

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DO DISPOSITIVO INTRA-UTERINO DE COBRE
(TCU 380A) NA VASCULARIZAÇÃO SUB-ENDOMETRIAL E NOS
ÍNDICES DE RESISTÊNCIA E PULSATILIDADE DAS ARTÉRIAS
UTERINAS**

Dissertação de Mestrado

MIRELA FORESTI JIMÉNEZ

Porto Alegre, 2004

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DO DISPOSITIVO INTRA-UTERINO DE COBRE
(TCU 380A) NA VASCULARIZAÇÃO SUB-ENDOMETRIAL E NOS
ÍNDICES DE RESISTÊNCIA E PULSATILIDADE DAS ARTÉRIAS
UTERINAS**

Autora: Dra. Mirela Foresti Jiménez

Orientador: Prof. Dr. João Sabino Lahorgue Cunha Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2004

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DO DISPOSITIVO INTRA-UTERINO DE COBRE
(TCU 380A) NA VASCULARIZAÇÃO SUB-ENDOMETRIAL E NOS
ÍNDICES DE RESISTÊNCIA E PULSATILIDADE DAS ARTÉRIAS
UTERINAS**

Autora: Dra. Mirela Foresti Jiménez

Orientador: Prof. Dr. João Sabino Lahorgue Cunha Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos

**Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Medicina para obtenção de Título de Mestre em Medicina.**

Porto Alegre, 2004

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. João Sabino Cunha Filho, idealizador do trabalho, pelo otimismo e qualidade profissional;

Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos, pelo estímulo, suporte e oportunidades,

Dr. Paulo Augusto Peres Fagundes, pela amizade e dedicação,

Prof. Dr. Fernando Monteiro de Freitas, pelo incentivo e exemplo profissional,

Dra. Daniela Vanessa Vetori, pela dedicação,

Prof. Dr. José Antônio Magalhães e Dr. Ricardo Palma Dias, pelo auxílio na realização do trabalho,

Prof. Dr. José Geraldo Lopes Ramos, amigo e colega, pelo estímulo para iniciar esta jornada,

Dr. Sergio Galbinski, Dr. Desidério Fuhrber e demais colegas do Hospital Fêmina, pelo apoio e oportunidades,

Dr. Carlos Augusto Bastos de Souza, pelo incentivo e amizade,

Dra. Luciana Fabian Guedes da Luz, pelo apoio,

Acadêmicas bolsistas: Juliana e Ana, pelo apoio.

Ao meu querido esposo

ROBERTO, pelo amor, compreensão e apoio constantes,

aos meus filhos

PEDRO e LAURA, pela alegria de tê-los, pela ajuda e incentivo,

aos meus pais,

ARMERI e JUREMA (em memória), pelo exemplo e estrutura,

Aos meus irmãos,

Viviane e Arthur, Taísa e Gelson e Luciano e Andréa, pela amizade e convívio.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Revisão bibliográfica.....	10
2.1. Histórico.....	10
2.2. Efetividade.....	13
2.3. Mecanismo de ação.....	15
2.4. Diu de cobre alterações endometriais.....	17
2.5. Diu e vascularização uterina.....	19
2.5.1. Dopplervelocimetria das artérias uterinas.....	20
2.5.2. <i>Power Doppler</i>	22
2.5.3 Padrão de medida do <i>power Doppler</i>	24
3. Objetivos.....	27
4. Referências bibliográficas.....	28
5. <i>Sub-endometrial power Doppler quantification: a new classification proposal</i>	37
6. Avaliação da vascularização sub-endometrial com <i>power Doppler</i> : Proposta de uma nova classificação.....	51

7. <i>The effect of the copper-intrauterine device (TCu 380A) on the sub-endometrial microvascularization and uterine artery blood flow.....</i>	67
8. Efeito do dispositivo intra-uterino de cobre (TCu 380A) na vascularização sub-endometrial e nos índices de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas.....	89
9. Conclusões.....	110
10. Perspectivas futuras.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS

DIU: dispositivo intra-uterino

IR: índice de resistência

IP: índice de pulsatilidade

DIP: doença inflamatória pélvica

DST: doença sexualmente transmissível

IGF: *insulin-like growth factor* (fator de crescimento semelhante à insulina)

ICSI: *intra-cytoplasmatic sperm injection* (injeção intracitoplasmática de espermatozóides)

DUM: data da última menstruação

RNA: *ribonucleic acid* (ácido ribonucleico)

mRNA: *reboxic nucleic acid messenger* (mensageiro do ácido ribonucleico)

1. INTRODUÇÃO

Há mais de três décadas que os Dispositivos Intra-uterinos (DIU) são usados em todo o mundo, sendo um dos métodos anticoncepcionais mais eficazes. Estudos com mais de 12 anos de seguimento mostraram taxa de gestação de 1,6% em 3 anos e taxa cumulativa de gestações de menos de 2% em 12 anos (UNDP *et al*, 1997; Kubba *et al*, 2000).

Apesar de ser um método amplamente utilizado, mais de 150 milhões de mulheres estão usando DIU, o que o torna o método reversível mais utilizado no mundo todo (UNDP *et al*, 2002), existe ainda pouco entendimento a respeito da ação bioquímica exercida sobre o endométrio (Thonneau, Goulard and Goyaux, 2001). Em estudo realizado no Brasil na cidade de Pelotas (RS), na faixa de 20 a 49 anos, 64,6% das mulheres usam algum tipo de método contraceptivo. Entre as usuárias de métodos contraceptivos, encontram-se 55,4% usando anticoncepcionais orais, 22,2% com ligadura tubária, 10,5% usuárias de preservativos e 7,7% com DIU (Dias-da-Costa *et al*, 2002).

O mecanismo do DIU baseia-se na reação de corpo estranho desencadeada pela ação do polietileno, do cobre, sais de cobre no endométrio, assim como da progesterona, o que explica seu mecanismo de ação contraceptiva (Stanford and Mikolajczyk, 2002). A reação provocada no endométrio pode modificar o fluxo menstrual. Cerca de 5 a 15% das usuárias deste método relatam aumento no sangramento menstrual, com repercussões importantes em seus hábitos de vida, levando a retirada do DIU. O sangramento menstrual aumentado é a principal causa de descontinuidade do uso de DIU (Treiman *et al*, 1995).

O endométrio é o local onde ocorre uma série de modificações resultando na possibilidade de implantação do embrião. Um melhor entendimento da ação do DIU na cavidade uterina pode ser útil não somente no entendimento do seu mecanismo de ação,

mas também no estudo da fisiologia do sangramento uterino em pacientes com DIU. É importante também a busca de um fator preditivo do sangramento uterino anormal, conseqüente à sua colocação. A identificação de quais as pacientes com maior chance de sangrar ou terem dismenorréia pode auxiliar na escolha do método contraceptivo a ser utilizado, aumentando as taxas de continuidade do uso do DIU.

A utilização da ultra-sonografia para avaliar os índices de resistência (IR) e índices de pulsatilidade (IP) das artérias uterinas tem sido investigada em usuárias de DIU (Järvelä, Tekay and Jouppila, 1998a), mostrando-se alterada em mulheres com sangramento anormal ou com dimenorréia.

A ultra-sonografia com efeito Doppler tornou-se um importante instrumento na avaliação das alterações vasculares. O *power* Doppler é uma modalidade relativamente recente de uso da tecnologia do ultra-som e tem sido usada em várias especialidades com importante potencial diagnóstico, pois permite detectar imagens de áreas com baixo fluxo, que não são identificadas pela Dopplervelocimetria (Amso *et al*, 2001). O *power* Doppler permite, desta forma, estudar a microvasculatura endometrial.

Até o presente momento, não existem estudos tentando elucidar o efeito de diferentes tipos de DIU na micro-vascularização endometrial. Não existe, ainda, uma padronização da medida de avaliação do *power* Doppler.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. HISTÓRICO

O primeiro uso do DIU, apesar de não bem documentado, é atribuído aos condutores de caravanas, que colocavam pedras no útero das camelas, para evitar que engravidassem durante as longas viagens (Thiery, 2000).

Os rudimentos dos DIU modernos foram pequenos pessários usados nos anos 1800, os quais eram estruturas semelhantes a botões que cobriam a abertura do colo uterino e eram fixos no canal cervical. Em 1902, na Alemanha, foi desenvolvido um pessário, projetado para auto-inserção, que se estendia do canal cervical até o útero, mas teve pouca aceitabilidade pelo risco de infecção pélvica grave, tendo sido logo condenado pela comunidade médica (Hollweg, 1902). Em 1909, também na Alemanha, foi relatado o uso do anel de seda que possuía um fio de níquel e bronze que saía pelo orifício cervical (Richter, 1909). Logo em seguida, o fio metálico foi substituído por *catgut*, sendo que este DIU foi muito usado na Alemanha durante a 1ª Guerra Mundial (Pust, 1923).

Ernest Gräfenberg, na Alemanha, iniciou experimentos na década de 20, retirando o pessário e o fio que comunicavam o interior do útero com a vagina, pois acreditava serem a causa da infecção. Em 1930, ele relatou suas experiências com os anéis de prata, ouro e aço, em uma publicação que se tornou clássica (Gräfenberg, 1930). Ele descrevia os procedimentos de inserção, os instrumentos e a anti-sepsia. Descrevia o procedimento como pouco doloroso e sugeria controle de temperatura axilar nos dias que se seguiam à inserção. Suas experiências descreviam o método como totalmente reversível e sem efeito carcinogênico sobre o endométrio. Considerava doença inflamatória pélvica (DIP) e doenças sexualmente transmissíveis (DST) contra-indicações para a colocação do DIU. Hoje em dia, sabemos que a DIP aguda é contra-indicação,

mas, uma vez tratada, o DIU pode ser usado (Treiman *et al*, 1995). Concluiu que o método não era 100% efetivo, apresentando um estudo de seguimento de 600 mulheres, com taxa de gestação de 1,6 mulheres/ano e sugerindo que a eficácia poderia ser aumentada com o uso de espermaticida (Gräfenberg, 1930). Os anéis de Gräfenberg tiveram curto período de uso, pois ele foi vítima do nazismo, que se opunha radicalmente à anticoncepção. Foi preso e proibido de praticar medicina no ano de 1937 (Thiery, 2000).

Somente após estudos em Israel (Oppenheiner, 1959) e no Japão (Ishihama, 1959), que o interesse nos anéis foram reconsiderados. Estudos com 1006 e 18594 inserções de DIU, respectivamente, relataram bons resultados no seguimento dos DIU de Gräfenberg. A publicação de Oppenheiner motivou muitos ginecologistas americanos a usarem os anéis e alguns a desenvolverem seus próprios modelos de DIU (Thiery, 2000).

As técnicas modificaram-se e apareceu um grande número de modelos, feitos de plástico, desenvolvido durante a 2ª Guerra Mundial. Os primeiros tipos modernos de DIU, a espiral de Margulies e a alça de Lippes, apareceram no início dos anos 60, eram feitos de Polietileno, um plástico biologicamente inerte, impregnado com sulfato de Bário, que o tornava visível ao Raio-X. A espiral de Margulies, desenvolvida por Lazer Margulies (1960) em Nova Iorque, foi o primeiro dispositivo de plástico com memória, que permitia ser moldado para a inserção e retomar a forma original no interior do útero. Era um dispositivo grande e duro que causava muita cólica e sangramento (Thiery, 2000). Em 1962, Jack Lippes apresentou suas experiências com a alça de Lippes, que tinha um filamento único saindo pelo orifício cervical (Lippes, 1962). A espiral de Margulies foi rapidamente substituída pela alça de Lippes, tornando-se o DIU mais usado nos Estados Unidos, nos anos 70 (Treiman *et al*, 1995).

Durante as décadas de 60 e 70, alguns pesquisadores (Zipper, 1969) adicionaram cobre ao dispositivo de plástico, tornando-o com maior vida útil e menos efeitos colaterais. Os primeiros tipos de DIU de cobre, o Tcu 200 e o Cu 7, tinham a mesma taxa de prevenção de gestações, mas com menos sangramento e dismenorréia que os DIU de plástico. Pensando que eles teriam que ser substituídos em poucos anos, por esgotar o cobre na liberação contínua, os pesquisadores desenvolveram uma nova geração de DIU com mais cobre, incluindo o Tcu 380A, o Tcu 220, o Nova T, o Multiload 375 e outros (Thiery, 2000). Estes novos modelos duram mais tempo e são mais eficazes. Com o objetivo de reduzir o sangramento e a dismenorréia, associada ao DIU, foi adicionada indometacina no dispositivo, para ser liberada intra-útero (Zhao *et al*, 1997). Estes modelos de DIU não estão disponíveis no nosso meio, sendo bastante utilizados na China.

Buscando uma solução alternativa para o sangramento vaginal e a cólica, relacionada ao DIU, surgiram, na década de 70, os dispositivos liberadores de hormônio. Desenvolvido em Chicago por Antonio Scommegna, o Progestasert, que libera 65 microgramas de progesterona por dia, causa atrofia do endométrio, diminuindo a dor e o sangramento. Embora seu desenvolvimento tenha sido paralelo com os avanços do DIU de cobre, o Progestasert teve seu uso pouco difundido, devido a sua curta duração de ação, validado para um ano de uso (Scommegna *et al*, 1970).

A progesterona natural foi trocada por um potente progestágeno, o levonorgestrel (Luukkainen, Lähteenmäki and Toivonen, 1990). Os filamentos de cobre do DIU Nova-T foram retirados e substituídos por um pequeno reservatório de Levonorgetrel, capaz de liberar diariamente 20 microgramas do hormônio, por um período de, pelo menos, 5 anos (Lähteenmäki, Rauramo and Backman, 2000). O produto final foi desenvolvido por Leiras Oy e comercializado na Finlândia, em 1990. A atrofia endometrial e as alterações no

muco cervical, promovidos pela ação progesterônica tornaram este tipo de DIU muito efetivo. Devido às doses baixas de Levonorgestrel liberadas na circulação, os efeitos sistêmicos da droga seriam mínimos (Thiery, 2000; Lähteenmäki, Rauramo and Backman, 2000).

2.2. EFETIVIDADE

Os resultados de um ensaio clínico são julgados com referência a duas questões: se o tratamento pode funcionar em condições ideais, que se refere à eficácia e se pode funcionar quando prescrito nas condições habituais de uso, que se refere à efetividade. O DIU é um método anticoncepcional altamente efetivo e amplamente usado no mundo todo (mais de 150 milhões de mulheres estão usando DIU). Possui taxa global de falha de 1% a 3%, que é menor que a dos anticoncepcionais orais, cuja taxa de falha, nas condições habituais de uso, é de, pelo menos, 3% (Thonneau, Goulard and Goyaux , 2001). Existem diferenças na taxa de falha entre países industrializados e em desenvolvimento, sendo de 2% e 3,45%, respectivamente (Thonneau, Goulard and Goyaux , 2001) e a taxa de gestação diminui significativamente com a idade (Castro, Albarca and Rios, 1993).

Os modelos de DIU de cobre têm, como maior diferença, a quantidade de cobre na espiral que envolve o dispositivo de polietileno e que é, geralmente, referida no número do modelo que o indica, representando a quantidade em mm² de cobre exposta.

De 1979 a 1982, a Organização Mundial de Saúde (WHO *et al*, 1990) conduziu um ensaio clínico, randomizado e multicêntrico, em 24 centros, localizados em 14 países, para avaliar a eficácia dos seguintes modelos de DIU: TCU 220C, Multiload 250, Nova T e TCU 380A. Não houve diferença significativa na taxa de gestação em 3 anos, entre o TCU

220C (1,7%) e o Multiload 250 (2,8%). A taxa de gestação observada foi significativamente maior com o Nova T, quando comparado com o TCu 220C (6,6% e 4,4%, respectivamente) em 5 anos de uso. A taxa de gestações foi significativamente menor com o TCu 380A, quando comparado com o TCu 220C: 1,0% versus 3,4% em 3 anos, 1,4% versus 4,0% em 5 anos, 1,6% versus 4,9% em 7 anos, respectivamente.

Dois modelos diferentes de DIU de cobre (TCu 375 e TCu 380A) foram testados em outro estudo randomizado e multicêntrico em 19 centros (UNDP *et al*, 1994). Houve diferença significativa na taxa de gestação em 3 anos de observação, entre 1832 mulheres com TCu 375 e 1823 mulheres com TCu380A, tendo o TCu 375 maior taxa cumulativa de gestações que o TCu 380A (2,9% versus 1,6%, respectivamente). O TCu 380A possui uma parte do cobre sob forma espiral, como os demais modelos de cobre, e outra cilíndrica, o que é responsável pelo maior tempo de duração de ação e efetividade.

Outro ensaio clínico randomizado foi conduzido em 24 países (UNDP *et al*, 1997), para avaliar a eficácia do TCu 380A e do TCu 220C. Foram recrutadas 3277 com TCu 220C e 1396 mulheres com TCu 380A e seguidas por 3, 6, 12 meses, e depois anualmente por 12 anos. No final de 12 anos, foram avaliadas 17098 mulheres-ano com o TCu 220C e 7150 mulheres-ano com o TCu 380. A taxa cumulativa de gestação, após 12 anos de seguimento foi de 7,0 por 100 mulheres para o TCu 220C e 1,9 para o TCu 380A.

O TCu 380A é também o mais efetivo quando comparado com TCu 220C, Multiload 250, Nova T, Multiload 375 (UNDP *et al*, 1997; Thonneau, Goulard and Goyaux, 2001). Foi aprovado pelo fabricante para 10 anos de uso, mas tem demonstrado manter a eficácia por, pelo menos, 12 anos (UNDP *et al*, 1997).

Um ensaio clínico randomizado comparou o DIU com levonorgestrel com o TCu 380A (1124 mulheres com DIU com levonorgestrel e 1120 mulheres com TCu 380A) e a

taxa cumulativa de gestação, após 7 anos de uso, não foi diferente entre os dois modelos de DIU (Sivin, Stern and Coutinho, 1991).

Há, portanto, na literatura, evidências suficientes para concluir que maior superfície de cobre torna o DIU mais efetivo e que o TCU 380A é o mais efetivo dos modelos de cobre.

2.3. MECANISMO DE AÇÃO DO DIU DE COBRE

O mecanismo de ação do DIU varia consideravelmente entre as diferentes espécies animais e os resultados dos estudos em animais não podem ser extrapolados para seres humanos (Stanford and Mikolajczyk, 2002). A alta efetividade deste método sugere que existam múltiplos sítios de ação (Rivera, Yacobson and Grimes, 1999).

O mecanismo de ação contraceptivo em humanos pode ser ocorrer tanto na pré-fertilização como na pós-fertilização.

Os mecanismos pré-fertilização incluem: inibição da migração e viabilidade dos espermatozoides na cérvix uterina, endométrio e trompa de falópio; retardo ou aceleração do transporte do óvulo através da trompa; e dano ou destruição do óvulo, antes da fertilização (Stanford and Mikolajczyk, 2002).

