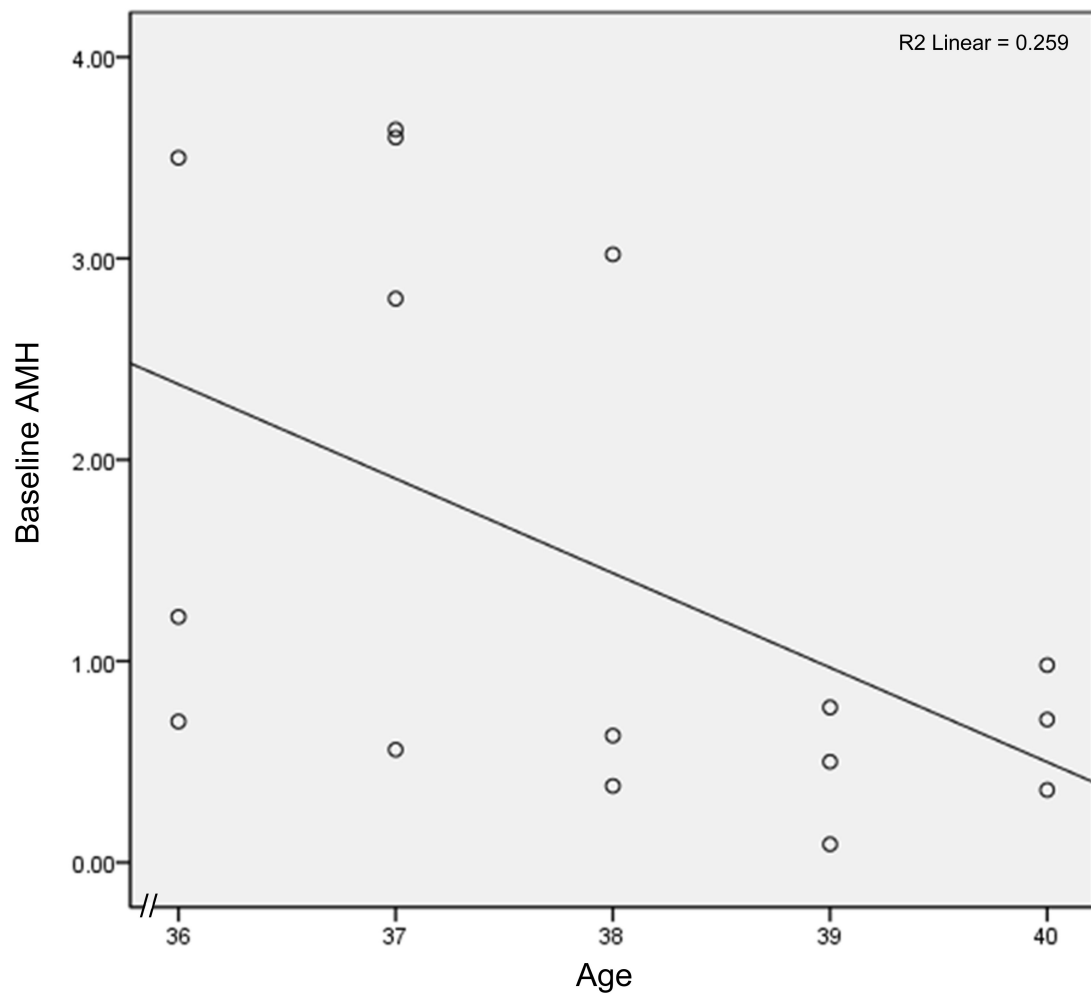


Figure 8.