O DIU de cobre altera pouco o desenvolvimento endometrial, mas aumenta o número de leucócitos no endométrio, indicando uma reação inflamatória crônica. Na cérvix ocorrem alterações no muco cervical com todos tipos de DIU, mas a penetração dos espermatozoides não parece estar substancialmente afetada pelos modelos sem cobre ou hormônios (Hagenfeldt, Johannisson and Brenner, 1972). A progesterona, oral ou sistêmica, altera o muco cervical e inibe o transporte de espermatozoides através da cérvix uterina. No entanto, nos estudos em pacientes com longo tempo de uso do DIU

com levonorgestrel, cuja ação é localizada, principalmente, no endométrio, houve 69% de muco cervical favorável para o transporte de espermatozóides, nas pacientes que tinham ciclos ovulatórios. O DIU de cobre, no entanto, provoca concentração elevada de cobre no muco cervical, que pode inibir a motilidade dos espermatozóides. A reação provocada causa alterações celulares e bioquímicas que são tóxicas para o espermatozóide (Seleem *et al*, 1996). Vários estudos demonstraram que o DIU reduz o número de espermatozóides que atingem a cavidade uterina e tropas de Falópio. Parece, então, haver redução na capacidade de fertilizar do espermatozóide com o DIU de cobre. Entretanto, os estudos *in-vitro* são contraditórios, demonstrando que o cobre inibe a motilidade, mas não necessariamente a capacidade de fertilizar dos espermatozóides (Zielske *et al*, 1974). As evidências indicam que o DIU de cobre não inibe ovulação (Faundes *et al*, 1980). O DIU de cobre provoca maior reação inflamatória, quando comparado com o inerte ou com hormônio, o que sugere que ele tenha maior efeito espermicida no endométrio que os outros modelos (Mishell, 1998). Já o DIU com progesterona causa supressão endometrial com diminuição da espessura endometrial e do tamanho das glândulas, diminuindo a capacidade de implantação (Lähteenmäki, Rauramo and Backman, 2000).

As ações pós-fertilização do DIU de cobre são: retardo ou aceleração do transporte do embrião antes dele atingir o útero, prevenido a implantação; dano ou destruição do embrião antes de atingir a cavidade uterina; e prevenção da implantação (Stanford and Mikolajczyk, 2002). Estes efeitos são demonstrados quando o DIU é inserido até 72 horas após o coito, para prevenir gestação, parecendo ser 100% eficaz (Gottardi, Spreafico and Orchi, 1986).

Ambos os efeitos, pré e pós-fertilização, são contribuintes significativos para a eficácia clínica de todos os tipos de DIU. Os efeitos pré-fertilização são os mais

proeminentes em todos os modelos de DIU, sendo o DIU de cobre o que possui maior ação pré-fertilização (Stanford and Mikolajczyk, 2002).

2.4. DIU DE COBRE E ALTERAÇÕES ENDOMETRIAIS

É bem estabelecido que o DIU causa alterações endometriais, que dependem do tipo de dispositivo utilizado (Yin *et al*, 1993; Zhu *et al*, 1989). O DIU de cobre altera pouco o desenvolvimento endometrial, mas aumenta o número de leucócitos no endométrio, indicando uma reação inflamatória crônica. Os estudos demonstram que existem diferenças significativas entre os diferentes tipos de DIU e o efeito no epitélio endometrial (Zhu *et al*, 1989). O número de mastócitos aumenta no endométrio de usuárias de DIU, independentemente do tipo utilizado, mas é mais proeminente no DIU de cobre, quando comparado com DIU de aço inoxidável ou com DIU com levonorgestrel. Não houve diferença, no número de mastócitos, nas usuárias que têm sangramento aumentado com o uso do DIU (Yin *et al*, 1993).

Para avaliar a angiogênese no endométrio, foi pesquisada a atividade do fator VIII no endométrio em usuárias de três tipos de DIU: com cobre, com aço e com levonorgestrel. Os DIU de cobre e aço diminuem a atividade do fator VIII no endométrio. As usuárias de DIU com levonorgestrel, por outro lado, não apresentaram alterações nos níveis de fator VIII. Baixos níveis de atividade de fator VIII estão relacionados com sangramento vaginal induzido pelo DIU (Zhu *et al*, 1991). O DIU também provoca redução nas concentrações de proteínas endometriais e placentárias, refletindo uma alteração na função endometrial, provavelmente relacionada ao efeito contraceptivo (Seleem *et al*, 1996).

O DIU de cobre altera a expressão endometrial do ácido ribonucléico mensageiro das citocinas (mRNA), que podem estar relacionadas ao seu mecanismo de ação. Por outro lado, o DIU com levonorgestrel não provocou alteração significativa nas citocinas (Ammala *et al*, 1995).

Estudos de ultra-estrutura do endométrio de usuárias de diferentes tipos de DIU (cobre, aço inoxidável e com levonorgestrel) evidenciaram que todos levam a alterações que comprometem e degeneram as células endoteliais, sendo que o DIU de cobre as modifica mais do que os outros modelos (Wang *et al.*, 1990).

O DIU de cobre também provoca alteração nos marcadores de reação inflamatória endometrial, que tem sido sugerido como um dos mecanismos responsáveis pelo sangramento vaginal aumentado pós-inserção. O DIU de cobre, liberador de indometacina, foi projetado com o objetivo de diminuir sangramento, através da ação anti-inflamatória local. A análise dos marcadores de reação inflamatória, em usuárias de DIU liberador de indometacina, mostrou não haver modificação nos marcadores de reação inflamatória, quando comparado com os níveis encontrados antes da inserção. Entretanto, as usuárias deste tipo de dispositivo tiveram redução do sangramento desencadeado pela inserção do DIU, o que sugere que a reação inflamatória é contribuinte importante para o sangramento e que a ação anti-inflamatória é efetiva no alívio dos para-efeitos (Zhao *et al*, 1997).

O aparecimento súbito de um tipo de integrina (α -v- β -3), no 20° dia do ciclo, é coincidente com o início da janela de implantação, enquanto que o desaparecimento da subunidade α -4 no 24° dia do ciclo, representa o fechamento da janela de implantação. A expressão conjunta das integrinas correlaciona-se com o período de implantação (20° ao 24° dias do ciclo) (Lessey *et al*, 1994). Pela sua expressão e relação temporal com o

período de implantação e pela sua ausência em condições relacionados com a infertilidade, as integrinas provavelmente têm papel importante como marcadores da receptividade uterina (Lessey *et al*, 1994). Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de integrina α -4- β -1 e α -v- β -3, no epitélio glandular e luminal endometrial, em usuárias de DIU de cobre (TCu 200), quando comparadas com mulheres normais e férteis (Savaris, Zettler and Ferrari, 2000). Por outro lado, foi observada diferença significativa no percentual de amostras negativas de integrina α -v- β -3 no endométrio de usuárias de DIU (Savaris, Zettler and Ferrari, 2000). A expressão negativa da integrina α -v- β -3 nas glândulas endometriais em 38,5% das usuárias de DIU sugere que o DIU de cobre possa atuar no sítio de implantação. Entretanto, as alterações nos níveis de integrina não devem ser o único mecanismo de ação do DIU de cobre, já que apenas 38,5% das usuárias de DIU tinham níveis reduzidos de integrina, o que não explica toda a sua alta efetividade. Portanto, o DIU tem múltiplos mecanismos de ação (Stanford and Mikolajczyk, 2002), incluindo, também, alterações na receptividade uterina (Savaris, Zettler and Ferrari, 2000). Estudos in-vitro demonstraram resultados contrários: um aumento de duas vezes na integrina beta-3 em usuárias de DIU. Estes resultados sugerem que as alterações hormonais e interações parácrinas no endométrio de usuárias de DIU não são reproduzíveis in-vitro e que o processo de reação inflamatória e liberação de citocinas devem ter um efeito regulador da expressão das integrinas (Savaris and Chies, 2003).

2.5. DIU E VASCULARIZAÇÃO UTERINA

A técnica de ultra-sonografia tem passado por alterações importantes desde a sua inserção como auxiliar diagnóstico na medicina, há três décadas. Os avanços

tecnológicos na eletrônica e na computação revolucionaram a prática da ultra-sonografia e ampliaram as aplicações. Os estudos com Doppler foram ampliados e técnicas de avaliação da micro-circulação foram desenvolvidas (Harvey *et al*, 2002)

A reação provocada pelo DIU de cobre no endométrio pode modificar o fluxo menstrual e causar dismenorréia. Cerca de 5 a 15% das usuárias deste método relatam aumento no sangramento menstrual, com repercussões importantes em seus hábitos de vida, levando a retirada do DIU (Treiman *et al*, 1995). Sendo que a taxa de remoção médica do DIU varia de 6% a 20% (Treiman *et al*, 1995; UNDP *et al*, 1997) e o sangramento menstrual aumentado é a principal causa de descontinuidade (Mishell, 1998), acredita-se que este para-efeito possa ser causado pelo aumento da secreção uterina de prostaglandinas, o que levaria à atividade uterina anormal (Dawood, 1993) e vasoconstrição das arteríolas miometriais e endometriais (Nygren and Rybo, 1983). Os estudos, de fato, evidenciaram que a produção de prostaglandinas parece estar aumentada, pelo menos temporariamente, no endométrio após inserção do DIU (Green and Hagenfeldt, 1975; Hillier and Kasonde, 1976). Também podemos estudar o efeito do DIU na vascularização uterina através da Dopplervelocimetria de artérias uterinas e do estudo da vascularização sub-endometrial com a técnica de *power* Doppler.

2.5.1. DOPPLERVELOCIMETRIA DAS ARTÉRIAS UTERINAS

A ultra-sonografia é uma das técnicas diagnósticas auxiliares mais utilizadas em ginecologia. A Dopplervelocimetria colorida transvaginal ou abdominal permite o estudo do fluxo sangüíneo das artérias uterinas e possui capacidade diagnóstica superior à simples interpretação de imagens ecográficas.

Foi encontrado, em estudos com Doppler colorido, que existem alterações no fluxo uterino durante o ciclo menstrual (Steer, 1990: Sladkevicius, 1993). A resistência ao fluxo sanguíneo das artérias uterinas é diminuída na fase lútea média (Steer, 1990) e tardia (Sladkevicius, 1993), o que, provavelmente, indica um aumento de fluxo uterino no período de implantação do blastocisto (Steer, 1990: Sladkevicius, 1993). O maior índice de resistência em artéria uterina é no primeiro dia de menstruação e é maior em pacientes com dismenorréia (Sladkevicius, 1994), indicando que a diminuição de fluxo sanguíneo está envolvida na fisiopatologia da dismenorréia (Dawood, 1993). O uso de anti-inflamatórios não esteróides (nimesulide e naproxeno) levam a um rápido decréscimo na resistência de artéria uterina em pacientes com dismenorréia, aproximando-se dos valores das mulheres sem dismenorréia (Pirhonen and Pulkkinen, 1995). No entanto, a resistência das artérias uterinas durante a menstruação foi significativamente menor em mulheres que usam DIU e têm sangramento aumentado, que naquelas que usam DIU e não apresentam sangramento aumentado. Indicando um aumento na perfusão uterina, naquelas pacientes que apresentam sangramento uterino aumentado após a colocação do DIU (Momtaz *et al*, 1994).

Outros autores (Järvelä, Tekay and Jouppila, 1998a), realizaram avaliação do efeito do DIU de cobre no fluxo arterial uterino no meio da fase lútea e no primeiro dia do fluxo menstrual, com Dopplervelocimetria, antes da inserção do DIU de cobre e três meses depois. Não houve alterações no fluxo das artérias uterinas após a inserção do DIU de cobre. No entanto, em pacientes que apresentaram dismenorréia relacionada ao DIU houve redução no índice de pulsatilidade. Os autores concluíram que o DIU de cobre não leva a maiores alterações na resistência da artéria uterina, embora, durante a menstruação, em pacientes com dismenorréia após a inserção do DIU, parece haver diminuição no índice de pulsatilidade da artéria uterina. Foi observado que a alteração nos

índices de pulsatilidade já existia, mesmo antes da inserção do DIU, nas pacientes que apresentaram dismenorréia, o que sugere que existam alterações uterinas que tornam a paciente mais propensa a desenvolver este para-efeito (dismenorréia). Em outra publicação, os mesmos autores, avaliaram o efeito do diclofenaco no índice de resistência de artérias uterinas, durante a menstruação, em mulheres com e sem DIU de cobre. Observaram que o diclofenaco foi efetivo em aliviar a dismenorréia de mulheres com e sem DIU. Não houve diferença significativa na Dopplervelocimetria de usuárias de DIU, que apresentaram dismenorréia e utilizaram o diclofenaco, sugerindo que o DIU deve induzir a produção de outros agentes vasoativos, diferentes das prostaglandinas (Järvelä, Tekay and Jouppila, 1998b).

Os estudos com Doppler analisando alterações hemodinâmicas do DIU com Levonorgestrel concluíram que ele aumenta a impedância do fluxo sanguíneo nas artérias uterinas durante a fase lútea média, correlacionada com a concentração sérica de Levonorgestrel e concomitantemente com declínio da concentração sérica de progesterona (Järvelä, Tekay and Jouppila, 1998c).

2.5.2. POWER DOPPLER

A Dopplervelocimetria no endométrio foi usada, sugerindo que a ausência de vascularização sub-endometrial está associada com a falha na implantação de embriões em fertilização in-vitro. No entanto, a sensibilidade da Dopplervelocimetria é limitada, porque tem um sinal de captação muito fraco no endométrio (Zaidi *et al*, 1996).

O *power Doppler* é uma modalidade relativamente recente de uso da tecnologia do ultra-som e tem sido usada em várias especialidades e com importante potencial

diagnóstico e prognóstico. O efeito *power* Doppler resulta da refração da onda de ultrassom das hemácias das artérias, arteríolas e vênulas permitindo detectar imagens de áreas com baixo fluxo, que não são identificadas pela Dopplervelocimetria (Rubin *et al*, 1994). Possui a vantagem, quando comparado ao Doppler tradicional, de não depender do ângulo. Os ruídos de fundo, que podem representar dificuldade na avaliação do Doppler tradicional, são facilmente diferenciados do fluxo normal, quando o *power* Doppler é utilizado (Amso *et al*, 2001). O *power* Doppler aumenta a sensibilidade e pode ser empregado para detectar imagens em áreas de baixo fluxo, que não são captadas pelo Doppler convencional, como as áreas da micro-vasculatura renal, do testículo (Floresta *et al*, 1998), hepática, ovariana (Kupesic and Kurlac, 2002) e endometrial (Yang *et al*, 1999), entre outras áreas de interesse.

O estudo da vascularização sub-endometrial, com *power* Doppler, pode servir como indicativo da receptividade endometrial para implantação de embriões, em conjunto com a espessura endometrial (Yang *et al*, 1999). Mulheres com adequada espessura endometrial, mas com reduzida vascularização sub-endometrial, têm piores resultados na implantação dos embriões, quando submetidas à fertilização *in-vitro* (Yang *et al*, 1999).

A avaliação da micro-vascularização endometrial com o *power* Doppler também foi estudada, com o objetivo de estabelecer parâmetro para o prognóstico de implantação de embrião em pacientes submetidas à injeção intra-citoplasmática de espermatozoides (ICSI). A taxa de implantação não foi diferente nos grupos, sendo que os dados demonstram que a avaliação isolada da vascularização sub-endometrial não parece ser um fator prognóstico de gestação em programas de fertilização (Contart *et al*, 2000). O mesmo grupo idealizou um escore contendo 7 parâmetros, que incluíam o *power* Doppler e também falhou em estabelecer um fator prognóstico para implantação (Baruffi *et al*, 2002).

Contudo, a avaliação da micro-circulação sub-endometrial pelo do *power* Doppler ainda não foi realizada em usuárias de DIU.

2.5.3. PADRÃO DE MEDIDA DO *POWER* DOPPLER

O *power* Doppler é uma modalidade nova de avaliação que permite uma avaliação mais precisa da micro-circulação, mas ainda não possui um padrão de medida bem estabelecido. A quantificação do *power* Doppler tem sido, recentemente, objeto de interesse e varia de métodos subjetivos a técnicas quantitativas (Bhal *et al*, 1999; Yang *et al*, 1999; Contart *et al*, 2000; Amso *et al*, 2001).

O estudo da relação entre a vascularização peri-folicular e o resultado de fertilização in-vitro foi avaliado num estudo prospectivo utilizando uma classificação subjetiva de percentual de área da circunferência folicular com o sinal do *power* Doppler. Folículos com maior perfusão estão associados com melhores resultados na fertilização (Bhal *et al*, 1999).

Outros autores estudaram a vascularização sub-endometrial, com *power* Doppler (Contart *et al*, 2000), com o objetivo de estabelecer um parâmetro de prognóstico para implantação de embriões em pacientes submetidas a ICSI. O endométrio foi dividido em 4 quadrantes iguais, classificado em grau 1, 2, 3 e 4, de acordo com a visualização do sinal de *power* Doppler no quadrante, sendo que o sinal do *power* Doppler foi considerado positivo quando atingia, pelo menos, a camada basal do endométrio. A espessura endometrial e os índices pulsatilidade foram iguais para os quatro graus. Os resultados demonstraram que a avaliação isolada da vascularização endometrial não foi um fator preditivo importante para implantação de embriões. O mesmo grupo de pesquisadores

(Baruffi *et al*, 2002), idealizou um escore uterino ultra-sonográfico, utilizando 7 parâmetros, com o objetivo de estabelecer fatores prognósticos para implantação de embrião. Também não foi capaz de identificar a população com maior receptividade uterina para implantação de embriões em pacientes submetidas à ICSI.

Outro autor realizou um estudo que transformou o sinal do *power* Doppler em uma medida contínua, através de um programa de computação que calcula a área de captação do sinal (Amso *et al*, 2001). Na avaliação do ovário e do endométrio, houve pequena variação intra-observadores e inter-observadores, e a variação foi aceitável para estruturas pequenas como o folículo. Programas de computador, que medem a área de captação do *power* Doppler, também foram utilizados, em associação com a espessura endometrial, sendo que os autores concluíram que a medida da área de captação do *power* Doppler serviu como um fator prognóstico da receptividade endometrial para implantação (Yang *et al*, 1999). Outro autor estudou o *power* Doppler associado à ultrasonografia tri-dimensional (3-D), demonstrando haver pouca variabilidade inter e intra-observadores, utilizando programas de computador que calculam a área (Järvelä, *et al*, 2003).

Entretanto, as técnicas, que transformam a medida categórica numa medida quantitativa, facilitam as comparações, mas possuem um custo elevado e não estão disponíveis no nosso meio. Estes últimos autores não tiveram seus resultados repetidos, provavelmente, pelos motivos acima expostos.

Os resultados conflitantes dos diferentes estudos levam a novos estudos e busca de uma classificação simples e reproduzível para o *power* Doppler, porque é necessário poder avaliar a micro-circulação nos diferentes órgãos, principalmente na nossa área de

atuação, reprodução humana, onde as modificações no fluxo sanguíneo são tão evidentes e importantes ao longo o ciclo menstrual.