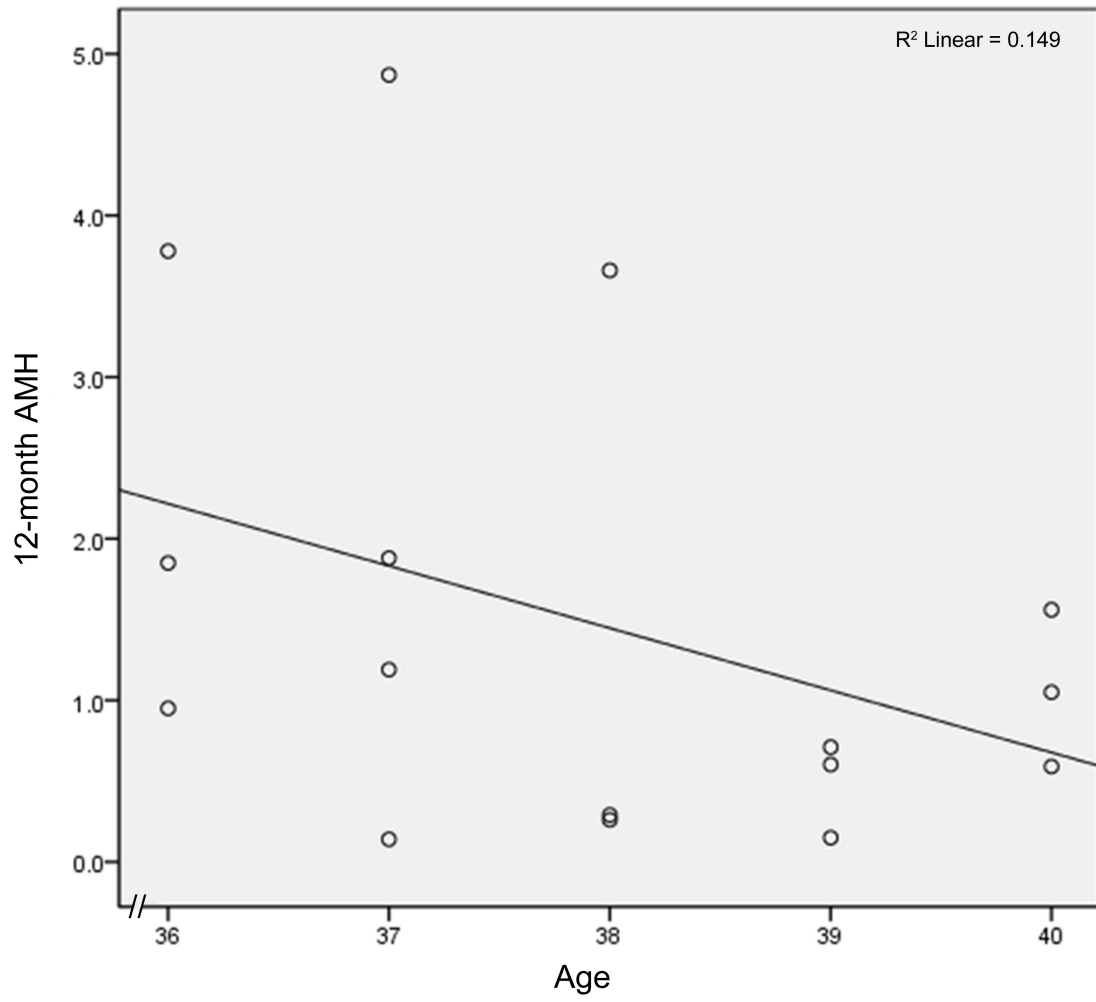


Figure 9.