Um melhor entendimento da ação do DIU na cavidade uterina pode ser útil na prevenção e tratamento do sangramento. O entendimento da fisiopatologia da ação do DIU pode auxiliar na busca de um fator preditivo do sangramento uterino anormal, conseqüente à sua colocação. A identificação, de quais pacientes tem maior chance de sangrar ou de apresentarem dismenorréia, pode auxiliar na escolha do método contraceptivo a ser utilizado e, conseqüentemente, aumentar as taxas de continuidade do uso do DIU.

Não existe, ainda, nenhum estudo avaliando a micro-circulação endometrial em usuárias de DIU, com o uso do *power* Doppler. A avaliação da micro-circulação endometrial e das modificações de fluxo de artérias uterinas podem nos ajudar a esclarecer o mecanismo de ação e a causa da alteração no padrão de sangramento pós-inserção de DIU, por estes motivos propusemos os seguintes estudos.

3. OBJETIVOS

PRINCIPAL:

Avaliar o efeito do dispositivo intra-uterino de cobre (TCu 380A) na vascularização sub-endometrial e nos índices de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas.

SECUNDÁRIOS:

1. Propor uma classificação para avaliação da micro-vasculatura sub-endometrial utilizando o *power Doppler* em mulheres férteis.
2. Descrever as alterações na vascularização sub-endometrial e dos índices de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas em usuárias de dispositivo intra-uterino de cobre (TCu 380A), que apresentam aumento de sangramento uterino ou dismenorréia.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ammala M., Nyman T., Strengell L., Rutanen E. M. (1995) Effect of intrauterine contraceptive devices on cytokine messenger ribonucleic acid expression in the human endometrium. *Fertil. Steril.*, 63: 773-8.

Amso N. A., *et al* (2001) Quantification of power doppler energy and its future potencial. *Fertil. Steril.*, 76 (3): 583-587.

Baruffi R. L. Contart P., Mauri A. L., Petersen C., Felipe V. Gabriellini E., Franco Junior J. G. (2002) A uterine ultrasonographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 19 (3): 99-102.

Bhal P. S., Pugh N., Chui D., Gregory L., Walker S. M., Shaw R. W. (1999) The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum. Reprod.*, 14: 939-45.

Castro A., Abarca L., Rios M. (1993) The clinical performance of the Multiload IUD. I. The influence of age. *Adv. Contracep.*, 9:291-8.

Contart P., Baruffi R. L., Coelho J., Mauri A. L., Petersen C., Franco Junior J. G. (2000) Power Doppler endometrial evaluation as a method for the prognosis of embryo implantation in an ICSI program. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 17 (6): 328-4.

Dawood M. Y. (1993) Nonsteroidal antiinflammatory drugs and reproduction. *Am J. Obstet. Gynecol.*, 57 (1255-65).

Dias-da-Costa J. S., Gigante D. P., Menezes A. M. B., Olintp M. T. A., Macedo S., Britto M. A. P. and Fuchs S. C. (2002) Uso de métodos anticoncepcionais e adequação de

contraceptivos hormonais orais na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: 1992-1999. *Caderno de Saúde Pública*, 18 (1); 2002.

Faundes A., Segal S. J., Adejuwon C. A., Brache V., Leon P. and Alvarez-Sanchez F. (1980) The menstrual cycle in women using an intrauterine device. *Fertil. Steril.*, 34: 427-30.

Floresta C. Garolla A. Bettella A., Ferlim A., Rossato M. and Candiani F. (1998) Doppler ultrasound of the testis in azoospermic subjects as a parameter of testicular function. *Hum. Reprod.*, 13 (11): 3090-3.

Gottardi G., Spreafico A. and Orchi L. (1986) The postcoital IUD as an effective continuing contraceptive method. *Contraception*, 34: 549-58.

Gräfenberg E. (1930) An intrauterine contraceptive method. In: Sanger M., Stone H. M., eds. *The Practice of Contraception*. (Proceedings of the 7th International Birth Control Conference). Baltimore: Williams & Wilkins, 33-47.

Green K. and Hagenfeldt K. (1975) Prostaglandins in the human endometrium. Gas chromatographic-mass spectrometric quantification before and after IUD insertion. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122: 611-4.

Hagenfeldt K., Johannisson E. and Brenner P. (1972) Intrauterine contraception with copper-T device: effect upon endometrial morphology. *Contraception*, 6: 207-18.

Harvey C. J., Pilcher J. M., Eckersley R. J., Bromlley M. J. K. and Cosgrove D. O. (2002) *Advances in ultrasound. Clin. Radiol.*, 57: 157-77.

Hillier K. and Kasonde J. M. (1976) Prostaglandins E and F concentration in human endometrium after insertion of intrauterine contraceptive device. *Lancet*, I: 15-6.

Hollweg C. (1902) Ueber intrauterinpressarien. *Therapeutische Monatshefte.*, 16:463-6.

Ishihama A. (1959) Clinical studies on intrauterine rings, specially the present state of contraception in Japan and the experiences in the use of intrauterine rings. *Yokohama Med. Bull.*, 10: 89-105.

Järvelä I., Sladkevicius P., Tekay A. H., Campbell S. and Nargund G. (2003) Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and colour flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 21 (3): 277-82.

Järvelä I. Tekay A., Jouppila P. (1998a) The Effects of a Copper-intrauterine Devices on the Uterine Artery Blood Flow in Regularly Menstruating Women. *Hum. Reprod.*, 13(7): 1841-1845.

Järvelä I. Tekay A., Jouppila P. (1998b) The Effects of Diclofenac on Uterine Artery Blood Flow Resistance During Menstruation in Patientes With and Without a Copper Intrauterine Devices. *Hum. Reprod.*, 13 (9): 2480-2483.

Järvelä I. Tekay A., Jouppila P. (1998c) The Effects of a Levonorgestrel-releasing Intrauterine System on Uterine Artery Blood Flow, Hormone Concentrations and Ovarian Cyst Formation in Fertile Women. *Hum. Reprod.*, 13 (12): 3379-3383.

Kubba A., Guillebaud J., Anderson R. A. and McGregor E. A. (2000) Contraception. *The Lancet*, 356:1913-9.

Kupesic S. and Kurlak A. (2002) Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum. Reprod.*, 17 (4): 950-5.

Lähteenmäki P., Rauramo I. and Backman T. (2000) The levonorgestrel intrauterine system in contraception. *Steroids*, 65: 693-7.

Lessey B. A. *et al* (1994) Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil. Steril.*, 62: 497-506.

Lippes J. (1962) A study of intra-uterine contraception: development of a plastic loop. Tietze C., Lewit S., eds. Intrauterine contraceptive devices. Amsterdam: *Excerpta Medica*, 69-75.

Luukkainen T., Lähteenmäki P., Toivonen J. (1990) Levonorgestrel-releasing intrauterine device. *Ann Med.*, 22: 85-90.

Mishell D. R. Jr. (1998) Intrauterine device: mechanisms of action, safety and efficacy. *Contraception*, 58: 45S-53S.

Momtaz M. Zayed M. Rashid K. *et al* (1994) Doppler study of the uterine artery in patients using an intrauterine contraceptive device. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 4: (231-4).

Nygren K. G. and Rybo G. (1983) Prostaglandin and menorrhagia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 113: 101s-3s.

Oppenheimer W. (1959) Prevention of pregnancy by Gräfenberg ring method: a re-evaluation after 28 years' experience. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 78: 446-54.

Pirhonen J. & Pulkkinen M. (1995) The effect of nimesulide and naproxen on the uterine and ovary arterial blood flow velocity. A Doppler study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 74 (7): 549-53.

Pust K. (1923) Ein brauchbarer frauenschutz. *Deutsche Med. Wochenschrift*, 49:952.

Richter R. (1909) Ein mittel zur verhütung der konzeption. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 35: 1525-7.

Rivera R., Yacobson I. and Grimes D. (1999) The mechanism of action of hormonal contraceptives and intrauterine contraceptives devices. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 181 (5); 1263-9.

Rubin J. M., Bude R. O., Carlson P. L., Bree R. L. and Adler R. S. (1994) Power Doppler US: a potencial useful alternative to mean frequency-based color doppler US. *Radology.*, 190: 853-6.

Savaris R., Zettler C. G., Ferrari A. N. (2000) Expression of alpha-4beta-1 and alpha-v-beta3 integrins in the endometrium of women using the T200 copper intrauterine device. *Fertil. Steril.*, 74 (6): 1102-7.

Savaris R., Chies J. A. B. (2003) Copper ions dynamically regulate beta 3 integrin subunit espression in Ishkawa cells. *Contraception*. 2003; 67: 247-9.

Selemm S., Hills F. A., Salem H. T., El-Nashar E. M. and Chard T. (1996) Mechanism of action of the intrauterine device: evidence of a specific biochemical deficiency in the endometrium. *Hum. Reprod.*; 11: 1220-2.

Scommegna A., Pandya G. N., Christ M., Lee A. W. and Cohen M. R. (1970) Intrauterine administration of progesterone by a slow-release device. *Fertil. Steril.*, 21: 201-10.

Sivin I., Stern J. and Coutinho E. (1991) Prolonged intrauterine contraception: a seven-year randomized study of the levonorgestrel 20mcg/day (LNg20) and the copper T380 Ag IUDs. *Contraception.*, 44: 473-80.

Sladkevicius P., Valentin L. and Marshal K. (1993) Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 3: 199-208.

Sladkevicius P., Valentin L. and Marshal K. (1994) Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 4: 421-7.

Stanford J. B. and Mikolajczyk R. T. (2002) Mechanisms of action of intrauterine device: update and estimation of postfertilization effects. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 187 (6)1699-708.

Steer C. V. *et al* (1990) Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. *Hum. Reprod.*, 5: 391-5.

Thiery M. (2000) Intrauterine contraception: from silver ring to intrauterine contraceptive implant. *European Journal of Obstetric & Gynecology and Reproductive Biology* , 90:145-152.

Thonneau P., Goulard H., Goyaux N. (2001) Risk factors for intrauterine device failure: a review. *Contraception*, 64: 33-7.

Treiman K., Liskin L. Kols A., and Rinehart W. (1995) An Update. *Popul. Rep.* Baltimore Johns Hopkins University School of Public Health, *Population Information Program*, B, n° 6: 1-35.

UNDP/UNPF/WHO/World Bank, Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction: IUD Research Group (1994) A randomized multicentre trial of the multiload 375 and TCu 380A in parous women: three-year results. *Contraception*, 49:543-9.

UNDP/UNPF/WHO/World Bank, Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction (HRP) (2002) The intrauterine device (IUD) - worth singing about. *Progress in Health Research*, 60:1-8.

United Nations Development Programme/United Nations Population Fund/World Health Organization/World Bank, Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction (1997) Long-term reversible contraception. Twelve years of experience with the Tcu380A and Tcu220C. *Contraception*, 56: 341-352.

Wang J. D., Zhu P. D., Cheng J., Luo H. Z., Xu R. H. and Hu W. W. (1990) Ultrastructural comparative study on endometrium of Chinese women using intrauterine devices of stainless steel ring, copper T220 and releasing levonorgestrel: morphometry of microvessels. *Contraception*, 41 (4): 389-97.

WHO Special Programme of Research, Development, and Research Training in Human Reproduction: Task Force on the Safety, and Efficacy of Fertility and Regulating Methods (1990) The TCu 380A, TCu 220C, Multiload 250, and Nova T IUDs at 3, 5, and 7 years of use- results from the three randomized multicentre trials. *Contraception*, 42:141-58.

Yang J. H., Wu M. Y., Chen C. D., Jiang M. C., Yang Y. S. (1999) Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 14: 1606-10.

Yin M., Zhu p., Luo H. and Xu R. (1993) The presence of mast cells in the human endometrium pre and post-insertion of intrauterine devices. *Contraception*, 48 (3): 245-54.

Zaidi J, Collins W, Campbell S, Pittrof R, Tan SL. (1996) Blood flow changes in the intraovarian arteries during the periovulatory period: relationship to the time of day. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 7 (2): 135-40.

Zhao G., Li M., Zhu P., Xu R. and Wang J. (1997) A preliminary morphometric study on the endometrium from patients treated with indomethacin-releasing copper intrauterine device. *Hum. Reprod.*, 12 (7): 1563-6.

Zhu P. D., Luo H. Z., Xu R. H., Cheng J., Wu S. C., Chen J. H., Wu M. Z. and Wang X. P. (1989) The effect of intrauterine devices, the stainless steel sting ring, the copper T220, and releasing levonorgestrel, on the bleeding profile and morphological structure of the human endometrium: a comparative study of three IUDs. A morphometric study of 96 cases. *Contraception*, 40 (4): 425-38.

Zhu P. D., Luo H. Z., Shi W. L., Wang J. D., Cheng J., Xu R. H. and Gu Z. (1991) Observation of the activity of factor VIII in the endometrium of women pre- and post-insertion of three types of IUDs. *Contraception*, 44 (4): 367-84.

Zielske F., Koch U. J., Bandura R., Ladenburg H. (1974) Studies on copper release from copper-T devices (T-CU 200) and its influence on sperm migration in vitro. *Contraception*, 10: 651-66.

Zipper J. A., Mendel M. and Prage R. (1969) Suppression of fertility by intrauterine copper and zinc in rabbits: a new approach to intrauterine contraception. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 105: 529.

SUBENDOMETRIAL POWER DOPPLER QUANTIFICATION:

A NEW CLASSIFICATION PROPOSAL

M. F. Jiménez¹, E. P. Passos, P. A. P. Fagundes, J. A. Magalhães, R. Palma-Dias and J.
S. L. Cunha-Filho

¹To whom correspondence should be addressed.

Human Reproduction Center

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Mirela Foresti Jiménez, MD

Rua Ramiro Barcelos, 2350/1135

90035-003 – Porto Alegre, RS – Brazil

Fone: +55-51-2101-8117

E-mail: mirela.jimenez@brturbo.com

This manuscript was submitted to Human Reproduction

BACKGROUND: Our study was designed to test a new simple classification for the quantification of Power Doppler Energy, in order to evaluate the sub-endometrial microvascularization and to determine its reproducibility. **METHODS:** We enrolled 25 women with regular menses, who had not used any hormonal preparation during the previous three months and who had intrauterine devices removed at least 3 month prior. The patients were not allowed to use non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) within 24 hours of any examination. All patients were examined during the midluteal phase (6-9 days after ovulation, according to previous ultrasound record). Power Doppler energy levels were classified in 5 categories according to the percent area of sub-endometrial signal: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) and V (>75%). The color Doppler signal was considered positive when it reached at least the basal layer of the endometrium. The picture of the endometrium was analyzed and the regions of interest were identified and marked for further analysis. Each recorded image was then independently evaluated and classified by three blinded observers. **RESULTS:** According to the power Doppler classification, we analyzed age, BMI and endometrial thickness and there were no significant differences among them ($P > 0.05$). There is a strong correlation among examiners with a significant Spearman correlation coefficient ($P = 0.0001$). **CONCLUSION:** We validated a very simple and cost-effective classification for the quantification of vascularization in a specific area (endometrium). This method of quantification may potentially be of use and its relevance to our practice could be explored.

Key Words: Power Doppler energy/ Power Doppler/ endometrial vascularization/ classification

INTRODUCTION

Power Doppler Energy (PDE) is a new modality in ultrasound technology currently being used in several medical specialties, with important diagnostic and therapeutic applications.

PDE uses the amplitude of the Doppler signal instead of the mean frequency shift. Background noise, which can pose difficulties in examination using traditional color Doppler, is easily distinguishable from true blood flow when using Power Doppler. Moreover, due to its enhanced accuracy, PDE could be employed to detect image areas of low blood flow that are currently undetectable by color Doppler imaging. PDE results from the scattering of ultrasound waves from red blood cells in arteries, arterioles, venules and veins and, thus, depicts microvascularization of a specific tissue (Amso *et al*, 2001).

In Gynecology, PDE is useful to detect and examine areas with microvasculature such as the endometrium and the ovaries. The study of intra-endometrial vascularization may be useful to assess one of the factors of endometrial receptiveness for embryo implantation. Moreover, the lowest impedance of uterine blood flow occurs in the luteal phase, probably indicating increased blood flow to the uterus around the presumed time when implantation might occur (Steer *et al*, 1990). Women with adequate endometrial thickness but small PDE tended to have unfavorable reproductive outcomes (Yang *et al*, 1999). Nonetheless, the usefulness of this new method has one important and unsolved problem: its quantification - necessary to ensure comparable assessment and classification among different gynecology diseases.

Some investigators have attempted to demonstrate and validate a number of quantitative or semi-quantitative methods for the measurement of PDE (Amso *et al*, 2001; Järvelä *et al*, 2003). Other author described an PDE quantification software that measures the power Doppler indices calculated in a specific area. Calculated indices showed low

intraobserver and interobserver variation for ovary and endometrium and acceptable levels for small structures such as the follicle (Amso *et al*, 2001). Computers software measurements, associated with endometrial thickness, were used as a predictive of endometrial receptivity. The authors concluded that the software measurement may serve as a factor indicative of endometrial receptivity for embryo implantation (Yang *et al*, 1999). However, due to the lack of a specific computer software and because the results could not be reproduced by other investigators, it has been difficult to use this method. The aim of this study is to describe a new PDE classification using a simple and reproducible method, based on a categorical sub-endometrial micro-vascularization analysis.

MATERIALS AND METHODS

DESIGN

We performed a prospective cross-sectional study with patients from Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

SUBJECTS

The study population (sample) was composed of 25 fertile volunteer women. The inclusion criteria were: 1) Regular menses (menstrual cycle varying from 24-35 days); 2) Age < 40 years; 3) Normal serum TSH, FSH and prolactin levels (day-3).

Contraceptive pills or any kind of hormonal preparation had not been used during the previous 3 months and any intrauterine device had necessarily been removed at least 3 months earlier. Patients were not allowed to use non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) within 24 hours of any examination. The exclusion criteria were: pregnancy, acute

or chronic inflammatory pelvic disease, menorrhagia of unknown cause, cervicitis, cervical dysplasia or genital tumor. All patients underwent gynecological examination and had a Pap-smear in the previous 12 months.

STUDY PROTOCOL

All subjects were examined during one cycle, with daily US, so as to assess follicular development for confirmation of ovulation. Then, they were examined in the midluteal phase, 6-9 days after the day of ovulation, for the assessment of endometrial thickness and Power Doppler measurement by US scans (figure 1). The study was approved by the Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (# 02-127) and all subjects signed an informed consent form.

POWER DOPPLER CLASSIFICATION

The sonography equipment consists of a SONOACE 9900 (Medison SA – Korea). PDE was performed on a trans-vaginal route by the same investigator (PAPF). The settings for Power Doppler sonography were standardized for the highest sensitivity in the absence of apparent noise using a high pass filter at 50 Hz, pulsed repetition frequency at 750 Hz, and moderate long persistence. The lowest possible measurable velocity was below 5 cm/s. A picture was captured and the image was marked for further analysis. Moreover, the ultrasound probe was equipped with a native harmonic system that improves image resolution.

Power Doppler energy results were classified in 5 categories according to percent sub-endometrial signal area: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) and V (>75%). The color Doppler signal was considered as positive when it reached at least the basal layer of the endometrium.

Each recorded image was then independently evaluated and classified by two (JAM and RPD) blinded US specialist.

STATISTICS

Comparisons among the categorical classification and the group characteristics were done by the Kruskal-Wallis. Variability among sonography examiners was studied and its effect was assessed by the Spearman correlation coefficient ($P < 0.05$ was considered significant).

RESULTS

In this study we evaluated 25 women in the midluteal phase. The median (percentiles) of age (years) and body mass index (BMI) (kg/m²) were 28.50 (25.00-31.00) and 21.88 (20.06-24.28), respectively. As far as parity is concerned, of the 25 patients (100%) who comprise the sample, 8 (32%) had no children; 8 (32%) had 1; 5 (20%) had 2; and 4 (16%) had 3 children. In what concerns abortion occurrences, 14 patients (56%) of the sample reported no (0) occurrences; 8 patients (32%) reported 1 occurrence; and 3 patients (12%) reported 2 occurrences.

According to the power Doppler classification, we analyzed age, BMI and endometrial thickness and there were no significant differences among them ($P > 0.05$) (Table I).

There was a strong correlation among the observers (Table II): the correlation between observers 1 and 2 was 0.85 ($P = 0.0001$); between 1 and 3 was 0.92 ($P = 0.0001$) and between 2 and 3 was 0.84 ($P = 0.0001$).

Figure 2 shows the categorical distribution of PDE. We found 10 patients (40%) in class I, 10 patients (40%) in class II, 3 patients (12%) in class III and 2 patients in class IV. No subjects with sub-endometrial power Doppler signal greater than 75% (class V) were found.

DISCUSSION

Our study demonstrated a strong correlation among different examiners, allowing this Power Doppler energy quantification to be used as a very simple and useful classification for the study of sub-endometrial microvascularization.

No subjects with sub-endometrial Power Doppler signal greater than 75% (class V) were found. This could be because no patients with blood flow enhancing pathologies (pregnancy, acute or chronic inflammatory pelvic disease, menorrhagia of unknown cause, cervicitis, cervical dysplasia or genital tumor) were included.

Quantification of the PDE in ultrasound machines has been an issue of interest in recent years and has ranged from subjective methods to quantitative techniques (Bhal *et al*, 1999; Contart *et al*, 2000).

Same authors (Contart *et al*, 2000), evaluated the power Doppler sub endometrial vascularization and used as a parameter for the prognosis of embryo implantation in patients who underwent intracytoplasmic sperm injection (ICSI). The endometrium was divided into four equal quadrants and classified as grade I, II, III, or IV according to the visualization of the power Doppler in the quadrants. The colour Doppler signal was considered to be positive when it reached at least the basal layer of the endometrium. The endometrial thickness and pulsatility index of uterine artery also were similar for the four grades. The results demonstrated that isolated evaluation of endometrial vascularization with power Doppler is not an important factor for the prediction of pregnancy in an ICSI program. The same group of researchers (Baruffi *et al*, 2002) used a scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation with seven parameters. The use of this score method could not identify a population with greater uterine receptivity for embryo implantation in an ICSI program.

The association between endometrial blood flow and endometrial thickness was evaluated in a prospective study in women undergoing in-vitro fertilization. Blood flow was determined by a power Doppler technique: the signal was converted and the image processed. The area of the vascular signal was manually demarcated and automatically calculated and expressed in mm². The authors concluded that, in addition to endometrial thickness, PDE may be a factor indicative of endometrial receptiveness (Yang *et. al*, 1999).

In addition, a new software package that quantifies power Doppler energy was tested to evaluate the quantification of vascularization in specific areas in the uterus and ovary. Calculated indices showed low intraobserver and interobserver variability for ovary and endometrium and acceptable levels for small structures such as the follicle (Amso *et al*, 2001).

Future studies could be implemented in order to determine vascular changes during the early follicular, mid-follicular and peri-ovulatory phases of normally cycling fertile women as well as facilitate comparisons within and between individuals. Moreover, there is great interest in predicting endometrial receptiveness and embryo implantation in assisted reproduction. Three-dimensional ultrasound was used to obtain quantitative data on endometrial volume and sub-endometrial blood flow, and may be a useful tool in the prediction of pregnancy rate (Wu *et al*, 2003).

Due to the lack of specific computer software, other investigators could not reproduce these results. Our study showed a strong correlation, with Spearman correlation test over 80%, making this power Doppler quantification a very simple, reproductively, cost-effective and useful classification.

Future applications of our method may include studies of corpus luteum perfusion and monitoring of placental perfusion in normal or growth-restricted fetuses. In reproductive medicine, studies of the vasculature may be helpful in monitoring follicular and endometrial changes in women with infertility before and during their treatment.

In conclusion, we validated a very simple classification for the quantification of endometrial microvascularization. Calculated indices showed low inter-observer variation. This method of quantification is promising and its relevance to our practice could be further explored in different patients and in others clinical condition in gynecology.

ACKNOWLEDGEMENTS: We are grateful for the financial support received from “Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos” – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA), “Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas- UFRGS” and from the “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq), Brazil. We are

also gratefully for the editorial support provided by the Graduated Research Group, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

REFERENCES

Amso NN, Watermeyer SR, Pugh N, Obrien S and D'Angelo A (2001) Quantification of power Doppler energy and its future potential. *Fertil Steril* 76 (3), 583-7.

Baruffi RL, Contart P, Mauri AL, Petersen C, Felipe V, Gabriellini E, Franco Junior JG (2002) A uterine ultrasonographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J Assist Reprod Genet*, 19 (3), 99-102.

Bhal PS, Pugh N, Chui D, Gregory L, Walker SM and Shaw RW (1999) The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum Reprod*, 14, 939-45.

Contart P, Baruffi RL, Coelho J, Mauri AL, Petersen C and Franco Junior JG (2000) Power Doppler endometrial evaluation as a method for the prognosis of embryo implantation in an ICSI program. *J Assist Reprod Genet* 17 (6), 328-4.

Järvelä I, Sladkevicius P, Tekay AH, Campbell S and Nargund G (2003) Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and colour flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet Gynecol* 21 (3), 277-82.

Kupesic S and Kurlak A (2002) Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum Reprod* 17 (4), 950-5.

Steer CV, Campbell S, Pampiglione JS et al (1990) Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. *Hum Reprod* 5, 391-5.

Wu HM, Chiang CH, Huang HY, Chao AS, Wang HS and Soong YK (2003) Detection of the subendometrial vascularization flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 79 (3), 507-11.

Yang JH, Wu MY, Chen CD, Jiang MC, Ho HN and Yang YS (1999) Association of endometrial blood flow as determined by a modified color Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 14 (6), 1606-10.

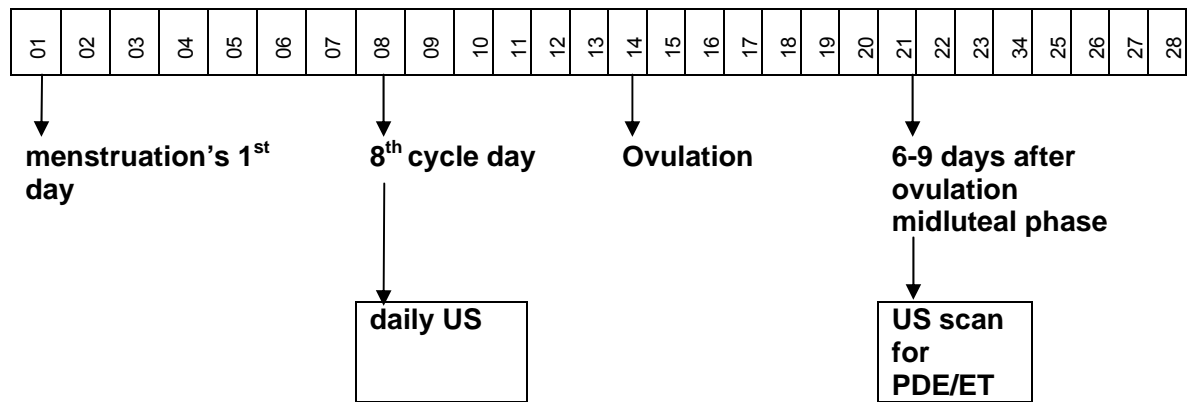


Figure 1. Study protocol

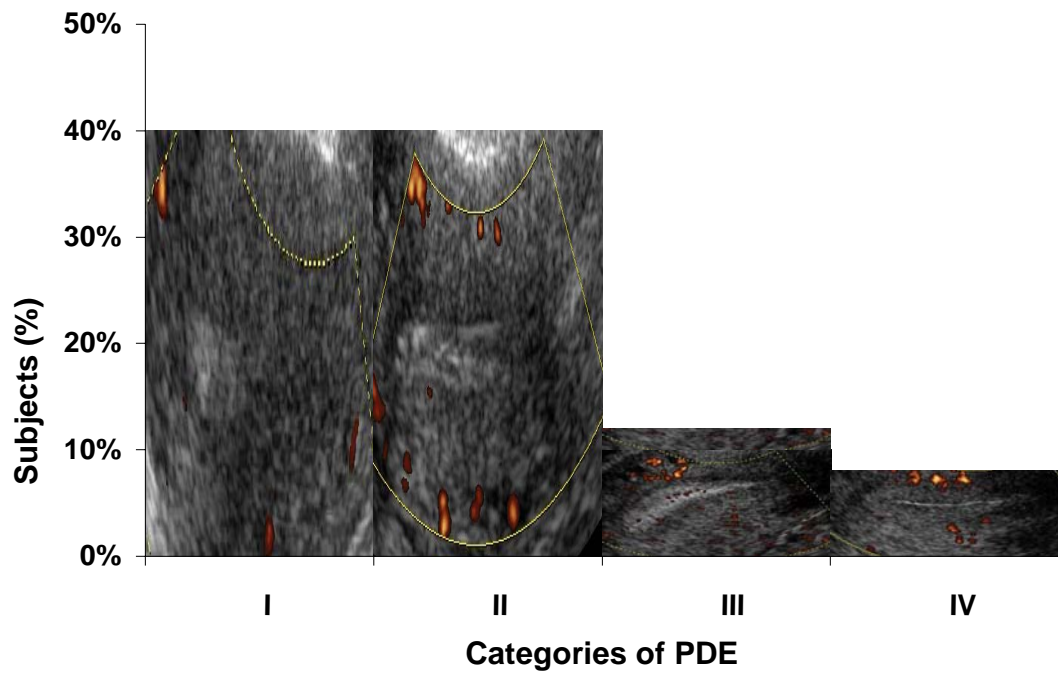


Figure 2. Patients percentages in the categories of PDE.

TABLE I. Median (range) of age, body mass index (BMI) and endometrial thicknesses (ET) in the midluteal phase in 25 subjects according to the classification of the Power Doppler Energy. Kruscal-Wallis test.

	Group I n = 10	Group II n = 10	Group III n = 3	Group IV n = 2	P-value
Age (y)	30.5 (20-40)	30.0 (21-35)	27.0 (26-28)	26.5 (25-28)	0.28
BMI (kg/m²)	24 (19-29)	23 (18-31)	21 (19-24)	21 (21-22)	0.74
ET (mm)	5 (3-10)	7 (3-13)	8 (4-9)	8	0.50

TABLE II. Spearman's correlation (2-tailed test) among sonographers: observer 1, 2 and 3 (Ob 1, Ob 2 and Ob 3).

	Ob1XOb2	Ob1XOb3	Ob2XOb3
Spearman's rho	0.85	0.92	0.84
<i>P</i>-value	0.0001	0.0001	0.0001

**AVALIAÇÃO DA VASCULARIZAÇÃO SUB-ENDOMETRIAL COM POWER DOPPLER:
PROPOSTA DE UMA NOVA CLASSIFICAÇÃO**

Mirela Foresti Jiménez¹,

Eduardo Pandolfi Passos,

Paulo Augusto Peres Fagundes,

José Antônio Magalhães,

Ricardo Palma-Dias,

João Sabino L. Cunha-Filho

¹Para quem as correspondências deverão ser enviadas. E-mail:

Centro de Reprodução Humana

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Mirela Foresti Jiménez,

Rua Ramiro Barcelos, 2350/1135

90035-003 – Porto Alegre, RS – Brasil

Fone: +55-51-21016-8117

E-mail: mirela.jimenez@brturbo.com

Este artigo foi submetido à análise para publicação na revista *Human Reproduction*

OBJETIVO: O estudo foi realizado com o objetivo de testar uma nova e simples classificação para quantificar a medida do *power* Doppler, para avaliação da micro-vascularização sub-endometrial e determinar a sua reprodutibilidade. **METODOLOGIA:** Foram avaliadas 25 pacientes com ciclos menstruais regulares, que não tenham usado nenhum tipo de hormônio, nos três meses anteriores as avaliações e que estejam sem dispositivo intra-uterino há, pelo menos, três meses. As pacientes foram orientadas a não utilizar anti-inflamatórios não esteróides, nas 24 horas que antecederam os exames. Todas as pacientes foram examinadas na fase lútea média (6-9 dias depois da ovulação, avaliada por ultra-sonografia). A avaliação com *power* Doppler foi classificada em 5 categorias de acordo com o percentual de área de captação do sinal: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) e V (>75%). O sinal do *power* Doppler foi considerado positivo quando atingia, pelo menos, a membrana basal do endométrio. A imagem do endométrio foi analisada e a região de interesse foi identificada e marcada para posterior análise. Cada imagem gravada foi, então, avaliada e classificada, independentemente. A variação entre observadores foi avaliada entre três observadores, cegados entre si, para a avaliação. **RESULTADOS:** Foi realizada comparação estatística da idade, IMC e espessura endometrial, entre os grupos, de acordo com a classificação do *power* Doppler e não houve diferença significativa entre os grupos ($P > 0,05$). Houve forte correlação entre os examinadores, com significativo coeficiente de correlação de Spearman ($P = 0,0001$). **CONCLUSÃO:** Validamos uma classificação simples para quantificação da micro-vascularização sub-endometrial. Este método de quantificação tem potencial para ser usado e sua relevância na prática clínica deve ser mais explorada.

Palavras chave: *Power* Doppler/ vascularização endometrial/ classificação.

INTRODUÇÃO

A avaliação com *power Doppler* é uma nova modalidade de tecnologia de ultra-som, que vem sendo utilizada em várias especialidades médicas, com importantes aplicações em diagnósticos e terapias.

O *power Doppler* usa a amplitude do sinal do Doppler, em vez da frequência média. Os ruídos de fundo, que podem causar dificuldades no exame que utiliza a Dopplervelocimetria, são facilmente distinguíveis do movimento de fluxo vascular verdadeiro, quando o *power Doppler* é utilizado. Então, devido a sua maior acurácia, o *power Doppler* pode ser empregado para detectar imagens de áreas de baixo fluxo, que não são, geralmente, detectáveis pela Dopplervelocimetria. O *power Doppler* resulta da onda de ultra-som registrada pelas hemácias das artérias, arteríolas, vênulas e veias e, então, reflete a vascularização de um tecido específico (Amso *et al*, 2001).

Em Ginecologia, o *power Doppler* é utilizado para detectar e examinar áreas com micro-vasculatura, como endométrio e ovário. O estudo da vascularização sub-endometrial pode ser útil para avaliar um dos fatores da receptividade endometrial para implantação de embriões. Além disto, a impedância de fluxo de artéria uterina é menor na fase lútea média, provavelmente indicando aumento de fluxo sanguíneo para o útero, no período de maior probabilidade de ocorrência da implantação (Steer *et al*, 1990). Mulheres com adequada espessura endometrial, mas com baixa taxa de vascularização no *power Doppler*, têm resultados reprodutivos desfavoráveis (Yang *et al*, 1999). No entanto, a utilização deste método tem um problema importante e não resolvido: a sua quantificação – necessária para estabelecer comparações e classificações entre diferentes patologias ginecológicas.

Alguns investigadores tentaram investigar e validar algumas medidas qualitativas e quantitativas para medir o *power Doppler* (Amso *et al*, 2001; Järvelä *et al*, 2003). Outro autor realizou um estudo que transformou o sinal do *power Doppler* em uma medida contínua, através de um programa de computação que calcula a área de captação do sinal (Amso *et al*, 2001). Na avaliação de ovário e endométrio, houve pequena variação intra-observadores e inter-observadores, e variação aceitável para estruturas pequenas como o folículo. Programas de computador, que medem a área de captação do *power Doppler*, também foram utilizados, em associação com a espessura endometrial, sendo que os autores concluíram que a medida da área de captação do *power Doppler* serviu como um fator prognóstico da receptividade endometrial para implantação (Yang *et al*, 1999). No entanto, devido à falta de programas de computador específicos e por dificuldade de reproduzir as medidas, por outros investigadores, tem sido difícil utilizar esta técnica.

O objetivo deste estudo é descrever uma nova classificação para avaliação com *power Doppler*, usando um método simples e reproduzível, baseado na análise da classificação categórica da micro-vascularização.

MATERIAL E MÉTODOS

DELINEAMENTO

Nós realizamos um estudo prospectivo transversal com pacientes do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil.

PACIENTES

A população de estudo (amostra) foi composta de 25 mulheres voluntárias férteis. Os critérios de inclusão foram: 1) ciclos regulares (ciclos menstruais regulares variando de

24-35 dias); 2) Idade < 40 anos; 3) Níveis séricos normais de TSH, FSH e prolactina (dias 3).

Anticoncepcionais hormonais ou qualquer outra hormonioterapia não pode ter sido usada nos três meses que antecederam os exames e qualquer tipo de dispositivo intra-uterino (DIU) deve ter sido retirado há, pelo menos, três meses. As pacientes foram orientadas a não usar anti-inflamatórios não-esteróides, nas 24 horas que antecederam os exames. Os critérios de exclusão foram: gestação, doença inflamatória pélvica aguda ou crônica, metrorragia de causa desconhecida, cervicite, displasia cervical ou tumor genital. Todas as pacientes realizaram exame ginecológico e citopatológico de cérvix uterina (exame de Papanicolau) nos últimos 12 meses.

PROTOCOLO DE ESTUDO

As pacientes foram examinadas durante um ciclo, com ultra-sonografia diária, acompanhando crescimento folicular e diagnosticando a ovulação e, então, realizando medida da espessura endometrial e medida de *power* Doppler pela ultra-sonografia (figura 1) na fase lútea média (6 a 9 dias após a ovulação). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (# 02-127) e todas as pacientes assinaram termo de consentimento informado.

CLASSIFICAÇÃO DO *POWER* DOPPLER

O equipamento de ultra-sonografia utilizado foi: SONOACE 9900 (Medison SA – Korea). O exame de *power* Doppler foi realizado via vaginal pelo mesmo investigador (PAPF). O equipamento de ultra-sonografia foi regulado para alta sensibilidade, na ausência de qualquer ruído aparente, usando um filtro de 50 HZ, frequência de 750 Hz. A menor velocidade mensurável foi abaixo de 5 cm/s. A imagem foi gravada e marcada para

posterior análise. Além disto, o equipamento de ultra-som foi munido de harmônica (*native harmonic system*) que melhora a resolução da imagem.

A medida do *power* Doppler resultante foi classificada em 5 categorias, de acordo com o percentual de área de captação do sinal: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) e V (>75%) (figura 2). O sinal do Doppler foi considerado positivo quando atingia, pelo menos, a membrana basal do endométrio.

Cada imagem gravada foi, posteriormente, avaliada de forma independente por dois especialistas (JAM e RPD) em ultra-sonografia, cegados para a avaliação.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação entre a classificação categórica e as características do grupo estudado, foi realizada com o teste de Kruskal-Wallis. A variabilidade entre os examinadores ultra-sonográficos foi estudada e seu efeito acessado pelo coeficiente de correlação de Spearman ($P < 0,05$ foi considerado significativo).

RESULTADOS

Neste estudo foram avaliadas 25 pacientes na fase lútea média. A mediana (percentis 25-75) da idade (anos) e índice de massa corporal (IMC) (Kg/m^2) foi de 28,50 (25,00-31,00) e 21,88 (20,06-24,28), respectivamente. Em relação à paridade, observamos que: 8 pacientes (32%) eram nulíparas, 8 pacientes (32%) tinham 1 parto prévio, 5 pacientes (20%) tinham 2 partos e 4 pacientes (16%) tinham 3 partos. A história prévia de aborto foi de nenhum aborto em 14 pacientes (56%), de 1 aborto em 8 pacientes (32%) e de 2 abortos em 3 pacientes (12%).

A análise estatística dos grupos de pacientes, divididos conforme a categoria do *power* Doppler, demonstrou não haver diferenças significativas eles, quando avaliados em relação à idade, IMC e espessura endometrial ($P > 0,05$) (Tabela I).

Houve forte e significativa correlação entre os observadores (Tabela II): entre os observadores 1 e 2 a correlação foi de 0,85 ($P = 0,0001$); entre os observadores 1 e 3 a correlação foi de 0,92 ($P = 0,0001$) e entre os observadores 2 e 3 a correlação foi 0,84 ($P = 0,0001$).

A figura 2 mostra a distribuição do *power* Doppler entre as categorias. Foram encontradas 10 pacientes (40%) na classe I, 10 pacientes (40%) na classe II, 3 pacientes (12%) na classe III e 2 pacientes na classe IV. Nenhuma paciente apresentou área de captação com sinal maior que 75% (classe V).

DISCUSSÃO

Nosso estudo demonstrou haver forte e significativa correlação entre os observadores para avaliação da classificação proposta do *power* Doppler, indicando que a classificação é útil e muito simples para estudo da micro-vascularização sub-endometrial.

Não encontramos pacientes com sinal do *power* Doppler maior que 75% (classe V). Isto deve ser porque não incluímos pacientes com patologias que levam a aumento do fluxo sanguíneo endometrial (gravidez, doença inflamatória pélvica aguda ou crônica, metrorragia de causa desconhecida, cervicite, displasia cervical ou tumor genital).

A quantificação do *power* Doppler nos equipamentos de ultra-som tem sido foco de interesse, nos últimos anos e variam de métodos subjetivos a técnicas quantitativas (Bhal *et al*, 1999; Contart *et al*, 2000).

Alguns autores avaliaram a vascularização sub-endometrial com *power* Doppler e usaram como parâmetro prognóstico para resultado da implantação de embriões em

pacientes submetidas à injeção intra-citoplasmática de espermatozóides (ICSI). O endométrio foi dividido em quatro quadrantes iguais e classificado em grau I, II, III ou, de acordo com a visualização do sinal do *power* Doppler no quadrante. O sinal foi considerado positivo quando atingia, pelo menos, a membrana basal do endométrio. A espessura endometrial e o índice de pulsatilidade de artéria uterina foram similares nos quatro graus. Os resultados demonstraram que a avaliação isolada da vascularização endometrial com *power* Doppler não é um fator preditivo de gestação em programa de ICSI. O mesmo grupo de pesquisadores (Baruffi *et al*, 2002), usou um sistema de escore, como método para estabelecer prognóstico de implantação de embriões, com sete parâmetros. O uso deste escore não foi capaz de identificar a população com maior receptividade uterina para implantação de embriões em programas de ICSI.

A associação entre fluxo sanguíneo endometrial e espessura endometrial foi avaliada num estudo prospectivo de mulheres submetidas à fertilização in-vitro. O fluxo sanguíneo foi avaliado pela técnica de *power* Doppler e o sinal convertido em imagem que foi processada para posterior análise. A área do sinal vascular foi marcada manualmente e calculada automaticamente a área e expressa em mm². Os autores concluíram que, associada à espessura endometrial, a medida do *power* Doppler pode ser um fator indicativo da receptividade endometrial (Yang *et. al*, 1999).

Um novo programa de computador que quantifica o sinal do *power* Doppler foi testado para quantificar a vascularização de áreas específicas do útero e ovário. Os índices calculados mostraram baixa variabilidade intra e inter-observadores para ovário e endométrio e níveis aceitáveis para estruturas pequenas como o folículo (Amso *et al*, 2001).

No futuro, outros estudos poderão ser realizados para determinar as alterações vasculares durante a fase folicular precoce, fase folicular média e peri-ovulatória do ciclo menstrual normal de mulheres férteis, para facilitar as comparações entre os indivíduos. Existe grande interesse em poder prever a receptividade endometrial para embriões em reprodução assistida. A ultra-sonografia tri-dimensional foi usada para obter dados quantitativos do volume endometrial e fluxo sanguíneo sub-endometrial, podendo ser uma ferramenta útil para prever a taxa de gestação (Wu *et al*, 2003).

Devido à falta dos programas de computadores para realizar o cálculo de área, não tem sido possível reproduzir os resultados por outros investigadores. O nosso estudo mostrou forte correlação, com teste de correlação de Spearman maior que 80% em todas as comparações, tornando esta quantificação do *power* Doppler uma classificação útil, simples, reproduzível e de baixo custo.

As aplicações futuras desta técnica, incluem estudos da perfusão do corpo lúteo e monitorização de perfusão placentária em gestação normal e com fetos com crescimento intra-uterino restritivo. Em medicina reprodutiva, estudos de vascularização podem ajudar na monitorização folicular e endometrial em mulheres inférteis, antes e durante o tratamento.

Concluindo, nós validamos uma classificação muito simples para quantificar a micro-vascularização endometrial. Os coeficientes de correlação mostraram baixa variação inter-observador. Este método de quantificação é promissor e deve ser mais explorado em outros estudos com diferentes pacientes e outras situações clínicas na ginecologia.

AGRADECIMENTOS: Agradecemos ao suporte financeiro recebido do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA), ao Conselho

Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Também agradecemos ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil.

REFERÊNCIAS

Amso NN, Watermeyer SR, Pugh N, Obrien S and D'Angelo A (2001) Quantification of power Doppler energy and its future potential. *Fertil Steril* 76 (3), 583-7.

Baruffi RL, Contart P, Mauri AL, Petersen C, Felipe V, Gabriellini E, Franco Junior JG (2002) A uterine ultrasonographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J Assist Reprod Genet*, 19 (3), 99-102.

Bhal PS, Pugh N, Chui D, Gregory L, Walker SM and Shaw RW (1999) The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum Reprod*, 14, 939-45.

Contart P, Baruffi RL, Coelho J, Mauri AL, Petersen C and Franco Junior JG (2000) Power Doppler endometrial evaluation as a method for the prognosis of embryo implantation in an ICSI program. *J Assist Reprod Genet* 17 (6), 328-4.

Järvelä I, Sladkevicius P, Tekay AH, Campbell S and Nargund G (2003) Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and colour flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet Gynecol* 21 (3), 277-82.

Kupesic S and Kurlak A (2002) Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum Reprod* 17 (4), 950-5.

Steer CV, Campbell S, Pampiglione JS et al (1990) Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. *Hum Reprod* 5, 391-5.

Wu HM, Chiang CH, Huang HY, Chao AS, Wang HS and Soong YK (2003) Detection of the subendometrial vascularization flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 79 (3), 507-11.

Yang JH, Wu MY, Chen CD, Jiang MC, Ho HN and Yang YS (1999) Association of endometrial blood flow as determined by a modified color Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 14 (6), 1606-10.

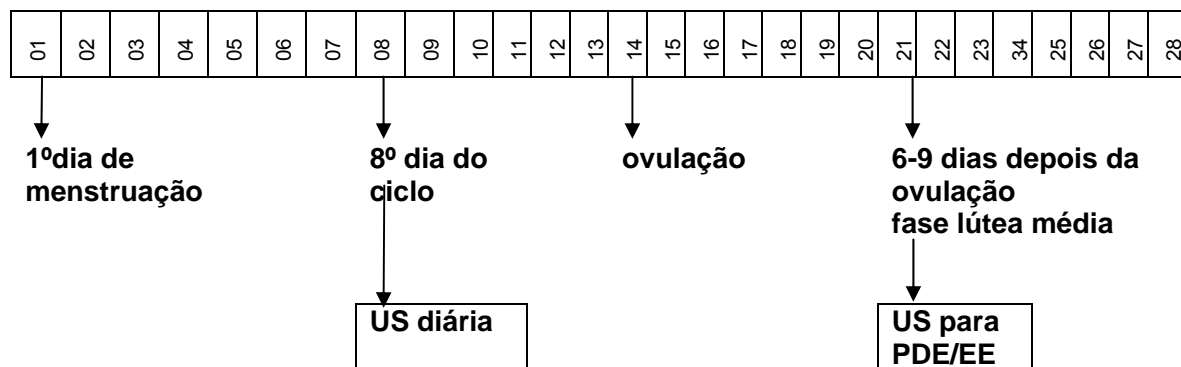


Figura 1. Protocolo de estudo

TABELA I. Mediana (máximo e mínimo) da idade, índice de massa corpórea (IMC) e espessura endometrial (EE) na fase lútea em 25 pacientes, de acordo com a classificação do *power* Doppler. Teste de Kruscal-Wallis.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	P
	n=10	n=10	n=3	n=2	
Idade (anos)	30,5	30,0	27,0	26,5	0,28
	(20-40)	(21-35)	(26-28)	(25-28)	
IMC (kg/m²)	24	23	21	21	0,74
	(19-29)	(18-31)	(19-24)	(21-22)	
EE (mm)	5	7	8	8	0,50
	(3-10)	(3-13)	(4-9)		

TABELA II. Teste de correlação de Spearman (*2-tailed test*) entre os ultrasonografistas: Observadores 1, 2 e 3 (Ob 1, Ob 2 e Ob 3).

	Ob1XOb2	Ob1XOb3	Ob2XOb3
Correlação de Spearman	0,85	0,92	0,84
<i>P</i>	0,0001	0,0001	0,0001

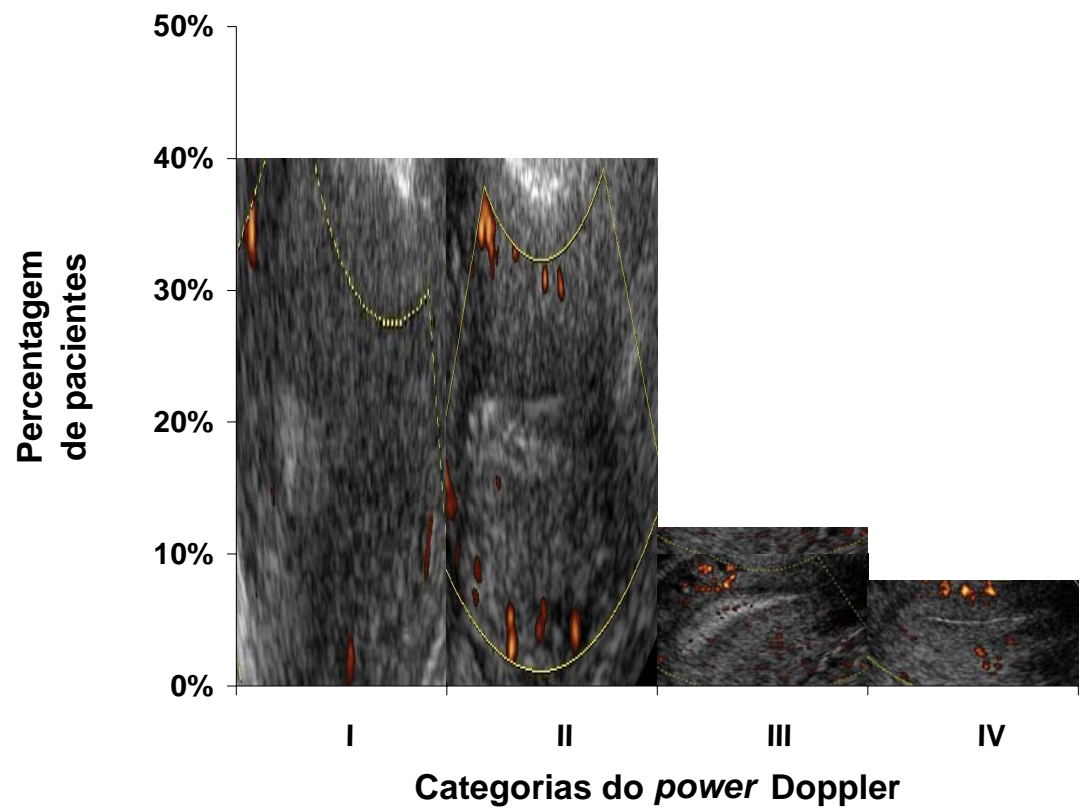


Figura 2. Percentual de pacientes em cada categoria do *power Doppler*.

**THE EFFECT OF THE COPPER-INTRAUTERINE DEVICE (TCu 380A) ON SUB-
ENDOMETRIAL MICROVASCULARIZATION AND UTERINE ARTERY BLOOD FLOW**

M. F. Jiménez¹, E. P. Passos, P. A. P. Fagundes, F. M de Freitas, D. V. Vetori and J. S. L.
Cunha-Filho

¹To whom correspondence should be addressed.

Human Reproduction Center

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Mirela Foresti Jiménez, MD

Rua Ramiro Barcelos, 2350/1135

90035-003 – Porto Alegre, RS – Brazil

Fone: +55-51-21018117

E-mail: mirela.jimenez@brturbo.com

This manuscripts was submitted to Fertility and Sterility

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim of this study was to evaluate the effect of the copper-intrauterine device (IUD) on the sub-endometrial microvasculature and the uterine artery blood flow during the midluteal phase.

DESIGN: A clinical trial.

SETTING: university hospital.

PATIENTS: The study was carried out including 25 regularly menstruating women before and after IUD insertion.

INTERVENTIONS: Timed power Doppler measurement, uterine artery blood flow analysis (resistance and pulsatility indexes) and endometrial thickness by ultrasound (US) scans during the midluteal phase (6-9 days after ovulation, according to previous ultrasound record), before and after IUD-insertion. Power Doppler energy quantification was classified into 5 categories according to the sub-endometrial signal area percentage: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) and V (>75%). The second US examination took place 3 months after a copper-T IUD insertion, also in the midluteal phase.

MAIN OUTCOME MEASURES: Power Doppler measurement, uterine artery blood flow analysis (resistance and pulsatility indexes) and endometrial thickness by ultrasound (US) scans.

RESULTS: There were no significant changes in power Doppler sub-endometrial evaluation after the IUD insertion in the midluteal phase ($P=1.00$); however, the sub-endometrial blood flow increased in patients who experienced IUD-induced side-effects (dysmenorrhoea or menorrhagia), even after control for possible confounding bias (age and parity), using logistic regression ($P=0.047$).

The PI and RI were not significantly different prior to and 3 months subsequent to the IUD insertion ($P=0.40$ and 0.19 , respectively).

CONCLUSIONS: Overall the Copper-intrauterine device did not modify the sub-endometrial microvascularization, as evidenced by power Doppler analysis, nor the uterine artery blood flow, as evidenced by resistance and pulsatility indexes using pulsed color Doppler ultrasonography. However, sub-endometrial blood flow increased in patients who experienced IUD-induced side-effects.

KEY WORDS: power Doppler energy, power Doppler, endometrial vascularization, pulsatility index, resistance index, IUD.

INTRODUCTION

The mechanisms of action of intrauterine devices (IUDs) vary considerably among different animal species, and therefore the results of animal studies cannot be used to define the mechanism of action of such devices in humans (1). Further, multiple mechanisms of action are likely to operate in humans and can occur in pre and post fertilization (1). There is an ongoing controversy regarding the mechanisms of action of the IUD (1,2). It is currently believed that reactions to a sterile foreign body in the uterine cavity causes both cellular and biochemical changes that may be toxic to sperm (3). The copper-IUD releases free copper and copper salts that have biochemical and morphological impact on the endometrium and it also produces alterations in the cervical mucus and endometrial secretions. It has been demonstrated that the levels of progesterone receptors are still expressive from day 25 onward of the menstrual cycle in the presence of an IUD T200 (4). Moreover, copper ions could enhance the prostaglandin production (5,6). The expression of integrins subunits is related to the putative "window of implantation" (7). A significant difference was observed in the percentage of samples staining negative for α -v- β -3 integrin in the endometrium of IUD users, but no difference was found in the expression of α -4- β -1 and α -v- β -3 integrins in either the luminal or glandular endometrium (8).

Within the first year after insertion, the Copper-IUD removal rate is 5-15% (9) due to uterine bleeding and/or menstrual pain. However, the effect of a copper-intrauterine device on the uterine blood flow is not well known.

Copper-intrauterine devices do not induce any major changes in the resistance of the uterine artery blood flow; however, in patients with increased menstrual pain after the IUD insertion, there seems to be a decrease in the uterine artery pulsatility index (10). Moreover, levonorgestrel-releasing intrauterine devices appear to be associated with an

increase in blood flow resistance in the uterine arteries during the luteal phase and this effect also appears to be dependent on the concentration of circulating levonorgestrel (11).

Power Doppler Energy (PDE) is a new kind of ultrasound technology, which is being used in a number of specialties and has proved to be an important diagnostic and prognostic potential. Quantification of the PDE in ultrasound machines has been a subject of interest in recent years and has ranged from subjective methods to quantitative techniques (12,13,14,15). In a previous study (unpublished observations) we validated a very simple and easily reproducible classification for the quantification of vascularization in the specific area of the endometrium.

The objective of this study was to evaluate the effect of the copper-intrauterine device on the sub-endometrial vascularization and the uterine artery blood flow using power Doppler energy and ultrasonography pulsed color Doppler during the midluteal phase.

MATERIALS AND METHODS

DESIGN

We performed a clinical trial, with patients from the Human Reproduction Unit at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

PATIENTS

The study population consisted of 25 volunteer women. The inclusion criteria were:

1. Regularly menstruating women (menstrual cycle varying between 24-35 days); and
2. Normal serum TSH, FSH and prolactin levels (as measured on day-3).

Contraceptive pills or any kind of hormonal medication had not been taken for (at least) 3 months prior to the study and any intrauterine device had necessarily been removed at least 3 months earlier. Patients were not allowed to use non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) within 24 h prior to any examination.

The exclusion criteria were pregnancy, acute or chronic pelvic inflammatory disease, menorrhagia for unknown reason, copper allergy, cervicitis, dysplasia in the cervix or genital tumor. All patients underwent a gynecological examination and had a Papanicolaou smear taken during the previous 12 months.

STUDY PROTOCOL

All patients were daily examined with US after the eighth day of the cycle, and follicular development was observed to confirm ovulation; they were then examined in the mid-luteal phase, 6-9 days after ovulation, to obtain the power Doppler energy (PDE) measurement, pulsatility index (PI), resistance index (RI) and endometrial thickness (ET) by ultrasound (US) scans (Figure 1). The study was approved by the Ethical Committee of

Hospital de Clinicas de Porto Alegre, IRB equivalent (# 02-127) and informed consent was obtained from all patients.

Three months after the copper-T IUD (TCu 380A) insertion, also in the midluteal phase (6-9 days after ovulation, confirmed by US), all subjects repeated the same study protocol as previous described.

The sonographic equipment used consisted of a SONOACE 9900 (Medison SA – Korea). The PDE, PI and RI were performed on a transvaginal route. The settings for Power Doppler sonography were standardized for the highest sensitivity in the absence of apparent noise using a high pass filter at 50 Hz, pulsed repetition frequency at 750 Hz, and moderate long persistence. The lowest possible measurable velocity was below 5 cm/s. The same investigator (PAPF), using the same equipment and parameters performed the sonography assessments so as to eliminate any interobserver variation.

All exams were carried out between 08:00 and 10:00 a.m. in order to avoid interference of the circadian rhythm (16).

Power Doppler energy was classified into 5 categories according to the sub-endometrial signal area percentage: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) and V (>75%) (unpublished observations). The color Doppler signal was considered positive when it reached at least the basal layer of the endometrium.

Following, we proceeded to analyze the sub-endometrial vascularization and uterine arteries PI and RI in that specific group of patients with IUD side-effects, in order to elucidate the haemodynamic effects after the IUD insertion. Patients were divided into two groups: the first one comprised those patients who presented IUD-induced pain or bleeding (n=7) and the second one included those who did not present IUD side-effects (n=18). For further analysis of the IUD-induced side-effects subgroup, we divided PDE into two groups: the first one had those patients with minor sub-endometrial

vascularization (PDE classification I and II) and the second one included those with major sub-endometrial vascularization (PDE classification III and IV).

STATISTICS

The two-tailed Wilcoxon test was used to analyze skewed data (PI, RI and ET), whereas the marginal homogeneity test was used for categorical data (PDE). For comparison among scores of the PI, RI, ET and power Doppler energy in groups with and without IUD-induced side-effects the Wilcoxon-Mann-Whitney and chi square test was used. Logistic regression was used to investigate a confounding bias. *P*-value < 0.05 was considered statistically significant.

The power calculation before this study protocol required the inclusion of 24 patients for a $P\beta=80\%$.

RESULTS

In this study 25 women in the midluteal phase were evaluated. The median and 25-75 percentiles of age (years) and body mass index (BMI) (kg/m^2) were 30.00 (24.50-33.00) and 23.45 (20.24-27.68), respectively. In what concerns parity, 6 (24%) had no parity; 8 (32%) had 1; 6 (24%) had 2; 4 (16%) had 3; and 1 (4%) had 5 parity. In what concerns abortion occurrences, 17 patients (68%) of the sample reported no occurrences; 6 patients (24%) reported 1 occurrence and 2 patients (8%) reported 2 abortion occurrences.

There were no significant changes in Power Doppler sub-endometrial evaluation before and after the IUD insertion ($P=1.00$) (figure 2). The pulsatility and resistance indexes were not significantly different before and after the IUD insertion ($P=0.40$ and 0.19 , respectively). Endometrial thickness (median: percentiles 25-75) was thinner before (7: 6-9) than after IUD insertion (9: 7.5-10) ($P < 0.001$) (table I).

Considering the IUD side-effects, seven out of 25 patients either felt that the amount of menstrual bleeding had increased or had severe menstrual pain three months after the IUD insertion (5 with pain and 2 with bleeding). The IUD was then removed from 2 patients who experienced side-effects: one due to excessive menstrual bleeding and the other one due to severe pain. Subgroup analysis showed an increased sub-endometrial blood flow after the IUD insertion in patients who suffered from side-effects when compared to patients who presented no side-effects ($P=0,016$) (figure 3). To control for a possible confounding bias, we used logistic regression: IUD-induced side-effects was the dependent variable and PDE, age and parity were the independent variables. Even after controlling for age and parity, the association remained significant ($P=0.047$) (table II). There were no differences in the uterine artery PI, RI and ET (P -value 0.71, 0.30 and 0.33, respectively) in patients who suffered from side-effects when compared to patients with no side-effects, three months after IUD insertion (table III).

Moreover, in the group that presented IUD-induced side-effects there was no difference in power Doppler energy ($P=0.97$), in the RI ($P=0.95$) and PI (0.72) before the IUD insertion.

DISCUSSION

The purpose of our study was to elucidate the uterine haemodynamic effects of the copper IUD. The copper-intrauterine device modified the sub-endometrial microvascularization of those patients who presented IUD-induced side-effects (dysmenorrhoea or menorrhagia), as evidenced by power Doppler analysis, even after control for age and parity. The uterine artery blood flow was not altered after the IUD insertion, as evidenced by resistance and pulsatility indexes using pulsed color Doppler ultrasonography. We did not find changes in power Doppler analysis, RI and PI prior to the IUD insertion, suggesting that power Doppler energy, RI or PI (in mid-luteal phase) could not predict which patient would be more prone to IUD-related side-effects.

We found a significant increase in the endometrial thickness after the IUD insertion, probably related to the presence of the IUD itself and not due to any copper-IUD endometrial effect. We did not subtract the thickness of the IUD stem (2.3 mm) from the total endometrial thickness, measured in the midluteal phase. Therefore the actual endometrial thickness after the IUD insertion may be somewhat less than what we have reported.

Power Doppler energy sonography has the advantages of less direction dependence, higher sensitivity and better vascular contour contrast, making it the preferable tool in studies of tissue and tumor vascularity. Compared to color Doppler, power Doppler energy has been claimed to be more sensitive to low flow states (17). We hypothesized that the effect of a copper-IUD in the uterine cavity could be detected by power Doppler analysis. Utilizing power Doppler sonography, we were able to obtain an *in-vivo* quantification of sub-endometrium vascularity, an area containing rather weak vascular signals, which are difficult to detect with conventional color Doppler (18,19). Sub-endometrial vascularization may serve as a factor of endometrial receptivity for embryo

implantation (20) and thus the relevance of its study. It is also important to emphasize that this is the first study about the effect of IUDs on the subendometrial vascularization, evidenced by PDE.

Color Doppler studies (21) showed an increased blood flow resistance in the uterus of patients with primary dysmenorrhoea. Studies with color Doppler also show that there was no change in the uterine artery PI during menstruation, after an IUD insertion (10), but there was a decrease in PI after an IUD insertion in patients with increased menstrual pain, suggesting a low-resistance increased blood flow to the uterus (10,22). It would seem that IUD related side-effects during menstruation are more associated with increased blood flow to the uterus. Others (10) also suggest that the uterine blood flow in patients who experience increased menstrual pain after an IUD insertion may have been different in these very same women even before the IUD insertion. This may be a sign of uterine malfunction that makes these patients more prone to IUD related side-effects (10). In our study we find, in agreement with others study (10), an increased blood flow in patients with IUD-induced side-effects. On the other hand, in those patients, we did not find changes in power Doppler analysis, RI and PI prior to the IUD insertion, probably because we do the exams only in the mid-luteal phase.

Also, the levonorgestrel-releasing intrauterine system seems to increase the impedance to blood flow in the uterine artery in the midluteal phase. Concomitant with the change in blood flow resistance, there is a decrease in the mid-luteal serum progesterone concentrations (11). Administration of NSAID, although effective in relieving menstrual pain in patients both with and without an IUD, reduced the uterine blood flow resistance only in the IUD absence (23). The authors timed the point of measurement in the luteal phase according to the presumed onset of next menstruation and not according to the ovulation day. In order to exclude a possible effect of anovulation from our results, during a

cycle, all the patients were daily examined by US, and follicular development was observed to confirm ovulation; then, the patients were examined again in the mid-luteal phase, 6-9 days after ovulation. The control examination was done in the same patients (paired sample), to avoid some confounding bias. It is important to emphasize, though, that the logistic regression analysis demonstrated that even controlling for age and parity, the sub-endometrial vascularization was the only variable associated with dysmenorrhoea or menorrhagia.

Future studies could evaluate vascular changes with power Doppler energy and color Doppler during early follicular, mid-follicular and periovulatory phases of normally cycling women using different types of IUDs (especially those with levonorgestrel). Also, there is a great interest in being able to predict and treat the frequent side-effects caused by this safe contraceptive method.

In conclusion, the copper-intrauterine device modified the sub-endometrial microvascularization of those patients who presented IUD-induced side-effects (dysmenorrhoea or menorrhagia), as evidenced by power Doppler analysis. The uterine artery blood flow and sub-endometrial vascularization were not altered after the IUD insertion, as evidenced by resistance and pulsatility indexes using pulsed color Doppler ultrasonography and power Doppler analysis.

ACKNOWLEDGEMENTS: We are grateful for the financial support received from “Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos” – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) and from the “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq), CAPES and “Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas-UFRGS”, Brazil. We are also grateful for the editorial support provided by the Graduate Research Group, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

This manuscript was partially orally presented at XVII FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics, in Santiago, Chile, November 2-7, 2003.

REFERENCES

1. Stanford J B, Mikolajczyk R T. Mechanisms of action of intrauterine device: update and estimation of post fertilization effects. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187(6);1699-708.
2. Rivera R, Yacobson I, Grimes D. The mechanism of action of hormonal contraceptives and intrauterine contraceptives devices. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(5);1263-9.
3. Selemm S, Hills F A, Salem H T, El-Nashar E M, Chard T. Mechanism of action of the intrauterine device: evidence of a specific biochemical deficiency in the endometrium. *Hum Reprod* 1996;11:1220-2.
4. Castro A, Gancedo G P, Contreras F, Lapena G. The effect of copper ions in vivo on specific hormonal endometrial receptors. *Adv Contracep* 1986;2:239-404.
5. Green K, Hagenfeldt K. Prostaglandins in the human endometrium. Gas chromatographic-mass spectrometric quantification before and after IUD insertion. *Am J Obstet Gynecol* 1975;122:611-4.
6. Hillier K, Kasonde J M. Prostaglandins E and F concentration in human endometrium after insertion of intrauterine contraceptive device. *Lancet* 1976;i:15-6.
7. Tabibzadeh S. Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Hum Reprod* 1992;7:876-82.

8. Savaris R, Zettler C G, Ferrari A N. Expression of alpha-4beta-1 and alpha-v-beta3 integrins in the endometrium of women using the T200 copper intrauterine device. *Fertil Steril* 2000;74 (6):1102-7.
9. Treiman K, Liskin L, Kols A, Rinehart W. IUD – An Update. *Popul Rep Baltimore Johns Hopkins University School of Public Health, Population Information Program* 1995;B, n° 6:1-35.
10. Järvelä I, Tekay A, Jouppila P. The Effects of a Copper-intrauterine Devices on the Uterine Artery Blood Flow in Regularly Menstruating Women. *Hum Reprod* 1998;13(7):1841-1845.
11. Järvelä I, Tekay A, Jouppila P. The Effects of a Levonorgestrel-releasing Intrauterine System on Uterine Artery Blood Flow, Hormone Concentrations and Ovarian Cyst Formation in Fertile Women. *Hum Reprod* 1998;13(12):3379-3383.
12. Bhal P S, Pugh N, Chui D, Gregory L, Walker S M, Shaw R W. The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum Reprod* 1999;14:939-45.
13. Contart P, Baruffi R L, Coelho J, Mauri A L, Petersen C, Franco Junior J G. Power Doppler endometrial evaluation as a method for the prognosis of embryo implantation in an ICSI program. *J Assist Reprod Genet* 2000;17(6):328-4.
14. Baruffi R L, Contart P, Mauri A L, Petersen C, Felipe V, Gabriellini E, et al. A uterine ultrasographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J Assist Reprod Genet* 2002;19(3):99-102.
15. Järvelä I, Sladkevicius P, Tekay A H, Campbell S, Nargund G. Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and colour flow indices

- obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;21(3):277-82.
16. Zaidi J, Jurkovic D, Campbell S, Pittrof R, McGregor A, Tan S L. Description of circadian rhythm in uterine artery blood flow during the peri-ovulatory period. *Hum Reprod* 1995;10(7):1642-6.
 17. Jain S P, Fan P H, Philpot E F. Influence of various instrument settings on the flow information derived from the power mode. *Ultrasound Med Biol* 1991;17:49-54.
 18. Zaidi J, Campbell S, Pittrof R. Endometrial thickness morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization programme. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;6:191-198.
 19. Amso N N, Watermeyer M B B, Pugh N, O'Brien S, D'Angelo A. Quantification of power Doppler energy and its future potencial. *Fertil Steril* 2001;76(3):583-587.
 20. Yang J H, Wu M Y, Chen C D, Jiang M C, Yang Y S. Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999;14:1606-10.
 21. Pirhonen J, Pulkkinen M. The effect of nimesulide and naproxen on the uterine and ovary arterial blood flow velocity. A Doppler study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995;74(7):549-53.
 22. Momtaz M, Zayed M, Rashid K, Idriss O. Doppler study of the uterine artery in patients using an intrauterine contraceptive device. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1994;4:231-4.
 23. Järvelä I, Tekay A, Jouppila P. The Effects of Diclofenac on Uterine Artery Blood Flow Resistance During Menstruation in Patientes With and Without a Copper Intrauterine Devices. *Hum Reprod* 1998;13(9):2480-2483.

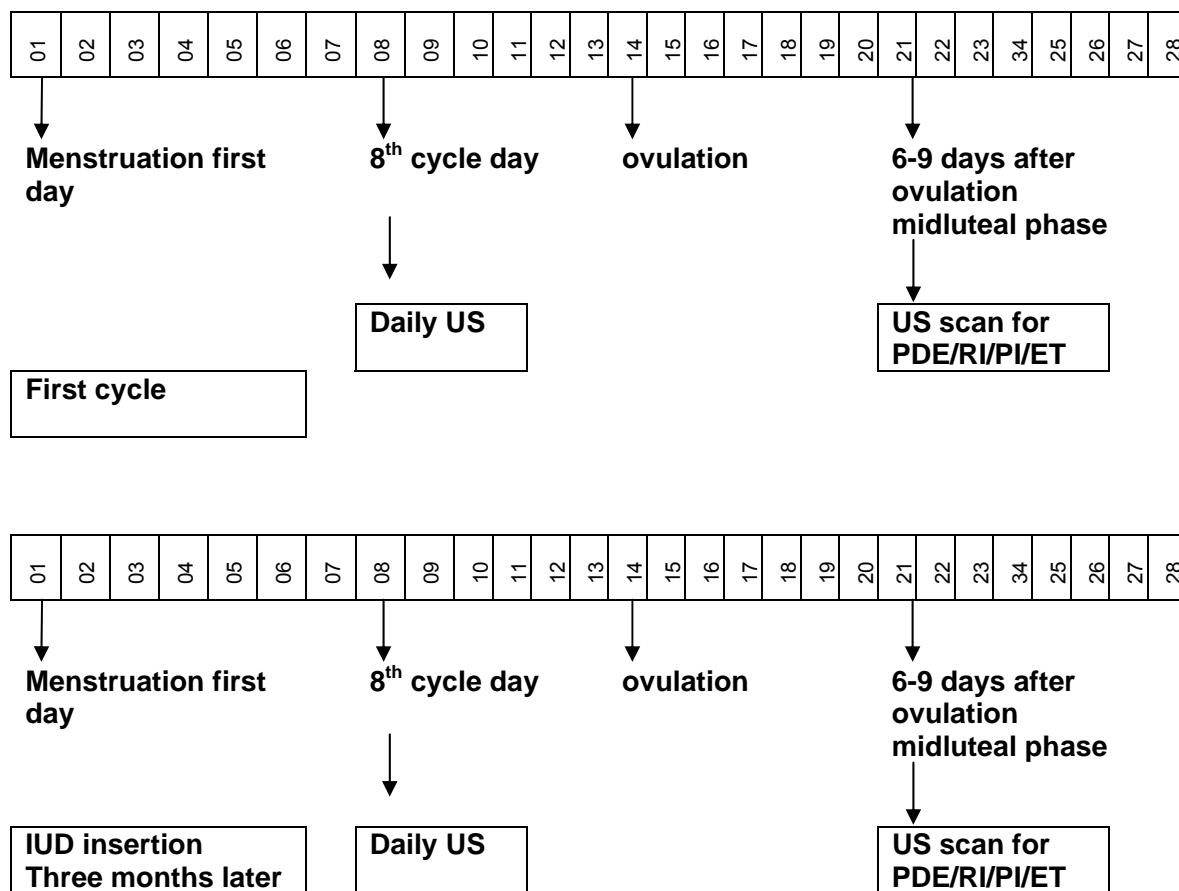


Figure 1. Study Protocol

Table I. Uterine artery pulsatility index (PI), uterine artery resistance index (RI) and endometrial thickness (ET) in the midluteal phase: median (percentiles 25-75).

	Before IUD insertion (n=25)	After IUD insertion (n=25)	P-value
PI	2.70 (1.95-3.61)	2.52 (2.12-3.05)	0.40
RI	0.87 (0.83-0.93)	0.86 (0.83-0.96)	0.19
ET (mm)	7 (6-8)	9 (7.5-10)	<0.001

Wilcoxon test.

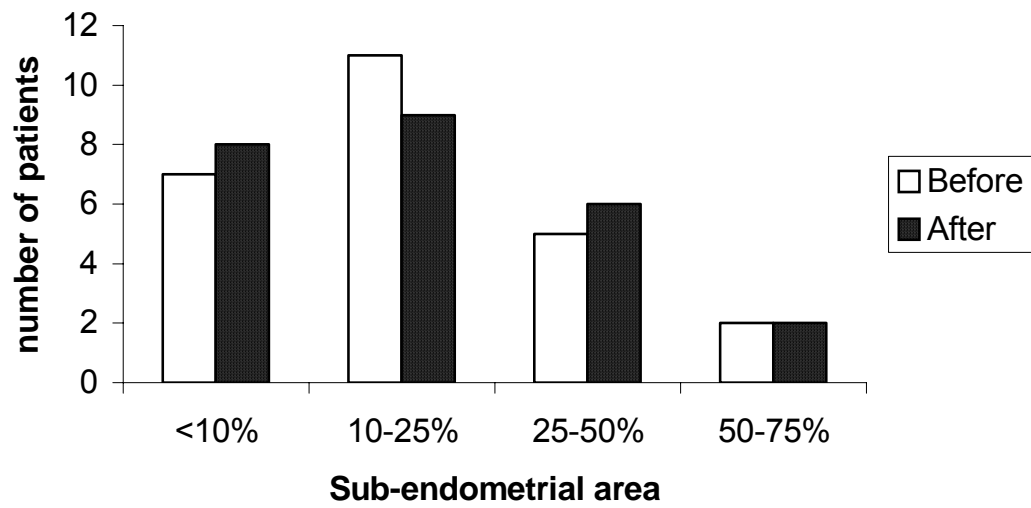


Figure 2: Sub-endometrial power Doppler classification before and after (3 mo) IUD insertion. Marginal homogeneity test ($P=1.00$)

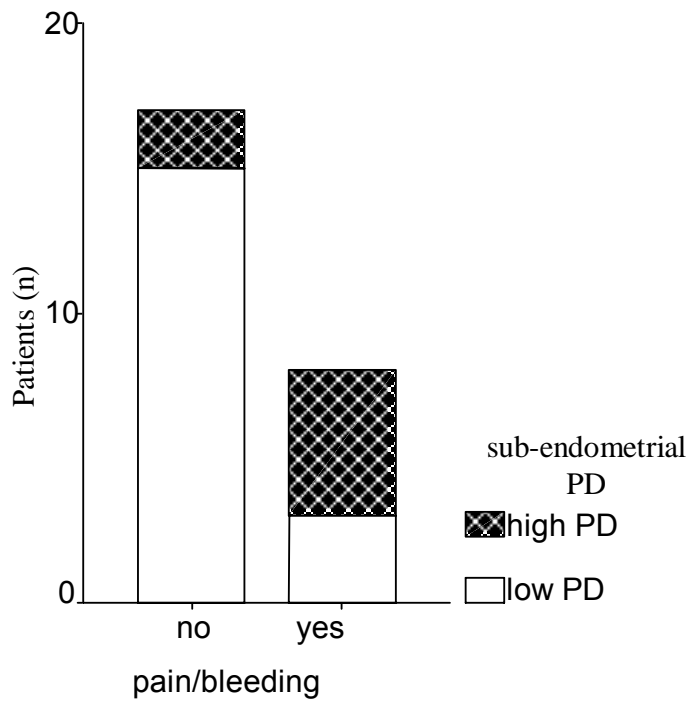


Figure 3. Analysis of the IUD-induced side-effects (pain or bleeding) sub-group. Power Doppler classification was divided in two groups: the first with minor sub-endometrial vascularization (PDE classification I and II) and the second with major sub-endometrial vascularization (PDE classification III and IV).

Qui square test ($P=0.016$)

Table II. Logistic regression. Dependent variable: IUD-induced side-effects (dysmenorrhoea or menorrhagia).

Independent variables	OR	95% CI for Exp B	P-value
Power Doppler energy	9.1659	1.0280-81.7246	0.047
Age (years)	0.8550	0.6814-1.0729	0.176
Parity	2.4571	0.1509-40.0168	0.530

Table III. Uterine artery pulsatility index (PI), uterine artery resistance index (RI) and endometrial thickness (ET) in the midluteal phase: median (percentiles 25-75). Two groups: with and without dysmenorrhoea or menorrhagia (three months after IUD insertion).

	Without dysmenorrhoea/menorrhagia (n=18)	With dysmenorrhoea/menorrhagia (n=7)	<i>P</i>-value
PI	2.60 (2.11-3.17)	2.44 (2.09-2.71)	0.71
RI	0.91 (0.83-0.99)	0.84 (0.84-0.86)	0.30
ET (mm)	9 (7-10)	10 (6-10)	0.33

Wilcoxon-Mann-Whitney

**EFEITO DO DISPOSITIVO INTRA-UTERINO DE COBRE (TCU 380A) NA
VASCULARIZAÇÃO SUB-ENDOMETRIAL E NOS ÍNDICES DE RESISTÊNCIA E
PULSATILIDADE DAS ARTÉRIAS UTERINAS**

M. F. Jiménez, E. P. Passos, P. A. P. Fagundes, F. M de Freitas, D. V. Vetori e J. S. L.
Cunha-Filho

Unidade de Reprodução Humana

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Dra. Mirela Foresti Jiménez,

Rua Ramiro Barcelos, 2350/1135

90035-003 – Porto Alegre, RS – Brazil

Fone: +55-51-2101-8117

E-mail: mirela.jimenez@brturbo.com

Este artigo foi submetido à análise para publicação na revista *Fertility and Sterility*

OBJETIVO: O principal objetivo do estudo foi avaliar o efeito do dispositivo intra-uterino (DIU) de cobre (TCu 380A) na microvascularização sub-endometrial e no fluxo de artérias uterinas, durante a fase lútea média.

DESENHO DO ESTUDO: Foi realizado um ensaio clínico.

LOCAL DE REALIZAÇÃO: Hospital de clínicas de Porto Alegre (hospital universitário).

PACIENTES: 25 pacientes com ciclos menstruais regulares, avaliadas antes e depois da inserção do DIU.

INTERVENÇÃO: No ciclo menstrual que antecedeu a inserção do DIU, as pacientes foram examinadas na fase lútea média (6 a 9 dias após a ovulação, observada por controle ecográfico) para obter medidas de *power* Doppler, índice de resistência, índice de pulsatilidade e espessura endometrial pela ultra-sonografia. A medida *do power* Doppler foi classificada em 5 categorias, de acordo com o percentual de área de captação do sinal de *power* Doppler: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) V (>75%).

O segundo exame foi realizado três meses depois da inserção do DIU de cobre, também na fase lútea média (6 a 9 dias depois da ovulação, diagnosticada por controle ecográfico de crescimento folicular).

MEDIDAS AFERIDAS: *Power* Doppler, índice de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas e medida da espessura endometrial.

RESULTADOS: Não houve alterações significativas na medida do *power* Doppler da região sub-endometrial, realizado na fase lútea média, três meses depois da inserção do DIU ($P=1,00$). No entanto, o fluxo sanguíneo sub-endometrial foi maior nas pacientes que apresentaram efeitos colaterais induzidos pelo DIU (dismenorréia e/ou sangramento) ($P=0,047$). A diferença permaneceu significativa mesmo após o controle de possíveis variáveis de confusão (idade e paridade), usando regressão logística ($P=0,047$). Não

houve diferença significativa nos índices de pulsatilidade e resistência, antes e três meses depois da inserção do DIU ($P=0,40$ e $0,19$, respectivamente).

CONCLUSÕES: O DIU de cobre não modifica a micro-vascularização sub-endometrial, analisada pelo exame de *power* Doppler e não modifica a vascularização das artérias uterinas, avaliada pelos índices de resistência e pulsatilidade, utilizando a Dopplervelocimetria. No entanto, nas pacientes que apresentaram para-efeitos induzidos pelo DIU (dismenorréia e/ou sangramento), houve aumento de fluxo sanguíneo, evidenciado pelo *power* Doppler.

PALAVRAS CHAVE: *Power* Doppler/ vascularização endometrial/ índice de resistência/ índice de pulsatilidade

INTRODUÇÃO

O mecanismo de ação do dispositivo intra-uterino (DIU) varia consideravelmente entre as diferentes espécies animais, dificultando que os resultados dos estudos em animais sejam utilizados para definir o mecanismo de ação em humanos (Stanford *et al.*, 2002). Múltiplos mecanismos de ação são conhecidos por atuar em humanos, tanto na pré como na pós-fertilização (Stanford *et al.*, 2002). Existe muita controvérsia, no que se refere ao mecanismo de ação do DIU (Stanford *et al.*, 2002; Rivera *et al.*, 1999). É bem conhecido que a reação de corpo estranho na cavidade uterina causa alterações celulares e bioquímicas que podem ser tóxicas para os espermatozoides (Seleem *et al.*, 1996). O DIU de cobre libera cobre e sais de cobre que têm impacto bioquímico e morfológico sobre o endométrio e produzem, também, alterações no muco cervical e secreções endometriais. Foi demonstrado que os receptores de progesterona ainda têm expressão no 25º dia do ciclo menstrual, na presença de DIU (TCu 200 (Castro *et al.*, 1986). Além disto, os íons de cobre aumentam a produção de prostaglandinas (Green and Hagenfeldt, 1975; Hillier and Kasonde, 1976). Além do mais, a expressão de subunidade de integrinas está relacionada com a “janela de implantação” (Tabibzadeh *et al.*, 1992), sendo observada diferença significativa na percentagem de amostras negativas de integrina α -v- β -3, no endométrio de usuárias de DIU, mas não houve diferença na expressão de integrinas α -4- β -1 e α -v- β -3, tanto no lúmen como nas glândulas (Savaris *et al.*, 2000).

O para-efeito mais freqüente do DIU de cobre é o sangramento vaginal e a dismenorréia, sendo que as taxas de remoção, por esta razão, dentro do primeiro ano de uso, são de 5-15% (Treiman *et al.*, 1995). Entretanto, o efeito do DIU de cobre no fluxo sanguíneo uterino, avaliado pela ultra-sonografia, não é bem conhecido.

O DIU de cobre não altera a resistência de fluxo sanguíneo das artérias uterinas, embora, em pacientes com dismenorréia após inserção de DIU, parece haver redução no índice de pulsatilidade de artérias uterinas (Järvelä *et al.*, 1998a). Por outro lado, o DIU

com levonorgestrel parece estar associado com aumento na resistência de fluxo sanguíneo nas artérias uterinas, durante a fase lútea média e o efeito depende dos níveis circulantes de levonorgestrel (Järvelä *et al.*, 1998c).

O *power* Doppler é uma nova modalidade de tecnologia de ultra-som, que tem sido utilizada em várias especialidades e tem um importante potencial diagnóstico e prognóstico. A sua quantificação tem sido objeto de interesse nos últimos anos a tem variado de medidas subjetivas a técnicas quantitativas (Bhal *et al.*, 1999; Contart *et al.*, 2000; Baruffi *et al.*, 2002; Järvelä *et al.*, 2003). Nosso grupo realizou um estudo para validar uma classificação para o *power* Doppler do endométrio, mostrando uma classificação simples e bastante reproduzível (observações não publicadas).

O objetivo deste estudo é a avaliação do efeito do DIU de cobre na vascularização sub-endometrial a no fluxo de artérias uterinas utilizando o *power* Doppler e a Dopplervelocimetria, durante a fase lútea média.

MATERIAL E MÉTODO

DELINEAMENTO

Realizamos um ensaio clínico, com pacientes da Unidade de Reprodução Humana, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

PACIENTES

A população estudada era composta de 25 mulheres voluntárias. Os critérios de inclusão foram: 1. Mulheres menstruando regularmente (ciclo menstrual variando de 24 a 35 dias); e 2. Níveis séricos normais de TSH, FSH e prolactina no 3º dia do ciclo.

Anticoncepcionais orais, ou qualquer outra medicação hormonal não pode ter sido usada nos três meses anteriores. Qualquer tipo de dispositivo intra-uterino deve ter sido removido há, pelo menos, três meses. As pacientes foram orientadas a não utilizar anti-

inflamatórios não-esteróides (NSAID), nas 24 horas que antecederam qualquer um dos exames.

Os critérios de exclusão foram: gestação, doença inflamatória pélvica aguda ou crônica, metrorragia de etiologia não esclarecida, alergia ao cobre, cervicite, displasia da cérvix ou tumor genital. Todas as pacientes realizaram exame ginecológico e citológico de cérvix uterina há, pelo menos, doze meses.

PROTOCOLO DE ESTUDO

Todas as pacientes foram examinadas com ultra-sonografia diária, depois do oitavo dia do ciclo, para observar crescimento folicular e confirmar a ovulação, para, então, serem examinadas na fase lútea média (6 a 9 dias depois da ovulação) e realizarem medidas de *power* Doppler, índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR) e espessura endometrial (EE) através da ultra-sonografia (figura 1). O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (#02-127) e o consentimento informado foi obtido de todas as pacientes.

Três meses depois da inserção do DIU (TCu 380A), também na fase lútea média (6 a 9 dias após a ovulação, confirmada por ultra-sonografia), todas as pacientes foram submetidas ao mesmo protocolo (figura 1).

O equipamento de ultra-sonografia é: SONOACE 9900 (Medison SA – KOREA). Os exames de *power* Doppler, IP, IR e EE foram realizados via vaginal. O equipamento de ultra-sonografia foi regulado para alta sensibilidade, na ausência de qualquer ruído aparente, usando um filtro de 50 HZ, frequência de 750 Hz. O mesmo investigador (PAPF), usando o mesmo equipamento e parâmetros, com o objetivo de eliminar variação inter-observador, realizou todos os exames. A imagem do endométrio foi avaliada usando um corte longitudinal do útero.

Todos os exames foram realizados entre 0800 e 1000 horas, com o objetivo de evitar interferências pelo ritmo circadiano (Zaidi *et al.*, 1995b).

A avaliação pelo *power* Doppler foi classificada em 5 categorias, de acordo com o percentual de área de captação do sinal: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) V (>75%) (observações não publicadas). O sinal do *power* Doppler foi considerado positivo quando atingiu, pelo menos, a membrana basal do endométrio.

Analisamos, também, a vascularização sub-endometrial, índice de pulsatilidade e resistência no sub-grupo de pacientes que apresentaram para-efeitos com o DIU, com o objetivo de avaliar os efeitos hemodinâmicos. Nós dividimos as pacientes em dois grupos: o primeiro grupo com as pacientes que apresentaram dor ou sangramento após inserção do DIU (n=7) e um segundo grupo com as pacientes que não apresentaram tais para-efeitos (n=18). Nas pacientes que apresentaram para-efeitos, o *power* Doppler foi dividido em dois grupos: o primeiro com vascularização sub-endometrial menor (classificações I e II de área de captação do sinal) e o segundo com vascularização sub-endometrial maior (classificações III e IV de área de captação do sinal).

A análise estatística foi realizada usando o teste de Wilcoxon para IP, IR e EE e o teste marginal de homogeneidade para os dados categóricos (*power* Doppler). Para realizar a comparação entre os grupos de pacientes com e sem para-efeitos foi realizada regressão logística e teste de Wilcoxon-Mann-Whitney. Um valor de *P* menor que 5 foi considerado estatisticamente significativo.

Foi realizado cálculo de tamanho de amostra e para $P\beta=80\%$, sendo necessário incluir 24 pacientes.

RESULTADOS

Neste estudo foram avaliadas 25 pacientes na fase lútea média. A mediana (percentis 25-75) da idade (anos) e índice de massa corporal (IMC) (Kg/m²) foi de 30,00

(24,50-33,00) e 23,45 (20,24-27,68), respectivamente. A paridade foi de nenhum parto em 6 pacientes (24%), de 1 parto em 8 pacientes (32%), de 2 partos em 6 pacientes (24%), de 3 partos em 4 pacientes (16%) e de 5 partos em 1 paciente (4%) da amostra. A história prévia de aborto de nenhum aborto em 17 pacientes (68%), de 1 aborto em 6 pacientes (24%) e de 2 abortos em 2 pacientes (8%) da amostra de pacientes.

Não houve diferença significativa na vascularização sub-endometrial, avaliada com *power Doppler*, antes e depois da inserção do DIU ($P=1,00$) (figura 2). O índice de pulsatilidade e resistência de artérias uterinas não apresentou diferença significativa antes e depois da inserção do DIU ($P= 0,40$ e $0,19$, respectivamente). A mediana (percentis 25-75) da espessura endometrial foi menor antes 7 (6-9), que depois da inserção do DIU 9 (7,5-10) ($P < 0.001$) (tabela I).

Na avaliação dos para-efeitos do DIU, observou-se que 7 das 25 pacientes tiveram aumento importante do sangramento vaginal ou dor forte, três meses após inserção do DIU (destas, 5 com dor e 2 com sangramento). O DIU foi retirado, três meses depois, em 2 pacientes que apresentaram para-efeitos: uma por excessivo sangramento menstrual e outra por dor. A análise dos dois grupos, com para-efeitos (7) e sem para-efeitos (18), mostrou que existe aumento no fluxo sangüíneo sub-endometrial, após inserção do DIU, naquelas pacientes que apresentaram para-efeitos, quando comparadas com o as pacientes que não apresentaram ($P= 0,016$) (figura 3). Com o objetivo de controlar as possíveis variáveis de confusão em relação aos para-efeitos do DIU, resolvemos realizar uma regressão logística, tendo como variável dependente os efeitos adversos e variáveis resposta o *power Doppler*, idade e paridade e a diferença permaneceu significativa ($P= 0,047$) (tabela II). Não houve diferença nos IP, IR e EE ($P=0,71$; $0,30$ e $0,33$, respectivamente) nas pacientes que apresentaram para-efeitos, três meses depois da inserção do DIU (Tabela III)

Analisamos os parâmetros do *power Doppler*, IR e IP antes da inserção do DIU nas pacientes que, posteriormente, apresentaram para-efeitos em relação àquelas pacientes que não desenvolveram para-efeitos e não houve diferença significativa no *power Doppler* ($P=0,97$), IR ($P=0,95$) e IP (0,72).

DISCUSSÃO

O principal objetivo do estudo foi avaliar os efeitos hemodinâmicos uterinos do DIU de cobre. O DIU de cobre modifica a vascularização sub-endometrial nas pacientes que apresentam para-efeitos induzidos pelo DIU (dismenorréia e menorragia), quando avaliado pelo *power Doppler*, mesmo após controle de potenciais variáveis de confusão. O fluxo sanguíneo das artérias uterinas não se alterou após a inserção do DIU, quando avaliado pelos índices de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas, usando a Dopplervelocimetria. Não houve diferença na avaliação com *power Doppler*, IP e IR antes da inserção do DIU, sugerindo que os exames, realizados na fase lútea média, não podem prever quais pacientes estão mais propensas a desenvolver para-efeitos induzidos pelo DIU.

A medida da espessura endometrial esteve significativamente aumentada após a inserção do DIU, o que está, provavelmente, relacionada à presença do DIU na cavidade uterina e não a efeito endometrial do dispositivo. Não foi subtraída a espessura do dispositivo (2,3mm) da espessura endometrial total, medida na fase lútea média. Então, a real espessura endometrial, após a inserção do DIU, deve ser um pouco menor do que a relatada neste estudo.

A avaliação ultra-sonográfica pelo *power Doppler* tem a vantagem de depender menos da direção de fluxo vascular, possuir maior sensibilidade, tornando-o uma ferramenta importante nos estudos de tecidos e vascularização de tumores. Comparada a Dopplervelocimetria, o *power Doppler* tem sido melhor para avaliar áreas de baixo fluxo

(Jain *et al.*, 1991). Utilizando o *power Doppler* é possível obter quantificação in-vivo da vascularização microscópica do endométrio, uma área que contém um fraco sinal vascular, que é difícil de detectar na Dopplervelocimetria (Zaidi *et al.*, 1995a; Amso *et al.*, 2001). O estudo da vascularização sub-endometrial pode servir como um fator preditivo da receptividade endometrial para implantação de embriões (Yang *et al.*, 1999). Nós levantamos a hipótese de que o efeito do DIU de cobre na cavidade uterina poderia ser detectado pela avaliação com *power Doppler* e este é o primeiro estudo avaliando o efeito do DIU de cobre na vascularização sub-endometrial, utilizando *power Doppler*.

Um aumento na resistência de fluxo sanguíneo no útero, em pacientes com dismenorréia primária, foi evidenciado em estudos de Dopplervelocimetria (Pirhonen and Pulkkinen, 1995). Estudos com Dopplervelocimetria mostraram que não há alterações durante o período menstrual no IP de artérias uterinas, depois da inserção de DIU (Järvelä *et al.*, 1998a), mas houve diminuição nos IP, depois da inserção do DIU em pacientes que tinham dismenorréia, sugerindo uma baixa resistência de fluxo, que aumentaria o fluxo sanguíneo para o útero nas pacientes com dismenorréia (Järvelä *et al.*, 1998a; Momtaz *et al.*, 1994). Parece que os para-efeitos relacionados com a inserção do DIU estão associados com aumento de fluxo sanguíneo para o útero. Os resultados também sugerem que haja diferença no fluxo sanguíneo, mesmo antes da inserção do DIU, nas pacientes que apresentam dismenorréia com o DIU. Sugerindo, então, que possa haver disfunção uterina que torna a paciente mais propensa a desenvolver para-efeitos, depois da inserção do DIU (Järvelä *et al.*, 1998a). No nosso estudo encontramos, em concordância com outros estudos (Järvelä *et al.*, 1998a), um aumento no fluxo sanguíneo em pacientes com para-efeitos induzidos pelo DIU. Por outro lado, não encontramos, nestas pacientes, alterações na avaliação com *power Doppler*, nos índices

de resistência e pulsatilidade antes da inserção do DIU, provavelmente, porque realizamos os exames somente na fase lútea média.

O DIU com levonorgestrel aumenta a impedância de fluxo nas artérias uterinas na fase lútea média. Concomitantemente, com a alteração na resistência de fluxo sanguíneo, existe uma diminuição na concentração de progesterona, na fase lútea média (Järvelä *et al.*, 1998c). A administração de anti-inflamatório não-esteróide, embora efetiva em aliviar a dismenorréia de pacientes com e sem DIU, reduziu o fluxo sanguíneo de artérias uterinas somente na ausência do DIU (Järvelä *et al.*, 1998b). Eles estabeleceram o momento para realização do exame, através da data esperada da próxima menstruação e não de acordo com o dia da ovulação. Com o objetivo de excluir possível efeito de ciclos anovulatórios nos resultados, nós examinamos as pacientes com ultra-sonografia diária, durante um ciclo, observando o crescimento folicular e confirmando a ovulação. Os controles foram realizados na mesma paciente (amostra pareada), para evitar confundimento. Além disto, mesmo após o controle de possíveis variáveis de confusão (idade e paridade), utilizando regressão logística, a vascularização sub-endometrial foi a única variável associada com dismenorréia ou menorragia.

Novos estudos poderão ser realizados para determinar alterações vasculares com o *power* Doppler e Dopplervelocimetria durante a fase folicular precoce, fase folicular média e peri-ovulatória do ciclo menstrual normal de mulheres usando diferentes tipos de DIU (especialmente o DIU com levonorgestrel). Existe grande interesse em estabelecer fatores preditivos dos para-efeitos relacionados ao DIU, que é um dos métodos mais seguros e mais comumente usados no mundo todo.

Concluindo, o DIU de cobre altera a micro-vascularização sub-endometrial, quando avaliada pelo *power* Doppler, em pacientes que apresentam para-efeitos relacionados ao DIU (dismenorréia ou sangramento). O fluxo sanguíneo de artérias uterinas não foi

alterado depois da inserção do DIU, quando avaliado pelos índices de resistência e pulsatilidade, utilizando a Dopplervelocimetria.

AGRADECIMENTOS: Agradecemos ao suporte financeiro recebido do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Também agradecemos ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil.

Este estudo foi apresentado oralmente (resultados preliminares) no XVII FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics, em Santiago, Chile, de 2 a 7 de novembro de 2003.

REFERÊNCIAS

Amso NN, Watermeyer SR, Pugh N, Obrien S and D'Angelo A (2001) Quantification of power Doppler energy and its future potential. *Fertil Steril* 76 (3), 583-7.

Baruffi R. L. Contart P., Mauri A. L., Petersen C., Felipe V. Gabriellini E. (2002), Franco Junior J. G. A uterine ultrasonographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 19 (3): 99-102.

Bhal P. S., Pugh N., Chui D., Gregory L., Walker S. M., Shaw R. W. (1999) The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum. Reprod.*, 14: 939-45.

Castro A., Gancedo G. P., Contreras F. and Lapena G. (1986) The effect of copper ions in vivo on specific hormonal endometrial receptors. *Adv. Contracep.*, 2: 239-404.

Contart P., Baruffi R. L., Coelho J., Mauri A. L., Petersen C., Franco Junior J. G. (2000) Power Doppler endometrial evaluation as a method for the prognosis of embryo implantation in an ICSI program. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 17 (6): 328-4.

Green K. and Hagenfeldt K. (1975) Prostaglandins in the human endometrium. Gas chromatographic-mass spectrometric quantification before and after IUD insertion. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122: 611-4.

Hillier K. and Kasonde J. M. (1976) Prostaglandins E and F concentration in human endometrium after insertion of intrauterine contraceptive device. *Lancet*, I: 15-6.

Jain S. P., Fan P. H., Philpot E. F. *et al* (1991) Influence of various instrument settings on the flow information derived from the power mode. *Ultrasound Med. Biol.*, 17:49-54.

Järvelä I., Sladkevicius P., Tekay A. H., Campbell S. and Nargund G. (2003) Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and colour flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 21 (3): 277-82.

Järvelä I. Tekay A., Jouppila P. (1998a) The Effects of a Copper-intrauterine Devices on the Uterine Artery Blood Flow in Regularly Menstruating Women. *Hum. Reprod.*, 13 (7): 1841-1845.

Järvelä I. Tekay A., Jouppila P. (1998b) The Effects of Diclofenac on Uterine Artery Blood Flow Resistance During Menstruation in Patientes With and Without a Copper Intrauterina Devices. *Hum. Reprod.*, 13 (9): 2480-2483.

Järvelä I. Tekay A., Jouppila P. (1998c) The Effects of a Levonorgestrel-releasing Intrauterine System on Uterine Artery Blood Flow, Hormone Concentrations and Ovarian Cyst Formation in Fertile Women. *Hum. Reprod.*, 13 (12): 3379-3383.

Momtaz M. Zayed M. Rashid K. *et al* (1994) Doppler study of the uterine artery in patients using an intrauterine contraceptive device. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 4: (231-4).

Pirhonen J. & Pulkkinen M. (1995) The effect of nimesulide and naproxen on the uterine and ovary arterial blood flow velocity. A Doppler study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 74 (7): 549-53.

Rivera R., Yacobson I. and Grimes D. (1999) The mechanism of action of hormonal contraceptives and intrauterine contraceptives devices. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 181 (5); 1263-9.

Seleem S., Hills F. A., Salem H. T., El-Nashar E. M. and Chard T. (1996) Mechanism of action of the intrauterine device: evidence of a specific biochemical deficiency in the endometrium. *Hum. Reprod.*, 11: 1220-2.

Savaris R., Zettler C. G., Ferrari A. N. (2000) Expression of alpha-4beta-1 and alpha-v-beta3 integrins in the endometrium of women using the T200 copper intrauterine device. *Fertil. Steril.*, 74 (6): 1102-7.

Stanford J. B. and Mikolajczyk R. T. (2002) Mechanisms of action of intrauterine device: update and estimation of postfertilization effects. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 187 (6) 1699-708.

Tabibzadeh S. (1992) Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Hum. Reprod.*, 7: 876-82.

Treiman K., Liskin L. Kols A., and Rinehart W. (1995) IUD – An Update. *Popul. Rep.* Baltimore Johns Hopkins University School of Public Health, Population Information Program., B, n° 6: 1-35.

Yang J. H., Wu M. Y., Chen C. D., Jiang M. C. and Yang Y. S. (1999) Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 14: 1606-10.

Zaidi J., Campbell S., Pittrof R. *et al.* (1995a) Endometrial thickness morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an *in vitro* fertilization programme. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 6: 191-198.

Zaidi J., Jurkovic D., Campbell S., Pittrof R., McGregor A., Tan S. L. (1995b) Description of circadian rhythm in uterine artery blood flow during the peri-ovulatory period. *Hum. Reprod.*, Jul; 10 (7): 1642-6.

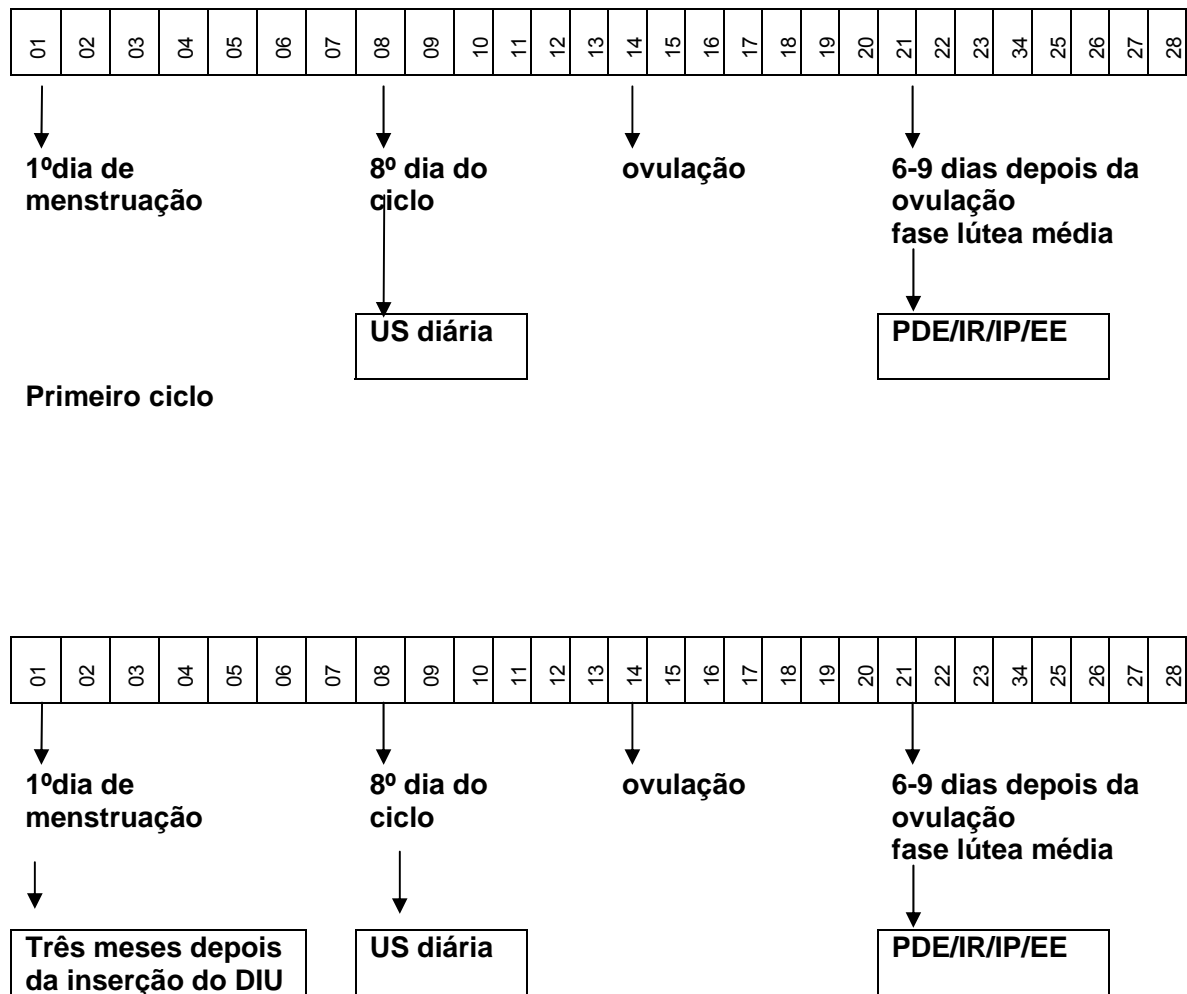


Figura 1. Protocolo de estudo

Tabela I. Índice de pulsatilidade de artéria uterina (IP), índice de resistência de artéria uterina (IR) e espessura endometrial (EE) na fase lútea média: mediana (percentis 25 e 75).

	Antes da inserção do DIU (n=25)	Depois da inserção do DIU (n=25)	<i>P</i>
IP	2,70 (1,95-3,61)	2,52 (2,12-3,05)	0,40
IR	0,87 (0,83-0,93)	0,86 (0,83-0,96)	0,19
EE (mm)	7 (6-8)	9 (7,5-10)	<0,001

Teste de Wilcoxon

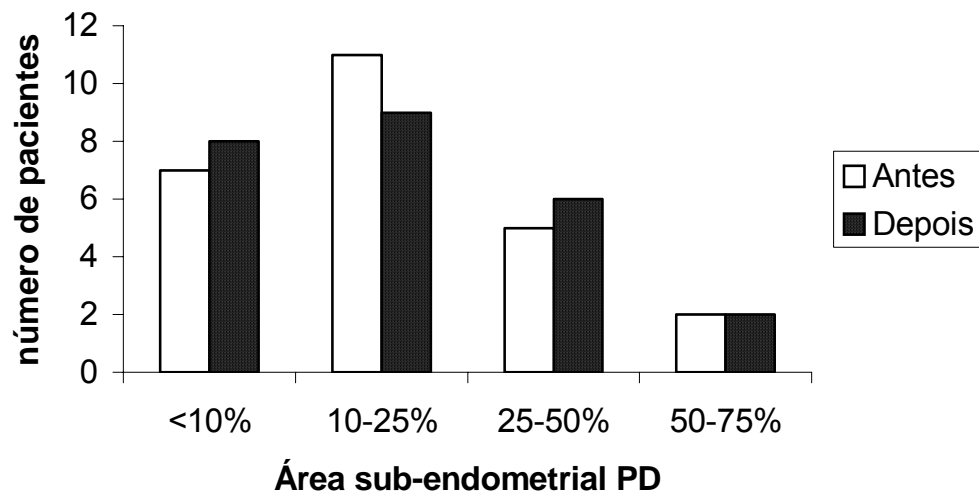


Figura 2: Classificação do *power* Doppler para vascularização sub-endometrial, antes e depois (três meses) da inserção do DIU.

Marginal homogeneity test ($P= 1,00$).

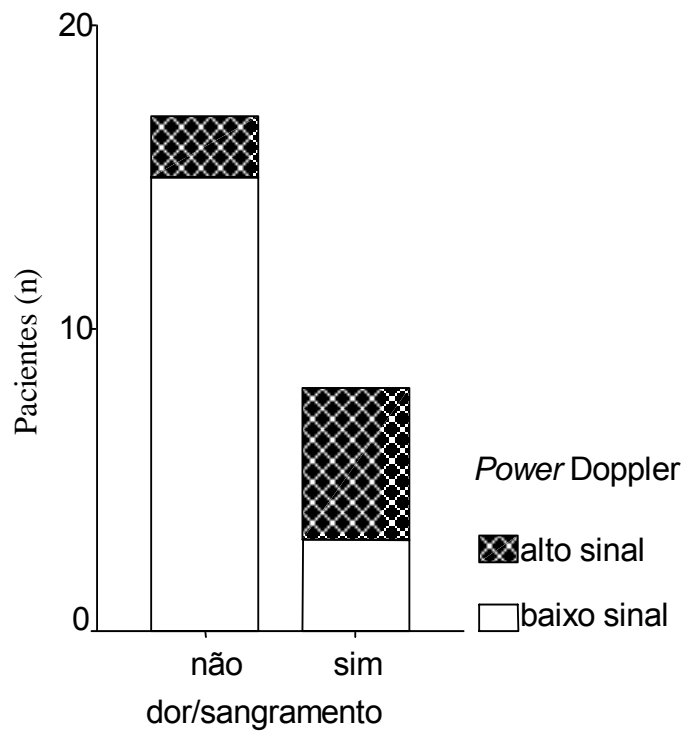


Figura 3. Análise do sub-grupo de pacientes que desenvolveram para-efeitos induzidos pelo DIU (dor e sangramento). A classificação do *power Doppler* foi dividida em dois grupos: o primeiro com baixo sinal de captação (classificação I e II do *power Doppler*) e o segundo com alto sinal de captação (classificação III e IV).

Teste do qui-quadrado ($P=0,016$).

Tabela II. Regressão logística. Variável dependente: para-efeitos do DIU (dismenorréia ou metrorragia) e variáveis independentes *power* Doppler da região sub-endometrial (PD), idade e paridade.

Variáveis independentes	RC	IC 95% para Exp B	P
PD	9,1659	1,0280-81,7246	0,047
Idade (anos)	0,8550	0,6814-1,0729	0,176
Paridade	2,4571	0,1509-40,0168	0,530

Tabela III. Índice de pulsatilidade de artéria uterina (IP), índice de resistência de artéria uterina (IR) e espessura endometrial (EE) na fase lútea média: mediana (percentil 25 e 75). Em dois grupos: com e sem dismenorréia ou metrorragia (três meses depois da inserção do DIU).

	Sem dismenorréia ou metrorragia (n=18)	Com dismenorréia ou metrorragia (n=7)	<i>P</i>
IP	2,60 (2,11-3,17)	2,44 (2,09-2,71)	0,71
IR	0,91 (0,83-0,99)	0,84 (0,84-0,86)	0,30
EE (mm)	9 (7-10)	10 (6-10)	0,33

Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney

9. CONCLUSÕES

A nova classificação estudada para avaliação da vascularização sub-endometrial com o *power* Doppler, mostrou pequena variação inter-observador. É uma classificação simples e de baixo custo. Os resultados tornam esta classificação reproduzível, possibilitando estabelecer comparações.

O DIU TCu 380A não modifica a micro-circulação sub-endometrial após três meses de uso. No entanto, houve um aumento no fluxo vascular na micro-circulação sub-endometrial em mulheres que apresentaram sangramento ou dismenorréia, após três meses de uso do DIU.

O DIU de cobre não altera o fluxo das artérias uterinas, avaliado pelos índices de resistência e pulsatilidade, após três meses de uso. Não houve alterações nos índices de resistência e pulsatilidade de artérias uterinas, no grupo de pacientes que apresentaram para-efeitos induzidos pelo DIU.

10. PERSPECTIVAS FUTURAS

A partir destes resultados podemos extrapolar uma série de pesquisas com o objetivo de melhor entendimento da fisiologia endometrial e vascular em usuárias de diferentes tipos de DIU.

Novos estudos da micro-circulação endometrial deverão ser realizados em outras populações específicas como as de adolescentes e pacientes no climatério. A avaliação das alterações vasculares, com *power* Doppler, pode ser realizada em outras fases do ciclo menstrual, tais como, fase folicular precoce, fase folicular média e peri-ovulatória.

Estudos podem ser realizados para determinar se existem alterações vasculares arteriais e do leito sub-endometrial em usuárias de diferentes tipos DIU, em especial o DIU com progesterona, que apresenta importante modificação no padrão de sangramento menstrual.

Novas tecnologias, como a ultra-sonografia 3D, também têm sido sugeridas, para obter dados quantitativos do volume endometrial e do fluxo sanguíneo sub-endometrial e poderão ser estudadas em usuárias de diferentes tipos de DIU.

Outros marcadores bioquímicos endometriais, como as citoquinas, integrinas, IGF, entre outros, devem ser mais investigados em usuárias de DIU, pois os seus mecanismos de ação não estão, ainda, completamente esclarecidos.