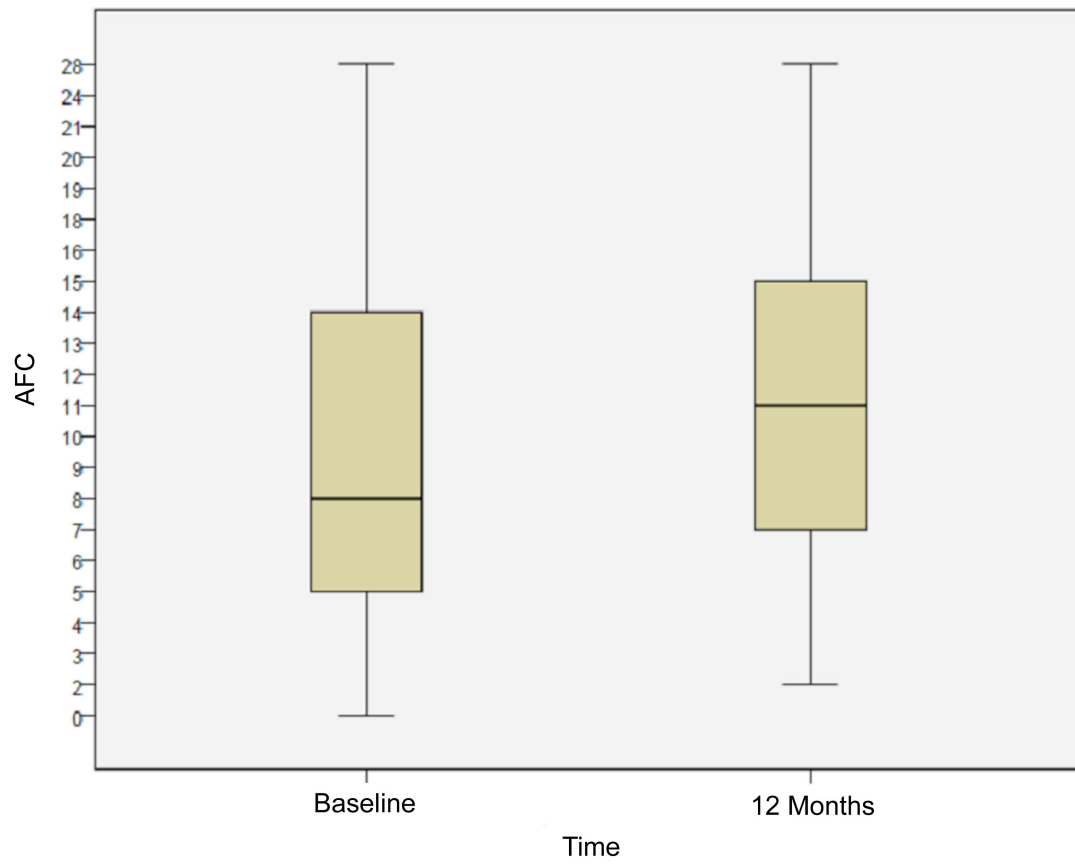
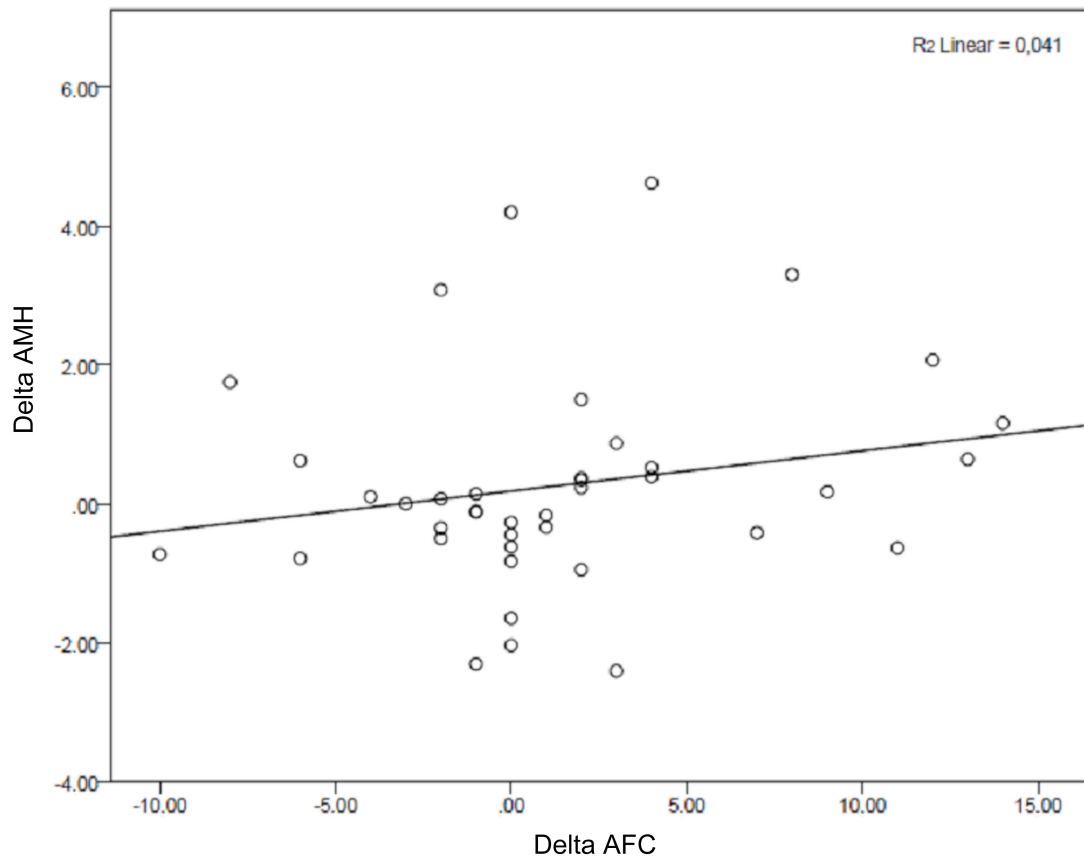


Figure 10.



6. CONCLUSÕES

Os resultados do nosso estudo mostraram que:

- 1) Um ano após a ligadura tubária (LT), a população estudada não demonstrou diferença significativa na reserva ovariana avaliada através do Hormônio Anti-Mülleriano (HAM) e da contagem de folículos antrais (CFA) à ultrassonografia transvaginal;
- 2) O uso de contraceptivos hormonais foi o único parâmetro que revelou associação significativa com a variação dos valores de HAM durante o período estudado, demonstrando um aumento desses valores após a interrupção desse método anticoncepcional, no período de seguimento de um ano;
- 3) Observa-se claramente, como descrito na literatura, valores menores de HAM sérico e da CFA à ultrassonografia transvaginal em pacientes de idade mais avançada (principalmente acima de 35 anos) em relação a mulheres mais jovens.

Em suma, nosso estudo de coorte com seguimento de um ano sugere que a LT não altera de forma significativa a função e a reserva ovarianas, suscitando dúvida a respeito da real existência de uma síndrome pós-ligadura tubária. Observou-se também aumento significativo dos valores de HAM após o período de seguimento em pacientes que usavam um método contraceptivo hormonal antes da cirurgia. Tais resultados, contudo, devem ser interpretados com cautela, e novas pesquisas

utilizando o HAM, preferencialmente com maior tempo de seguimento, serão importantes para esclarecer essa questão.

APÊNDICE 1 – Questionário pré-cirúrgico

QUESTIONÁRIO PESSOAL PRÉ-CIRÚRGICO

Nome: _____
Idade: _____ anos Prontoúrio: _____ Hospital: () HMIPV () HCPA
Endereço: _____
Telefone: _____
Endereço e telefone da mãe ou contato mais próximo: _____

Menarca: _____ anos Data de nascimento: _____
DUM: _____ Dia do ciclo (cirurgia): _____
Padrão menstrual:

Fluxo: () Fraco () Moderado () Intenso
Duração do fluxo (dias): _____
Regular (entre 21 e 35 dias) () Irregular (> 35 dias) ()
Duração do ciclo: _____

Paridade: ___ G ___ P ___ C ___ A

História obstétrica pregressa:

Método anticoncepcional (MAC) atual: _____
Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

CIRURGIA REALIZADA: _____
DATA: _____

Exames basais:

	Data	Resultado
HAM		
CFA		

APÊNDICE 2 – Questionário pós-cirúrgico

QUESTIONÁRIO PESSOAL PÓS-CIRÚRGICO

Evolução:

Padrão menstrual:

- 6 meses pós-cirúrgico: Fluxo: () Fraco () Moderado () Intenso
(DATA: / /) Regular (21 - 35 dias) () Irregular (> 35 dias) ()
Duração do fluxo (dias): _____
Duração do ciclo: _____
DUM: _____

- 12 meses pós-cirúrgico: Fluxo: () Fraco () Moderado () Intenso
(DATA: / /) Regular (21 - 35 dias) () Irregular (> 35 dias) ()
Duração do fluxo (dias): _____
Duração do ciclo: _____
Peso: _____ IMC: _____

Mudanças de ciclo:

	12 meses após (DATA: / /)
HAM	
CFA	

APÊNDICE 3 – Ficha de ultrassonografia

FICHA DE CONTROLE ULTRASSONOGRÁFICO
“Avaliação da reserva ovariana em pacientes submetidas a
Ligadura Tubária”

NOME: _____

PRONTUÁRIO: _____ HOSPITAL: _____

TELEFONES DE CONTATO: _____

DATA: _____

US TV: () Pré-cx () 12m

Ovário direito:

Volume = _____ cm³

CFA = _____

Ovário esquerdo:

Volume = _____ cm³

CFA = _____

Útero:

Volume = _____ cm³

Ultrassom realizado por: _____

OBS:
