UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

STAEL PORTO LEITE

Padronização de uma técnica para medida da espessura e do volume endometrial por ultrassonografia tridimensional: um estudo de confiabilidade e concordância intra e interobservador

RIBEIRÃO PRETO
2011

STAEL PORTO LEITE

Padronização de uma técnica para medida da espessura e do volume endometrial por ultrassonografia tridimensional: um estudo de confiabilidade e concordância intra e interobservador

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências Médicas.
Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Prof. Dr. Wellington Martins de Paula

RIBEIRÃO PRETO

2011

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Leite, Stael Porto

Padronização de uma técnica para medida da espessura e do volume endometrial por ultrassonografia tridimensional: um estudo de confiabilidade e concordância intra e interobservador. Ribeirão Preto, 2011.

64p.:8 il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Paula, Wellington Martins de

1. Padronização; 2. Ultrassonografia; 3. Imagem Tridimensional; 4. Endométrio; 5. Medicina reprodutiva.

DEDICATÓRIA

Primeiro a Deus, por me amparar, guiar e retornar aos caminhos por ele a mim legados.

Aos meus pais, Francisco Alves Leite e Maria Antonia Porto Leite, por me trazerem à vida, oferecendo o alicerce adequado para minha formação como pessoa e profissional. Por me ensinarem como conquistar ideais através da perseverança, disciplina e otimismo.

Ao meu esposo, Evandro Luis Tronco, presença constante em minha vida, companheiro e cúmplice, obrigada pelo apoio e paciência.

Aos meus filhos, Lorenzo Porto Leite Tronco e Túllio Porto Leite Tronco, pelo exercício da paciência e demonstração de amor incondicional.

À minha irmã, Perla Porto Leite, que nunca deixou de me incentivar com sua certeza em um futuro melhor, construído sob o esforço de muito trabalho.

À minha avó, Geralda Alves Porto, exemplo de alicerce, fé e coragem.

Ao meu tio, Prof. Dr. Antônio Sebastião Porto, meu espelho, profissional, fraterno e acadêmico.

Aos meus irmãos, Franz Porto Leite e Germano Porto leite, cada qual a seu tempo e lugar, obrigada pelo respeito, carinho e admiração pelos meus ideais.

A você meu irmão, Cristian Porto Leite, e também aos outros anjos que me acolhem dentro das lembranças, obrigada por ter-me presenteado com nosso breve tempo de convivência.

Ao meu orientador, Wellington de Paula Martins, por ter me acolhido como amigo e professor, com paciência e atitudes firmes que competem a um brilhante mentor. Obrigada pela confiança, pelo carinho, pelo tempo e pelos conhecimentos depositados em mim e em meu trabalho.

Ao mestre, Rui Alberto Ferriani, obrigada por sempre manter seu voto de confiança e amizade, você, uma mente brilhante e abençoada que sempre inova e conduz, com sabedoria, seus subordinados.

Agradecimento aos mestres

Ao Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá, pelo exemplo como pesquisador, professor e trabalho dedicado ao sempre futuro desta nossa tão amada Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

À Profa. Dra. Maria Matheus de Sala, por me deixar o legado do senso de compromisso.

Ao Prof. Dr. Francisco Mauad Filho, por me acolher entre seus alunos, com confiança e respeito em meu trabalho, dando-me oportunidade para me dedicar ao exercício da arte didática.

Ao Prof. Dr. Sérgio Pereira da Cunha, pelo acolhimento fraterno de muitos anos e por seus ensinamentos éticos.

Ao Prof. Dr. Aderson Brezowisck, pelas oportunidades e convivência.

À Profa. Dra. Rosana Maria Reis, amiga, incentivadora e conselheira, por anos mantendo presente a crença em nosso compromisso cotidiano.

Às Professoras Doutoras: Ana Carolina Jabur Silva Sá e Silva, Carolina Sales Vieira Macedo e Paula Andreia Navarro. Todas, um dia colegas de trabalho, hoje exemplo de dedicação à pesquisa, coordenação de ensino e acompanhamento clínico-profissional.

Ao Prof. Dr. Marcos Dias de Moura, pelos anos convividos como mestre e amigo.

Aos médicos assistentes e colegas de trabalho junto ao Setor de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto: Dr. Luis Alberto Manetta e Dr. Anderson Sanches de Melo, Dra Laura Ferreira Santana e Dra Flavia Raque Rosa Junqueira, Obrigada pelo estímulo, pela compreensão e amizade.

A todo o corpo docente do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, peça essencial nas engrenagens da formação profissional clínica e/ou de pesquisadores.

A todos os médicos assistentes que compõem ou já fizeram parte do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, pelos anos de cumplicidade nesta vida indiretamente acadêmica da qual todos nós participamos.

A todos os colegas de pós-graduação, que assim como eu, estão trilhando fartos e densos caminhos sob a igreja do conhecimento, às vezes mais de uma vez.

À Banca Examinadora, composta por professores: Wellington de Paula Martins, Rui Alberto Ferriani e Claudio Rodrigues Pires, que disponibilizaram seu tempo e conhecimento participando deste momento, concedendo sua presença como troféus acrescidos à minha formação acadêmica.

Meu muito obrigado.

Agradecimento aos amigos e colaboradores

Às pacientes que participaram deste estudo como voluntárias, meu agradecimento por sua inestimável colaboração e pela confiança depositada.

À Comissão de Pós-graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, pela nova oportunidade em retornar à formação acadêmica, e desta forma concluir minha formação como mestra.

Aos funcionários e colaboradores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP-USP, Reinaldo Vicente Tavares, Rosane Aparecida Cunha Casula e Gabriela Sica Francisco, pelo carinho e sempre pelo "bom humor" em atender às solicitações eternas. Em especial, Ilza Alves Rezende Mazzocato, pelos anos de testemunho em minha escalada, como profissional e conselheira.

À secretaria da pós-graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, na pessoa de Suelen Soares Bezerra, profissional competente e calorosa, sempre disposta a ajudar, esclarecendo passos da burocracia necessária para todos os pós-graduandos vencerem seu desafio.

Ao Setor de Informática do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP -USP, na pessoa de Ricardo Perussi Silva, profissional exemplar, colega de formação acadêmica (aluno da pós-graduação). É presença básica para manter a velocidade de produção acadêmica deste setor, uma vez que a informática é o veículo de importação e exportação do conteúdo acadêmico.

Sra. Elettra Greene, pela ajuda na tradução para a língua inglesa da publicação do produto deste Mestrado.

Aos funcionários e colaboradores do Laboratório de Ginecologia, Obstetrícia e Saúde Reprodutiva do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP; todos que participaram oferecendo cuidados, direta ou indiretamente, às pacientes que participaram deste estudo, assim como, àquelas que frequentam o setor como nossas pacientes, dia a dia. Equipe de enfermagem: Sandra Aparecida Cavichiollo Vianna, Maria Auxiliadora Pádua Rosa. Mariza Oliva Blanco; biólogas e farmacêuticas do Laboratório de Andrologia: Marilda Hatsumi Yamada Dantas, Maria Aparecida Carneiro Vasconcelos, Debora R. F. Medeiros Silva; biólogas do Laboratório de Reprodução Assistida: Maria Cristina Piccinato, Roberta Cristina Giorgenon, Camila kokudai Balieiro Santos, técnica do Laboratório de Saúde Reprodutiva: Maria Albina Verceze Bortolieiro; Técnica de laboratótio de biologia molecular: Cristiana Carolina Padovan Ribas. Oficial Administrativo: José Eduardo Bortolieiro; representante do setor em higiene e limpeza: Maria Aparecida Balbino.
A todos, obrigada sempre!

Ao Centro de Estudos - Prof. Dr. Rui Ferriani (participante do Grupo Integrado de Pesquisa "INCT" Hormônios e Saúde da Mulher), por oferecer a todos os pós-graduandos relacionados ao setor a oportunidade de participar e trocar conhecimento com pesquisadores de grande projeção.

À secretaria do Centro de Estudos - Prof. Dr. Rui Ferriani, principalmente à coordenadora do Setor de Pesquisa do Centro de Saúde Escola, Maria Cristina Brentigani, pelo inestimável carinho e auxílio nos processos burocráticos, e Océlia de Vasconcelos, auxiliar de enfermagem do Setor de Pesquisa Clínica, presença forte e amiga.

A todos que contribuíram, direta e indiretamente, para a realização deste trabalho, o meu eterno agradecimento.

"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende."

Leonardo da Vinci

RESUMO

LEITE, S.P. **Padronização de uma técnica para medida da espessura e do volume endometrial por ultrassonografia tridimensional: um estudo de confiabilidade e concordância intra e interobservador.** 2011. 64p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

Introdução: A avaliação endometrial na ultrassonografia, em geral, tem sua aplicação clínica em larga escala dentro do ciclo reprodutivo feminino, porém (até onde se sabe), sem uma forma padronizada para a realização dessas medidas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar se a padronização do exame ultrassonográfico tridimensional (US-3D) do útero no modo multiplanar - *standardization of the multiplanar view* - (SMV) melhora a confiabilidade intra e interobservador e a concordância em relação às medidas endometriais. **Casuística e Métodos**: Foram realizados exames ultrassonográficos, ao modo bidimensional (US-2D) e tridimensional (US-3D) em 30 mulheres submetidas a tratamento em reprodução assistida. Dois observadores mediram a espessura endometrial, utilizando US-2D e US-3D. O volume endometrial foi avaliado por meio do sistema computadorizado VOCAL™ em planos longitudinal (A) e coronal (C), utilizando o exame multiplanar de forma não padronizada - *unmodified multiplanar view* (UMV) e aquele sob a forma padronizada - *standardized multiplanar view* (SMV). O coeficiente de correlação intraclasse (CCI) foi empregado para avaliar a confiabilidade entre as medidas. A concordância foi avaliada calculando-se a média das diferenças e dos "limites de concordância de *Bland-Altman* (LoA)". O grau de facilidade em delimitar e contornar a interface endométrio-miométrio no plano A ou C foi determinado de forma subjetiva. **Resultados:** A medida do volume endometrial utilizando o SMV no plano A mostrou-se mais confiável (IC intra e interobservador 0,979 e 0,975) do que a medida da espessura endometrial utilizando US-2D (CCI = 0,742 e 0,702) ou US-3D (CCI = 0,890 e 0,784). Os limites de concordância interobservadores e confiabilidade intraobservador para medidas do volume endometrial foram maiores no método padronizado (SMV) utilizando o plano A, do que aquele não padronizado (VUM), tanto no plano A quanto no plano C. . Os intervalos de confiança ser ainda mais estreitos no plano A, chama a atenção Não houve diferença significativa com relação à confiabilidade ou concordância entre as medidas realizadas, tanto no plano A quanto no plano C, utilizando-se o método padronizado (SMV). No entanto, os observadores concordaram que o delineamento da interface endométrio-miométrio, a partir do plano A, foi mais fácil (50,0% para o primeiro observador e 46,7% para o segundo observador), ou comparáveis aos planos A e C (50% para o primeiro observador e 53,3% para o segundo observador), mas nunca no plano A mais difícil do que no plano C. **Conclusões**: As medidas do volume endometrial são mais confiáveis do que as da espessura endometrial, sendo mais bem realizadas, quando utilizado o método padronizado (SMV) no plano A

Palavras-chave: Padronização, Ultrassonografia; Imagem tridimensional; Endométrio; Medicina reprodutiva.

ABSTRACT

LEITE, S.P. **Standardized measurement technique may improve the reliability of measurements of endometrial thickness and volume**. 2011. 64p. Dissertation (Master). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

Introduction: Endometrial assessment with ultrasonography usually has its clinical application on a large scale in female reprodutive cycle but (as far as we know) without a standard way to perform these measures. **Objective:** The objective of this study was to evaluate if standardization of the multiplanar view (SMV) when assessing the uterus using three-dimensional ultrasonography (3D-US) improves the intra- and interobserver reliability and agreement with regard to endometrial measurements. **Casuistic and Methods:** Ultrasound imaging exams were performed, using the bidimensional ultrasonography (2D - US) and 3D-US, in 30 women undergoing assisted reproduction treatment. Endometrial thickness was measured by two observers using 2D-US and 3D-US. Endometrial volume was measured with VOCAL™ in the longitudinal (A) and Coronal (C) planes using an unmodified multiplanar view (UMV) and a standardized multiplanar view (SMV). Measurement reliability was evaluated by intraclass correlation coefficient (ICC) and agreement was evaluated by calculating mean difference and limits of agreement (LoA). The ease to contour the endometrial-myometrial interface was compared between the A and C plane using subjective assessment. **Results**: Endometrial volume measurements using the SMV and A plane were more reliable (Intra- and interobserver IC 0.979 and 0.975) than measurements of endometrial thickness using 2D-US (ICC=0.742 and 0.702) or 3D-US (ICC=0.890 and 0.784). The interobserver agreement and intraobserver reliability for endometrial volume measurements was better using SMV and A plane than UMV using A or C plane LoA being narrower for the former. No significant difference in reliability or agreement was demonstrated between the A and C plane when using SMV. However the observers agreed that delineating the endometrial-myometrial interface using the A plane was easier (50.0% and 46.7%, first and second observer) o 'comparable' (50% and 53.3%), but never more difficult than using the C plane. **Conclusion**: Endometrial volume measurements are more reliable than endometrial thickness measurements and are best performed using SMV and A plane.

Keywords: Standardization; Ultrasonography; three-dimensional Imaging; Endometrium; Reproductive medicina

LISTA DE ABREVIATURAS

bloco US-3D-	Conjunto de imagens armazenadas no aparelho de ultrassonografia
CCI-	Coeficiente de correlação intraclasse
EE-	Espessura endometrial
FMRP-USP-	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HCFMRP-USP-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
hCG-	Hormônio Gonadotrofina Coriônica Humana
IC 95%-	Intervalo de confiança de 95%
LoA-	Limites de concordância de *Bland-Altman*
Plano A-	Plano longitudinal do útero na ultrassonografia tridimensional
Plano C	Plano coronal do útero na ultrassonografia tridimensional
Plano C-	Plano transverso do útero na ultrassonografia tridimensional
SMV-	*Standardized multiplanar view*
SPL-	Observador X
TCLE-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
NP-	Visão multiplanar não padronizada
US-2D-	Ultrassonografia bidimensional
US-3D-	Ultrassonografia tridimensional
VE-	Volume endometrial
UMV	*Unmodified multiplanar view*
VOCAL™-	*Virtual Organ Computer-aided Analysis X*
VMP-	Visão Multiplanar padronizada
WPM-	Observador Y

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma da revisão sistematizada realizada junto ao PubMed, em agosto de 2010, separando os estudos pelo método utilizado para avaliar o volume endometrial.. 25

Figura 2: Fluxograma da avaliação dos sujeitos. Medidas da espessura endometrial e volume, utilizando as imagens armazenadas em US-3D, as quais foram realizadas em, pelo menos, duas ocasiões diferentes, com duas semanas de intervalo entre elas. Em uma das avaliações, cada observador determinou o volume endometrial utilizando a visão multiplanar não padronizada (NP), delineando a interface miométrio-endometrial nos plano A e C. Na outra avaliação do mesmo bloco, os observadores manipularam as imagens para obter a visão multiplanar padronizada (VMP), antes de realizar as medidas tanto da espessura quanto do volume endometrial, este último delineado nos planos A e C. A ordem da avaliação dos planos, A ou C primeiro, foi aleatória.....37

Figura 3: Representação das etapas de manipulação das imagens em US-3D. Nesta série de seis imagens multiplanares do útero, estão demonstradas as etapas utilizadas para padronizar a visão do útero. A primeira imagem (inicial) é a apresentada logo após a aquisição/abertura do conjunto de dados. A seguir, a visão multiplanar não padronizada (NP) foi obtida pela simples centralização do endométrio ao plano A (colocando o ponto de referência central e próximo ao fundo da cavidade endometrial). Uma série de ajustes foi então executada, envolvendo correção de ângulo e centralização das imagens em cada um dos três planos para a obtenção da visão multiplanar padronizada (VMP) do útero.....38

Figura 4: Estimativas e intervalos de confiança de 95% (CI 95%) para os coeficientes de correlação intraclasse (CCI) obtidos na avaliação de confiabilidade intra e interobservador. US-2D= ultrassonografia bidimensional; US-3D=ultrassonografia tridimensional; NP= visão multiplanar não padronizada; VMP= visão multiplanar padronizada 41

Figura 5: Gráficos de Bland-Altman, com as estimativas dos limites de concordância intra e interobservador, referentes às medidas da espessura endometrial por ultrassonografia bidimensional (US-2D) e tridimensional (US-3D). As linhas horizontais mostram as estimativas dos limites de concordância. 42

Figura 6: Gráficos de Bland-Altman, com as estimativas dos limites de concordância intra e interobservador referentes às medidas de volume endometrial utilizando a visão multiplanar não padronizada (NP) e padronizada (VMP) e delineando o contorno da interface miométrio-endométrio utilizando os planos A e C. As linhas horizontais mostram as estimativas dos limites de concordância.....43

Figura 7: Medida do volume endometrial realizada com *Virtual Organ Computer-aided Analysis* (VOCAL™, GE Healthcare). As imagens a1-a6 mostram as imagens apresentadas quando o útero é rodado sobre o seu eixo anteroposterior, sendo necessário delinear o contorno no plano A (quadrante superior esquerdo de cada imagem) para calcular o volume endometrial. As imagens c1-c6 mostram as imagens apresentadas quando o útero é rodado sobre o seu eixo longitudinal, sendo necessário delinear o contorno no plano C (quadrante inferior esquerdo). O reforço acústico posterior (setas brancas) pode ser observado logo abaixo da interface endométrio-miométrio em todos os planos, ao se delinear o contorno no plano A. O mesmo artefato aparece em apenas algumas imagens e acima da interface endométrio-miométrio, ao se delinear o contorno no plano C.....48

Figura 8: Imagem exemplificando a dificuldade que pode ser esperada ao se avaliar o volume endometrial, delineando o contorno endométrio-miométrio no plano C. Na imagem superior, é difícil diferenciar o limite entre o endométrio e o miométrio, pois o miométrio fica mais ecogênico (aparência esbranquiçada) devido ao reforço acústico posterior (seta branca). Na imagem inferior, a interface endométrio-miométrio é delineada por uma linha tracejada, enquanto a linha contínua indica a mudança na ecogenicidade no miométrio causada pelo reforço posterior que pode ser interpretada inadequadamente como interface endométrio-miométrio 49

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO 21

2. JUSTIFICATIVA DA PROPOSIÇÃO 26

3. OBJETIVOS 28

4. CASUÍSTICA E MÉTODO 30

4.1. Casuística 31
4.1.1. Desenho do estudo 31
4.1.2. Sujeitos 31
4.1.2.1. Critérios de inclusão 31
4.1.2.2. Critérios de exclusão 32
4.2. Aspectos éticos 32
4.3. Exame ultrassonográfico 32
4.3.1. Visão multiplanar padronizada do útero (VMP). 33
4.3.2. Medida da espessura endometrial. 34
4.3.3. Medida do volume endometrial. 34
4.4. Análise estatística 35
4.4.1. Terminologia 35

5. RESULTADOS 39

6. DISCUSSÃO 44

7. CONCLUSÕES 50

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 52

9. ANEXOS 61

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A receptividade endometrial é um ponto muito importante dentro de reprodução humana. Classicamente, a avaliação endometrial sempre foi realizada através da análise do padrão morfológico do endométrio, utilizando-se da biópsia endometrial e relacionando suas características ao período do ciclo menstrual (NOYES;HERTIG; ROCK, 1975). No entanto, sendo um método invasivo, não pode ser aceito como método de avaliação da receptividade do endométrio durante o ciclo de reprodução assistida, por assim causar danos à estrutura endometrial. Porém seria ideal avaliar a receptividade endometrial, através de um método não invasivo, antes da transferência embrionária. Frente a esse fato, a ultrassonografia bidimensional (US-2D) transvaginal representou, e foi aceita, teoricamente, como uma técnica não invasiva e ideal. Vários parâmetros foram propostos para se avaliar a receptividade endometrial, incluindo a espessura endometrial, padrão endometrial e o fluxo sanguíneo do endométrio e subendométrio (BOURGAIN; DEVROEY, 2003; COULAM et al., 1994; FRIEDLER et al., 1996; ZAIDI et al., 1995). Esses parâmetros podem identificar os pacientes com má receptividade endometrial, porém seu valor preditivo positivo é baixo (FRIEDLER et al., 1996; PIERSON, 2003). Mais recentemente, a ultrassonografia tridimensional (US-3D) tornou-se disponível (PRETORIUS et al., 2001), permitindo que todos os planos de um mesmo órgão pudessem ser avaliados. Na US-3D, pode-se determinar o volume de uma região de interesse, armazenado-o e posteriormente analisado-o sob várias formas, tais como: visualização multiplanar, renderização de superfície, cálculo de volume, ou simplesmente a pura visualização da imagem como foi adquirida em tempo real. Dessa forma, surgiu uma nova onda de interesse entre os pesquisadores, todos motivados por descobrir algum parâmetro que pudesse avaliar melhor a receptividade endometrial.

O *Virtual Organ Computer-aided AnaLysis* (VOCAL™, GE Healthcare, Zipf, Áustria) é um *software* empregado na determinação do volume de órgãos/estruturas através da ultrassonografia tridimensional (US-3D), sendo também empregado para o cálculo de medidas endometriais (MARTINS WDE et al., 2008; MARTINS et al., 2007; MARTINS et al., 2007; MARTINS et al.,

2010). Nesse programa, o usuário deve decidir qual o passo de rotação (por exemplo, 30 °, 15 °, 9 °) e qual dos três planos perpendiculares (A, B ou C), serão utilizados para delinear a imagem. Enquanto vários grupos de pesquisadores têm examinado o efeito do passo de rotação sobre a confiabilidade das medidas do volume endometrial (MARTINS WDE et al., 2006; RAINE-FENNING et al., 2002; RAINE-FENNING et al., 2003), nenhum estudo avaliou o efeito da escolha do plano utilizado para delinear uma determinada estrutura sobre o resultado final da avaliação. Isso é importante, pois o simples fato de o examinador poder optar por diferentes planos, pelo menos teoricamente, pode influenciar na confiabilidade de seus cálculos. Daqueles que utilizaram o VOCAL™, a maioria delineou o endométrio a partir de uma visão coronal do útero, habitualmente apresentada naquela imagem registrada no plano C (MARTINS et al., 2007; MARTINS et al., 2010; RAINE-FENNING et al., 2004), porque neste plano é possível obter informações sobre a região cornual da cavidade endometrial e porque as características da parte superior e inferior do canal endocervical são mais facilmente identificadas (RAINE-FENNING et al., 2002). Já outros autores, ao avaliarem o endométrio ao plano coronal, têm notado que o reforço acústico posterior, que ocorre na interface miométrio-endometrial (na região mais distante do transdutor), resulta em perda da nitidez desta interface (ABUHAMAD, 2006), o que poderia reduzir a confiabilidade do método.

Em agosto de 2010, realizamos uma revisão sistematizada da literatura junto ao PubMed, com intenção de identificar diferentes indicações e técnicas empregadas no processo de avaliação do volume endometrial. Utilizados os seguintes termos: ((*endometrial)* or *(*endometrium*) and* (*3D)),* encontramos 128 artigos, dos quais 39 avaliaram o volume endometrial e/ou a perfusão endometrial. Destes 39 artigos, 29 utilizaram o programa computadorizado VOCAL™ (ALCAZAR; GALVAN, 2009; ALCAZAR; KUDLA, 2010; ALCAZAR et al., 2005; BORDES et al., 2002; GALVAN et al., 2010; JARVELA et al., 2005; JOKUBKIENE et al., 2006; KIM et al., 2010; MARTINS et al., 2007; MERCE et al., 2006; MERCE et al., 2007; MERCE et al., 2008; NG et al., 2004; NG et al.,

2004; NG et al., 2005; NG et al., 2006; NG et al., 2006; NG et al., 2006; NG et al., 2009; NG;YEUNG; HO, 2009; ODEH et al., 2007; RAINE-FENNING et al., 2002; RAINE-FENNING et al., 2003; RAINE-FENNING et al., 2004; RAINE-FENNING et al., 2004; RAINE-FENNING et al., 2004; SIEMER et al., 2008; ZACKOVA et al., 2009); 8 artigos utilizaram o método planar (CHILD;SYLVESTRE; TAN, 2002; KYEI-MENSAH et al., 1996; RAGA et al., 1999; SCHILD et al., 2000; SCHILD et al., 1999; SHALEV;DAVIDI; FISCH, 2004; YAMAN et al., 2002; YAMAN et al., 1999), e em 2 estudos não ficou claro qual o método utilizado (ZOHAV et al., 2007; ZOLLNER et al., 2003). Dos 29 artigos, nos quais o VOCAL™ foi o método escolhido para realizar a medida do volume endometrial, três iniciaram os contornos a partir do plano A (plano longitudinal) (JARVELA et al., 2005; JOKUBKIENE et al., 2006; OPOLSKIENE et al., 2010), apenas um utilizou o plano B (plano transversal) (BORDES et al., 2002), e 12 iniciaram pelo plano C (plano coronal) (ALCAZAR; GALVAN, 2009; ALCAZAR; KUDLA, 2010; ALCAZAR et al., 2005; GALVAN et al., 2010; MARTINS et al., 2007; MERCE et al., 2007; MERCE et al., 2008; RAINE-FENNING et al., 2002; RAINE-FENNING et al., 2003; RAINE-FENNING et al., 2004; RAINE-FENNING et al., 2004; RAINE-FENNING et al., 2004). Além desses, um estudo utilizou tanto o plano A quanto o C (ALCAZAR et al., 2005) e 12 estudos não informaram qual o plano utilizado para o início do delineamento dos contornos (KIM et al., 2010; NG et al., 2004; NG et al., 2004; NG et al., 2005; NG et al., 2006; NG et al., 2006; NG et al., 2006; NG et al., 2009; NG;YEUNG; HO, 2009; ODEH et al., 2007; SIEMER et al., 2008; ZACKOVA et al., 2009) (Figura 1).

Observamos, com essa revisão, uma grande heterogeneidade na avaliação da medida do volume endometrial. Provavelmente isso ocorre devido à falta de estudos comparando qual técnica poderia levar a resultados mais confiáveis e também por não haver, ainda disponível, um método automatizado e confiável para se avaliar o volume do endométrio. Independentemente do método utilizado, não sabemos de nenhum estudo prévio que tenha avaliado o efeito da manipulação das imagens previamente às medidas. A imagem inicial apresentada

na visão multiplanar reflete o volume obtido durante a aquisição do bloco, e, frequentemente, apresenta imagens oblíquas em um ou mais planos. Através da US-3D, essas imagens podem ser manipuladas de forma a centralizar e alinhar o tecido/órgão que se deseja estudar, podendo assim oferecer uma visão padronizada do útero e da cavidade endometrial. Essa padronização da visão multiplanar poderia eventualmente melhorar a confiabilidade das medidas endometriais, especialmente da espessura endometrial, que é mais susceptível a erros por obliquidade ou medidas realizadas de forma excêntrica (MARTINS WDE et al., 2008; MARTINS et al., 2009).

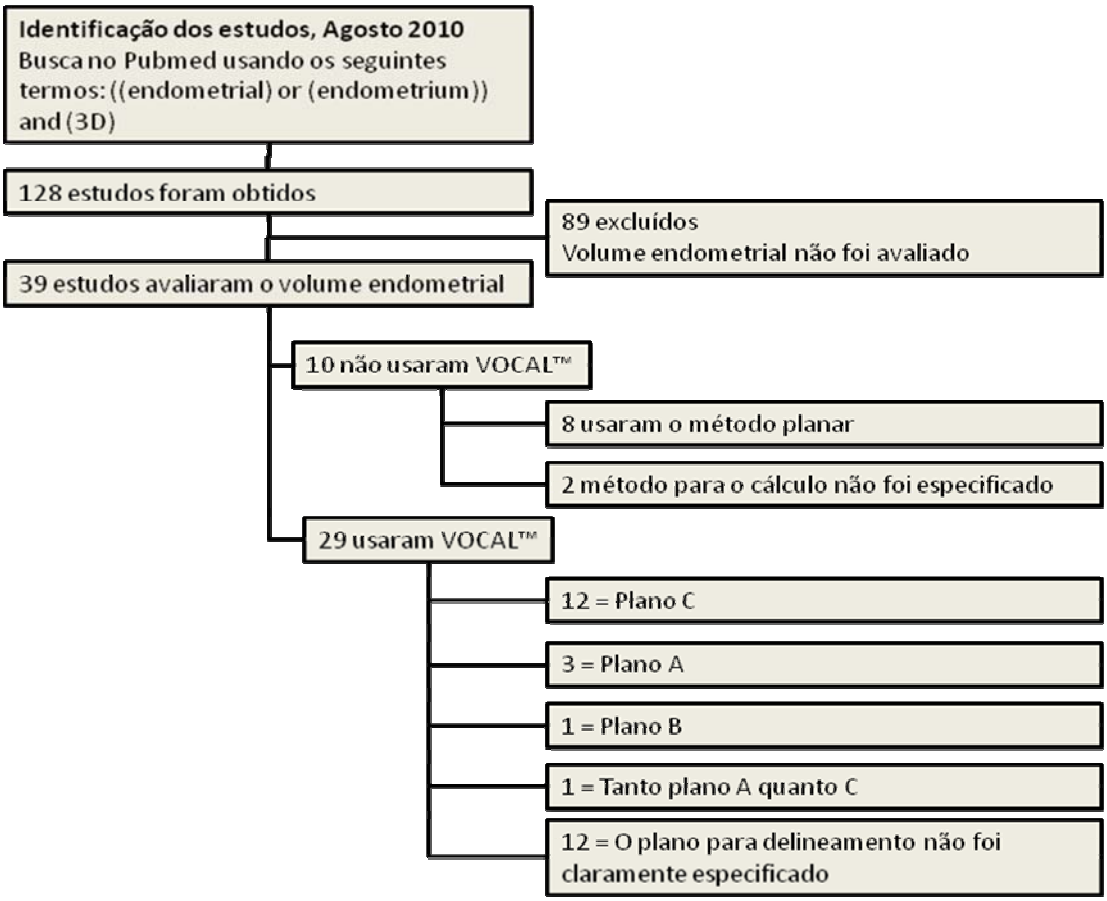

Figura 1: Fluxograma da revisão sistematizada realizada junto ao PubMed, em agosto de 2010, separando os estudos pelo método utilizado para avaliar o volume endometrial.

2. JUSTIFICATIVA DA PROPOSIÇÃO

A revisão de literatura mostra uma escassez de estudos adequados, avaliando a reprodutibilidade da medida tanto da espessura quanto do volume endometrial. Apenas três estudos se referem à avaliação de reprodutibilidade envolvendo a medida da espessura endometrial, (apenas realizando avaliações em US-2D), sendo que dois destes apresentam avaliação estatística inadequada (utilizam somente o coeficiente de correlação) (SPANDORFER et al., 1998; WOLMAN et al., 1996). Nenhum comparou espessura ao volume endometrial. O único que avaliou, sob uma forma estatística adequada, analisou apenas a espessura endometrial por US-3D em mulheres na pós-menopausa (EPSTEIN; VALENTIN, 2002).

Em se tratando de US-3D, já está bem definida a escolha do método (RAINE-FENNING et al., 2002) e dos passos de rotação (MARTINS et al., 2007) envolvidos no cálculo do volume endometrialEntretanto, até o momento ainda não foi adequadamente avaliado o efeito da padronização das imagens antes de sua análise, e também o efeito da escolha do plano a partir do qual se iniciará o delineamento da interface endométrio-miometrial, sobre o resultado final. Complementando, estudos não são descritos na literatura, comparando diretamente a confiabilidade e a concordância entre a medida da espessura e do volume endometrial.

3. OBJETIVOS

Considerando a avaliação do endométrio, durante tratamentos de reprodução assistida, mais especificamente, ao dia da indicação do hCG, fica como objetivo deste trabalho avaliar:

1. Se a medida da espessura endometrial na US-3D, utilizando uma visão multiplanar padronizada, apresenta diferença entre a confiabilidade e/ou concordância intra e interobservador, comparada à medida da espessura endometrial na US-2D.

2. Se a padronização da visão multiplanar, utilizando a US-3D, altera a confiabilidade intra e interobservador da medida do volume endometrial, comparado-a àquela medida de volume endometrial realizada sem preparo prévio (sem a padronização da imagem).

3. Se a escolha do plano, utilizado para delinear a interface miométrio-endometrial (plano A ou C), altera a confiabilidade e/ou concordância intra e interobservador da medida do volume endometrial e/ou a facilidade do observador em identificar a interface miométrio-endometrial.

4. CASUÍSTICA E MÉTODO

4.1. Casuística

O tamanho amostral foi calculado intencionando uma precisão no intervalo de confiança de 95% = 0,20 para o coeficiente de correlação intraclasse. Considerando α = 0,05, dois observadores em questão e um ICC estimado > 0,85 (BORDES et al., 2002; KYEI-MENSAH et al., 1996; MARTINS WDE et al., 2006; RAINE-FENNING et al., 2002; YAMAN et al., 1999), seria necessário avaliar 30 sujeitos (BONETT, 2002).

4.1.1. Desenho do estudo

Estudo observacional de avaliação de confiabilidade e concordância de métodos.

4.1.2. Sujeitos

4.1.2.1. Critérios de inclusão

Idade das pacientes entre 18 e 38 anos.

Diagnóstico de subfertilidade, tendo como indicação de tratamento técnicas em reprodução assistida envolvendo transferência embrionária a ser realizada dentro do Setor de Reprodução Humana do HCFMRP-USP.

Ausência de alteração miometrial ou endometrial, incluindo malformações uterinas, leiomiomas uterinos, pólipos ou doenças anexiais, como hidrossalpinge ou cisto ovariano por exame ultrassonográfico transvaginal realizado antes do tratamento de reprodução assistida.

Ter concordado com a pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

4.1.2.2. Critérios de exclusão

A paciente apresentar alteração miometrial ou endometrial, incluindo malformações uterinas, leiomiomas uterinos, pólipos ou doenças anexiais, como hidrossalpinge ou cisto ovariano, identificados por exame ultrassonográfico transvaginal realizado como triagem e parte do protocolo do tratamento em reprodução assistida.

A paciente ter o ciclo de indução de ovulação suspenso, antes do dia da indicação do hCG.

A paciente não concordar com a realização do exame ultrassonográfico proposto na pesquisa.

4.2. Aspectos éticos

O TCLE foi entregue a todas as mulheres que se interessaram em participar da pesquisa. Aguardamos um período de 24 horas, para que pudessem considerá-lo e então retornassem ao serviço com o mesmo assinado. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) - Processo n° 6226/2009 (Anexo 1), assim como o TCLE (Anexo 2).

4.3. Exame ultrassonográfico

A avaliação foi realizada ao último dia de estimulação ovariana que antecedeu a indicação da maturação final no desenvolvimento folicular, o qual é desencadeado pela administração de hCG (dia do hCG). O exame ultrassonográfico foi realizado em todas as mulheres, utilizando o aparelho Voluson 730 Expert (GE Healthcare) equipado com um transdutor volumétrico transvaginal de 5-9 MHz. Dois observadores realizaram os exames utilizando o mesmo equipamento, alternadamente. Observador X (SPL, de 18 anos de

experiência em US-2D e um ano de experiência com US-3D) realizou as medidas da espessura endometrial utilizando a US-2D e, em seguida, processou a aquisição de um volume do útero por US-3D para posterior avaliação. Em seguida, o observador Y (WPM, 8 anos com experiência em US-2D, e 5 anos de experiência com US-3D) repetiu os mesmos passos realizados pelo observador X, para avaliação da confiabilidade e concordância interobservador. O observador X repetiu a mesma avaliação ultrassonográfica, após o término do exame realizado pelo observador Y, dessa forma podendo traçar uma avaliação da confiabilidade e concordância intraobservador. Os exames foram realizados por um único observador a cada vez. Apenas um examinador estava presente durante a realização de cada exame, sendo que o outro observador, neste momento, ausentava-se da sala de exames. A cada exame, a sonda foi removida da vagina. O fluxograma sobre a avaliação dos sujeitos e sobre medidas realizadas está descrito na Figura 2.

4.3.1. Visão multiplanar padronizada do útero (VMP)

Em US-3D, logo após a aquisição de um volume, são avaliadas as imagens apresentadas dentro da visão multiplanar, a qual corresponde aos três planos ortogonais da mesma imagem, apresentados simultaneamente. Entretanto, a apresentação da estrutura a ser avaliada nos planos ortogonais é completamente dependente da forma de aquisição deste volume, podendo as imagens se apresentarem em situações de obliquidade e excentricidade, assim interferindo na interpretação das medidas e no seu resultado final. No útero, por exemplo, quando a aquisição é feita utilizando-se o plano longitudinal como referência, a imagem multiplanar será apresentada da seguinte forma: plano A, o plano longitudinal do útero; plano B, o plano transversal do útero; plano C, o plano coronal do útero. O objetivo, ao obter a VMP do útero, é apresentar o plano A, o plano médio-longitudinal do útero, o mais próximo possível de sua real representação, evitando obliquidades e excentricidades. A Figura 3 traz uma representação em US-3D das etapas de manipulação das imagens

utilizadas para se obter a VMP do útero. O procedimento envolve o posicionamento do ponto de referência na região central do endométrio, próximo ao fundo do útero, e também uma série de ajustes, envolvendo ângulo de correção e centralização das imagens.

4.3.2. Medida da espessura endometrial

A medida da espessura endometrial foi determinada por dois métodos: US-2D e US-3D, utilizando a visão multiplanar padronizada (VMP) do útero. Através da US-2D, foi realizada a medida da espessura endometrial de uma forma subjetiva. A partir da imagem correspondente ao plano longitudinal mediano do útero, foi traçada a distância máxima entre as interfaces endométrio-miométrio, desde a parede anterior até a parede posterior do útero. Através da US-3D, a espessura endometrial foi medida dessa mesma forma, porém utilizando a VMP do útero. O intervalo mínimo, entre a avaliação da medida da espessura endometrial por US-2D e por US-3D, foi de duas semanas.

4.3.3. Medida do volume endometrial

O volume endometrial foi determinado através do *software* VOCAL ™. Este é um programa para computador acoplado ao sistema do aparelho Voluson 730 Expert (GE Healthcare) que permite ao usuário definir manualmente os contornos de um objeto, uma vez que as imagens armazenadas são giradas em torno de um eixo fixo. Para realizar os contornos, escolhemos o 15º como passo de rotação, pois este passo permite medidas com confiabilidade similar àquelas obtidas ao 6° ou 9° passos, porém consumindo menor tempo para realização dos contornos (MARTINS WDE et al., 2006; RAINE-FENNING et al., 2002; RAINE-FENNING et al., 2003).

Para avaliação do volume endometrial, tanto a VMP quanto a NP, foram utilizadas, respeitando um intervalo mínimo de duas semanas entre estas

avaliações. Para realizar o delineamento do contorno da interface miométrio-endométrio, utilizamos tanto o plano A quanto o plano C. Não utilizamos o plano B para o delineamento dos contornos, pois as imagens obtidas no plano B são exatamente as mesmas obtidas no plano A, alterando apenas sua ordem. Os volumes endometriais delineados nos planos A e C foram realizados de forma consecutiva, porém a ordem (plano A ou C primeiro) foi aleatória, obedecendo a uma tabela gerada por um programa (*Random Allocation Software*, *University of Medical Sciences*, Isfahan, Iran). Depois de determinar o volume endometrial nos dois planos, foi solicitado ao observador identificar em qual plano foi mais fácil identificar a interface endométrio-miométrio: plano A, plano C, ou de maneira indiferente. O observador X respondeu a essa questão apenas para a avaliação do primeiro conjunto de dados.

4.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelos programas SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e *GraphPad Prism* 5 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). A confiabilidade das medidas foi avaliada pelo coeficiente de correlação intraclasse (CCI), e a concordância intra e interobservador foi examinada pelos gráficos de Bland-Altman e os limites de concordância (BLAND; ALTMAN, 1986). A concordância entre os dois observadores, no que diz respeito à facilidade em delinear a interface endométrio-miométrio, foi expressa como um percentual de concordância observada e Cohen's kappa (COHEN, 1960; DE PAULA MARTINS et al., 2007), sendo p <0,05 considerado estatisticamente significativo.

4.4.1. Terminologia

Confiabilidade: avalia a relação entre a magnitude do erro dependente do método/observadores e a variabilidade, livre de erros, própria dos

sujeitos/objetos que foram avaliados (BARTLETT; FROST, 2008). Normalmente é avaliada pelo coeficiente de correlação intraclasse.

Concordância: quantifica o quão próximo são os resultados entre medidas efetuadas sobre o mesmo sujeito/objeto, independentemente da variabilidade inerente dos mesmos (BARTLETT; FROST, 2008). Frequentemente avaliada pelos gráficos de Bland-Altman ou pelo coeficiente de repetibilidade.

Validade: refere-se à diferença observada entre os valores registrados pelo observador, aquele considerado "verdadeiro", que pode ser estimado por um padrão de referência adequado (KHAN; CHIEN, 2001); como, por exemplo, a medida histológica da espessura endometrial do útero removida cirurgicamente. A validação das medidas não foi avaliada neste estudo.

"Visão Multiplanar": é uma opção oferecida pelo modo *sectional-planes* do programa 4D View (GE Healthcare), utilizado em US-3D, no qual o observador é capaz de identificar simultaneamente as imagens em três planos ortogonais simultâneos, estando relacionadas entre si por um ponto de referência.

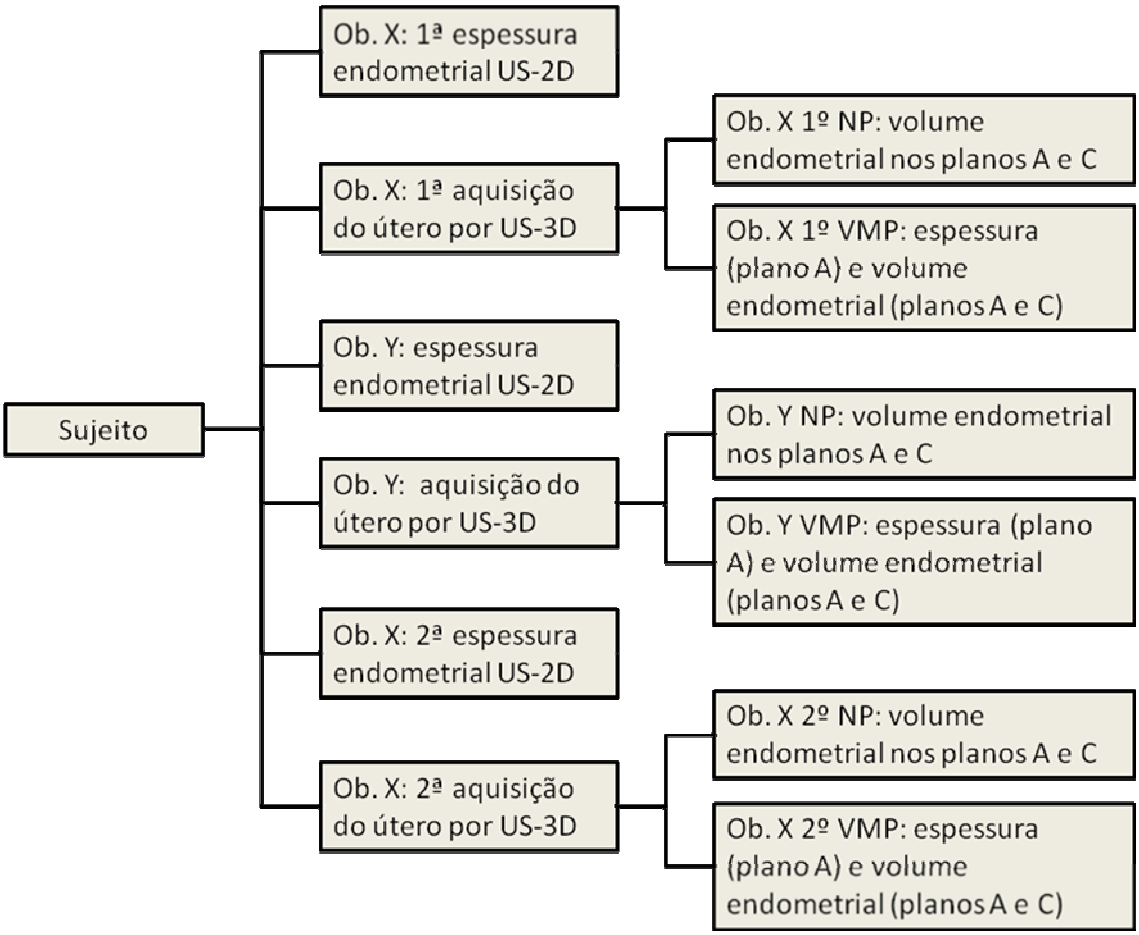

Figura 2: Fluxograma da avaliação dos sujeitos. Medidas da espessura endometrial e volume, utilizando as imagens armazenadas em US-3D, as quais foram realizadas em, pelo menos, duas ocasiões diferentes, com duas semanas de intervalo entre elas. Em uma das avaliações, cada observador determinou o volume endometrial utilizando a visão multiplanar não padronizada (NP), delineando a interface miométrio-endometrial nos planos A e C. Na outra avaliação do mesmo bloco, os observadores manipularam as imagens para obter a visão multiplanar padronizada (VMP), antes de realizar as medidas tanto da espessura quanto do volume endometrial, este último delineado nos planos A e C. A ordem da avaliação dos planos, A ou C primeiro, foi aleatória.

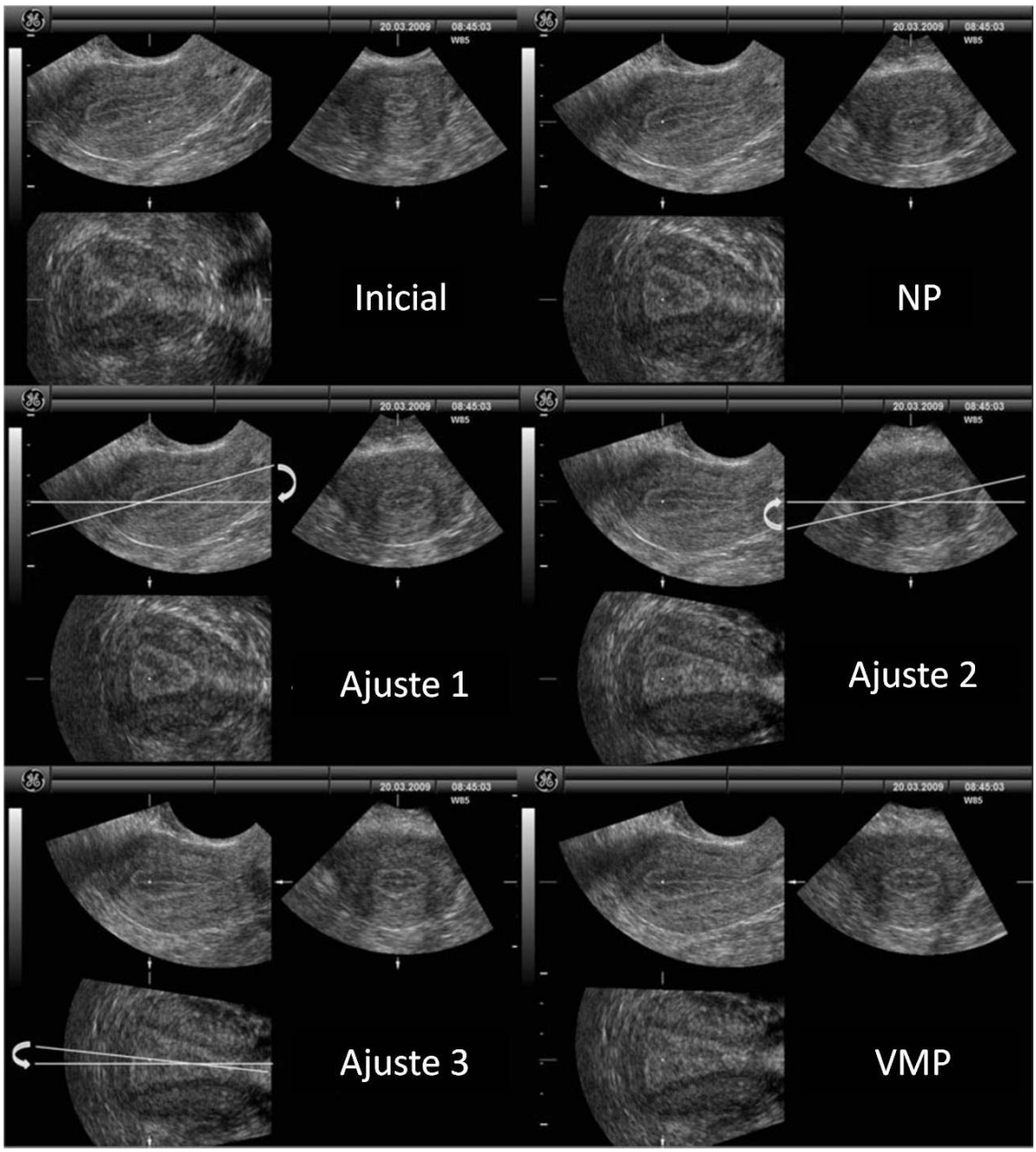

Figura 3: Representação das etapas de manipulação das imagens em US-3D. Nesta série de seis imagens multiplanares do útero, estão demonstradas as etapas utilizadas para padronizar a visão do útero. A primeira imagem (inicial) é a apresentada logo após a aquisição/abertura do conjunto de dados. A seguir, a visão multiplanar não padronizada (NP) foi obtida pela simples centralização do endométrio no plano A (colocando o ponto de referência central e próximo ao fundo da cavidade endometrial). Uma série de ajustes foi então executada, envolvendo correção de ângulo e centralização das imagens em cada um dos três planos para a obtenção da visão multiplanar padronizada (VMP) do útero.

5. RESULTADOS

Do total de 44 mulheres convidadas a participar do estudo, apenas 34 aceitaram realizar as avaliações. Quatro pacientes foram excluídas por apresentarem leiomiomas vistos ao exame ultrassonográfico realizado no início do ciclo do tratamento de reprodução assistida, finalizando o grupo em 30 mulheres. O observador X realizou duas avaliações completas para cada paciente, e o observador Y, uma avaliação completa. Cada avaliação completa consistiu em duas medidas da espessura endometrial (uma na US-2D e outra na US-3D) e quatro medidas de volume endometrial (plano A/ NP e VMP; plano C /NP e VMP). Considerando-se todos os exames realizados pelos dois observadores nas 30 pacientes, foram efetuadas 180 medidas da espessura endometrial e 360 medidas do volume endometrial.

Os CCIs para a medida da espessura endometrial por US-3D foram maiores comparados aos CCIs para a medida da espessura endometrial na US-2D, porém apresentando sobreposição dos ICs 95% (Figura 4). Os valores mais elevados para os CCIs das medidas de volume endometrial foram obtidos quando o delineamento foi realizado no plano A, utilizando a VMP, mas também apresentando sobreposição de vários destes ICs 95% para os CCIs (Figura 4). Os valores de CCI foram substancialmente mais elevados para as medidas de volume endometrial do que para as medidas da espessura endometrial, porém houve sobreposição para os ICs 95% de vários CCIs (Figura 4). No entanto, não houve sobreposição dos ICs 95% para CCI das medidas de volume endometrial utilizando o plano A em VMP e os ICs 95% para CCI para as medidas da espessura endometrial.

Ao analisar os gráficos de Bland-Altman para a medida da espessura endometrial, observamos que os limites de concordância intraobservador foram mais estreitos, quando a medida da espessura endometrial foi realizada através da US-3D (Figura 5); já a concordância interobservador foi muito semelhante entre a US-2D e a US-3D. Ao compararmos a concordância para o volume endometrial avaliado por NP ou VMP, observamos que os intervalos entre os limites de concordância foram menores/melhores, quando utilizamos a

VMP. Entre os planos A e C, a avaliação dos limites de concordância não mostrou diferença relevante (Figura 6).

Os observadores consideraram mais fácil delimitar o contorno endométrio-miométrio utilizando o plano A em 50,0% e 46,7% dos casos (observador X e Y, respectivamente). Os observadores consideraram o grau de dificuldade como similar em 50% e 53,3% dos casos (observador X e Y, respectivamente). Em nenhuma das avaliações, algum dos observadores considerou a interface endométrio-miométrio como mais facilmente identificável utilizando o plano C. A concordância observada entre os observadores foi 83,3%, com um valor de kappa = 0,67 (IC 95% = 0,48-0,85).

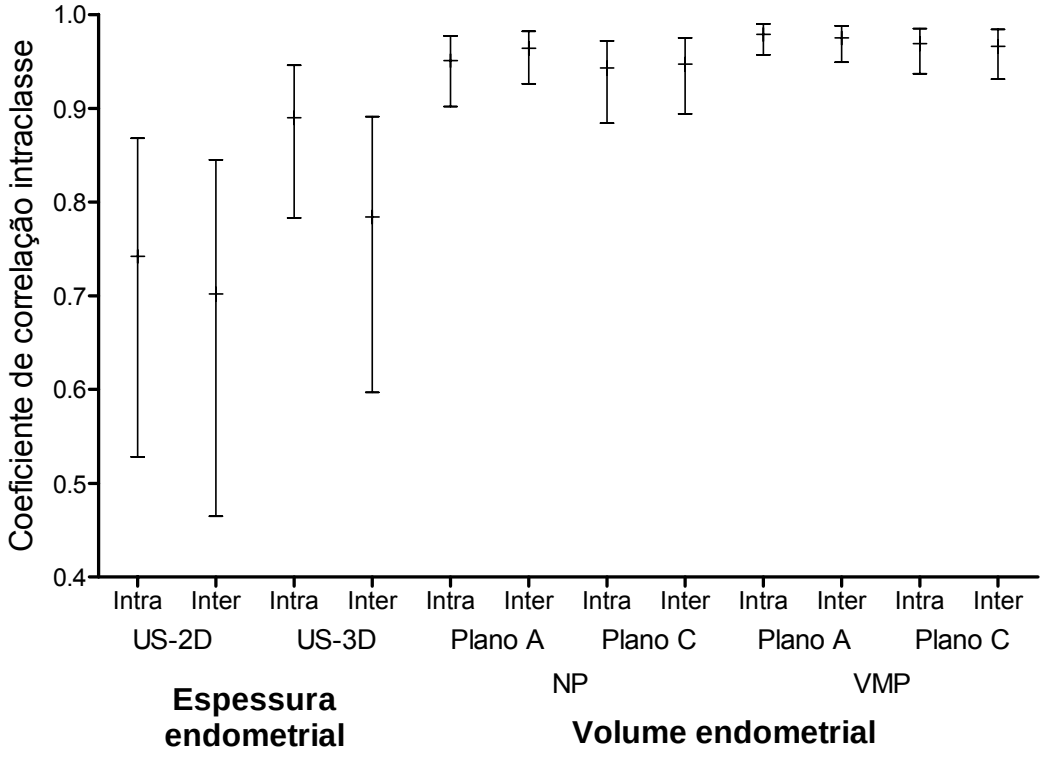

Figura 4: Estimativas e intervalos de confiança de 95% (CI 95%) para os coeficientes de correlação intraclasse (CCI) obtidos na avaliação de confiabilidade intra e interobservador. US-2D= ultrassonografia bidimensional; US-3D=ultrassonografia tridimensional; NP= visão multiplanar não padronizada; VMP= visão multiplanar padronizada.

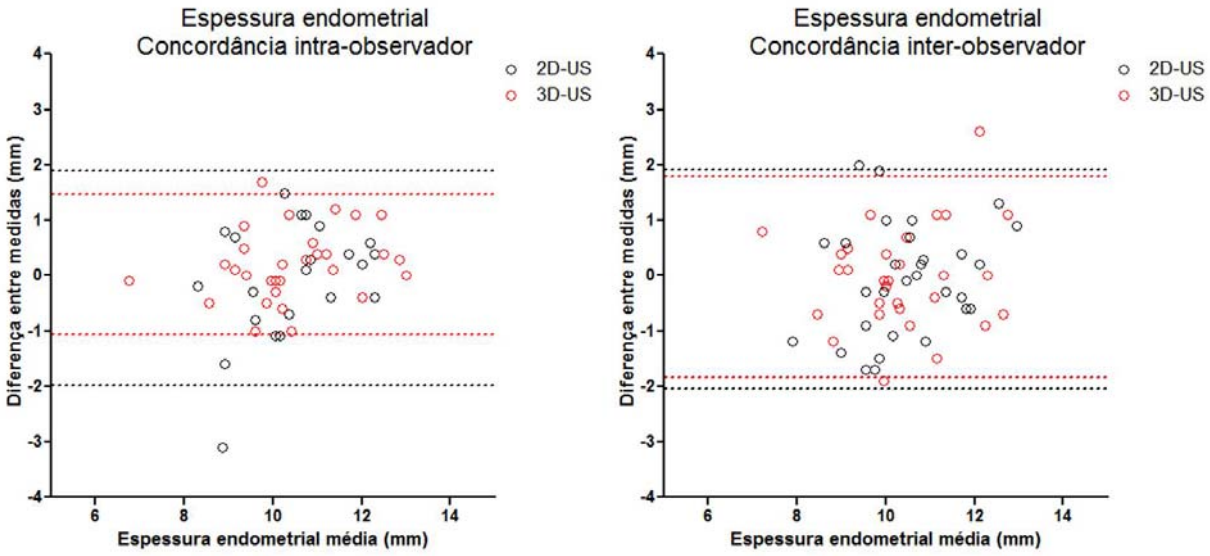

Figura 5: Gráficos de Bland-Altman, com as estimativas dos limites de concordância intra e interobservador, referentes às medidas da espessura endometrial por ultrassonografia bidimensional (US-2D) e tridimensional (US-3D). As linhas horizontais mostram as estimativas dos limites de concordância.

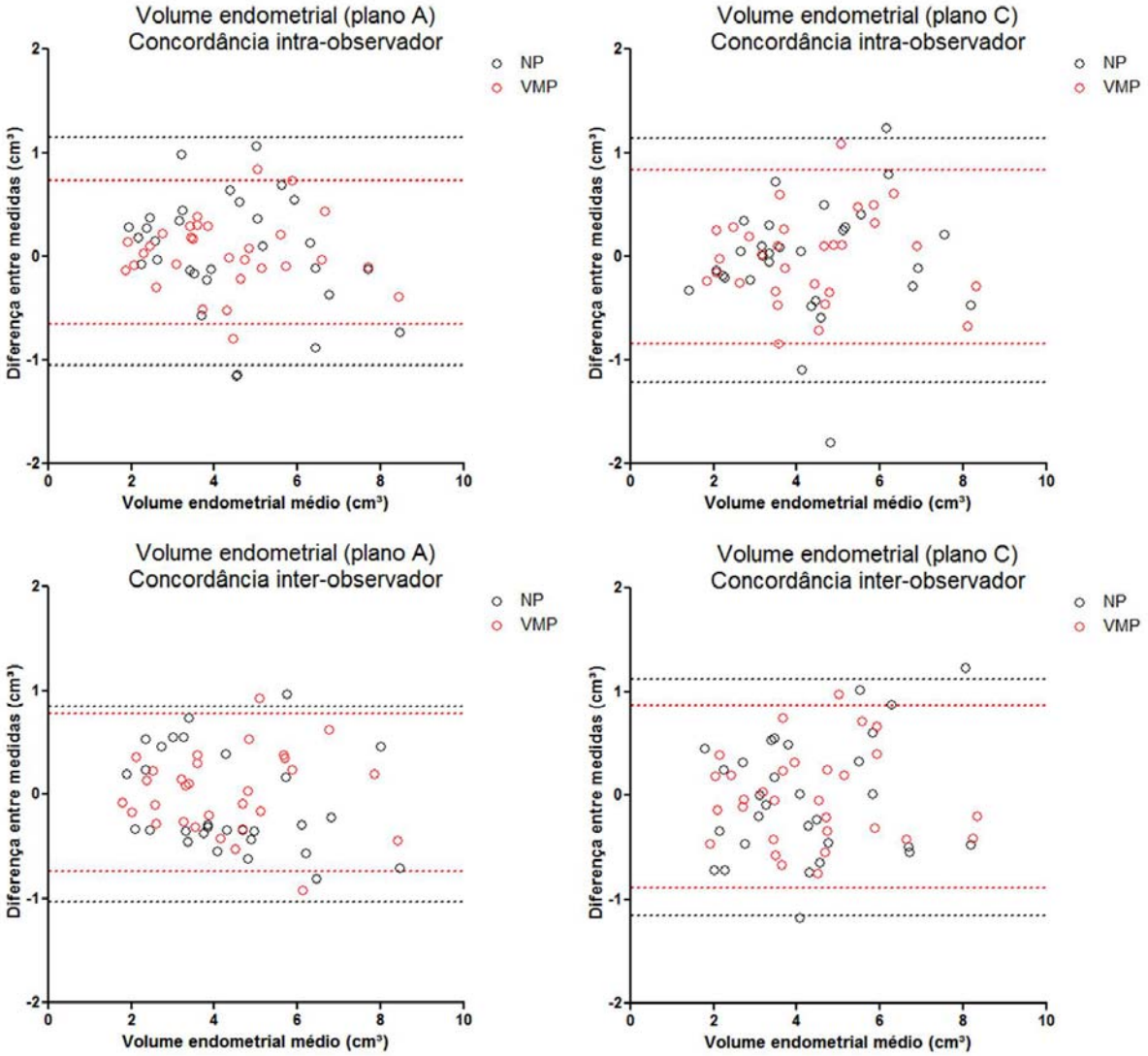

Figura 6: Gráficos de Bland-Altman, com as estimativas dos limites de concordância intra e interobservador referentes às medidas de volume endometrial utilizando a visão multiplanar não padronizada (NP) e padronizada (VMP) e delineando o contorno da interface miométrio-endométrio utilizando os planos A e C. As linhas horizontais mostram as estimativas dos limites de concordância.

6. DISCUSSÃO

Analisando os resultados deste estudo, verificamos que a melhor opção para mensurar o endométrio pela ultrassonografia em ciclos de reprodução assistida foi avaliar o volume endometrial utilizando VMP e delineando o contorno miométrio-endométrio no plano A. As medidas do volume endometrial utilizando VMP e plano A foram mais confiáveis do que as medidas da espessura endometrial, tanto por US-2D quanto por US-3D. A concordância entre as medidas do volume endometrial, utilizando VMP ao plano A, foi melhor do que quando aplicada a NP (considerando os planos A e C). Embora sobreposições na IC 95% tenham sido observadas para CCI entre os planos A e C utilizando VMP, os valores observados de CCI foram ligeiramente melhores para o plano A. Além disso, os observadores concordaram quanto à maior facilidade em delinear a interface endométrio-miométrio no plano A.

Destacam-se como pontos fortes deste estudo (a avaliação realizada por US-2D e US-3D tentando ao máximo representar a variabilidade que ocorreria na prática clínica): 1) Os exames foram realizados de forma completa nas diferentes avaliações, inclusive removendo e reintroduzindo a sonda entre os exames, para assim permitir a aplicação de diferentes pressões, o que potencialmente poderia interferir no resultado das medidas da espessura endometrial e na aquisição das imagens US-3D; 2) Os exames e avaliações foram realizados de forma a ocultar o conhecimento prévio dos dados a cada análise, evitando possíveis vieses, (um estudo “blindado”); 3) A análise por US-3D foi realizada a partir de volumes distintos, colhidos em diferentes momentos, sendo que vários estudos de confiabilidade/concordância publicados se limitam a realizar múltiplas análises de um único volume. (MARTINS, 2010; MARTINS; NASTRI, 2010; MARTINS; RAINE-FENNING, 2010), o que pode aumentar erroneamente confiabilidade/concordância. A principal fragilidade do estudo foi realizar a avaliação endometrial em um período muito específico (associado a ciclos de reprodução assistida), e, portanto, os resultados deste estudo não podem ser extrapolados para outras condições, como, por exemplo, na avaliação endometrial no período pós-menopausa, por sangramento.

Comparando nossos resultados de confiabilidade e concordância referentes à medida da espessura endometrial por US-2D com aquele único estudo encontrado na literatura cuja análise estatística estava adequada (EPSTEIN; VALENTIN, 2002), notamos que a concordância entre eles foi muito semelhante, e ambos reportam que é esperado que 95% das diferenças entre os dois examinadores estejam abaixo de 2 mm. Quanto à confiabilidade, nossos CCIs foram menores, o que já seria esperado, uma vez que avaliamos uma amostra mais homogênea em nosso estudo (pacientes ao dia da indicação do "HCG" em ciclos de reprodução assistida), a espessura endometrial variou entre 6-13 mm, enquanto no estudo anterior a espessura variou entre 2-30 mm, sendo os exames realizados em mulheres com sangramento pós-menopausa (EPSTEIN; VALENTIN, 2002). Vários estudos demonstraram que o volume endometrial pode ser avaliado com confiança em US-3D, e essas medidas seguramente se relacionam às CCIs superiores a 0,80 (BORDES et al., 2002; KYEI-MENSAH et al., 1996; MARTINS WDE et al., 2006; RAINE-FENNING et al., 2002; YAMAN et al., 1999). Comparando a técnica clássica de "fatiamento" com o método rotacional (VOCAL™), foi demonstrado que ambos são similarmente confiáveis, porém a técnica de "fatiamento" apresenta um consumo maior de tempo para processar as avaliações (CHEONG et al., 2010), portanto o método rotacional (VOCAL™) tornou-se o padrão para o cálculo do volume tanto para obstetrícia (MARTINS et al., 2008; MARTINS et al., 2009) quanto para ginecologia (MARTINS WDE et al., 2006; MARTINS WDE et al., 2008). A determinação do volume pelo método rotacional a partir do plano C (coronal), utilizando o eixo de rotação longitudinal, foi o primeiro método que relatou o uso do VOCAL™ (RAINE-FENNING et al., 2002), com alto grau de reprodutibilidade e validade para as medidas de volume, o que foi, posteriormente, confirmado, utilizando-se modelos *in vitro* (MARTINS et al., 2007). Entretanto, em nosso estudo, ambos os observadores, ao utilizarem o VOCAL™ para medir o volume endometrial, concordaram que a interface endométrio-miométrio foi mais facilmente identificável em aproximadamente metade dos casos, utilizando o plano A. Nós acreditamos

que essa diferença está relacionada ao reforço acústico posterior, que é normalmente observado e projetado sobre o miométrio nesta fase do ciclo menstrual, quando o tecido periférico, limítrofe ao endométrio, torna-se mais esbranquiçado (reforço acústico posterior), reduzindo assim as diferenças de contraste e dificultando a identificação da interface miométrio-endométrio. Quando o útero gira em seu eixo anteroposterior (plano A), o reforço posterior se apresenta em todas as avaliações em uma posição fixa (logo abaixo da interface endométrio-miométrio), o que também é observado na mesma posição durante a realização do exame na US-2D. Por isso, é relativamente fácil delinear a interface, mesmo quando o contraste da linha endométrio-miométrio não está nítido o suficiente. No entanto, quando o volume do útero é rodado sobre o seu eixo longitudinal, no plano C, o reforço posterior só aparece em alguns dos planos e acima da interface endométrio-miométrio, em um foco visual oposto àquele observado, ao realizar o exame utilizando US-2D. Além disso, em algumas das imagens, o reforço posterior pode não atingir a serosa uterina, a porção mais esbranquiçada do miométrio, tornando difícil diferenciar os limites endometriais (Figuras 7 e 8).

Sobre a relevância clínica desses resultados, sugerimos que a melhor opção para avaliar o volume endometrial, por US-3D com VOCAL™, seja delinear o contorno no plano A utilizando a VMP. Isto é importante porque, até agora, clínicos e pesquisadores têm utilizado métodos completamente diferentes para avaliar o volume endometrial. Ficou demonstrado, também, que o volume endometrial delineado no plano A utilizando a VMP foi mais confiável que os métodos de medida da espessura endometrial. No entanto, para escolha do método, devem ser considerados os custos de equipamento, recursos humanos e o tempo adicional para realizar as medidas relacionadas ao cálculo do volume endometrial. Serão ainda necessários outros estudos para avaliar se os resultados que encontramos também se aplicam em outras situações, tais como na avaliação do endométrio por sangramento pós-menopausa.

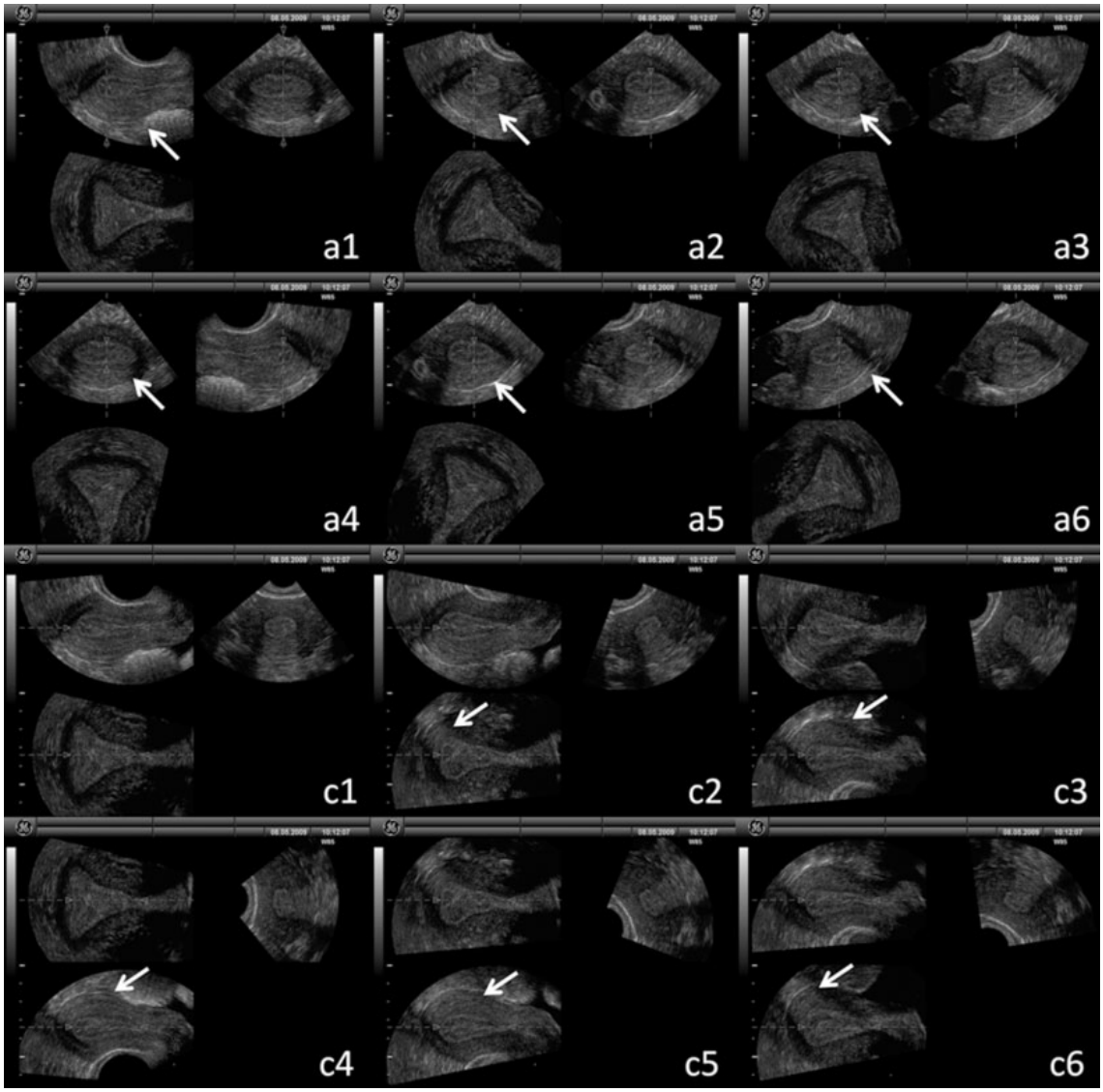

Figura 7: Medida do volume endometrial realizada com *Virtual Organ Computer-aided Analysis* (VOCAL™, GE Healthcare). As imagens a1-a6 mostram as imagens apresentadas quando o útero é rodado sobre o seu eixo anteroposterior, sendo necessário delinear o contorno no plano A (quadrante superior esquerdo de cada imagem) para calcular o volume endometrial. As imagens c1-c6 mostram as imagens apresentadas quando o útero é rodado sobre o seu eixo longitudinal, sendo necessário delinear o contorno no plano C (quadrante inferior esquerdo). O reforço acústico posterior (setas brancas) pode ser observado logo abaixo da interface endométrio-miométrio em todos os planos, ao se delinear o contorno no plano A. O mesmo artefato aparece em apenas algumas imagens e acima da interface endométrio-miométrio, ao se delinear o contorno no plano C.

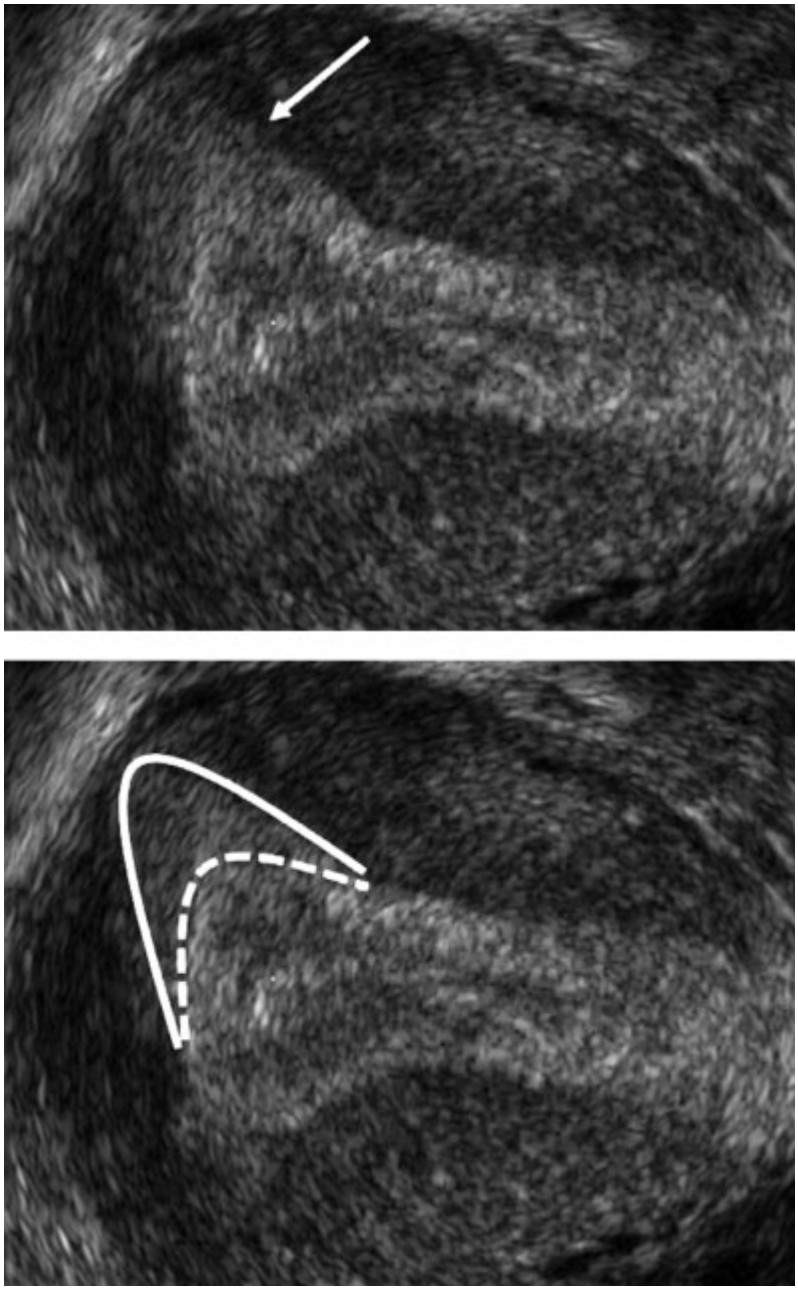

Figura 8: Imagem exemplificando a dificuldade que pode ser esperada, ao se avaliar o volume endometrial delineando o contorno endométrio-miométrio no plano C. Na imagem superior, é difícil diferenciar o limite entre o endométrio e o miométrio, pois o miométrio fica mais ecogênico (aparência esbranquiçada) devido ao reforço acústico posterior (seta branca). Na imagem inferior, a interface endométrio-miométrio é delineada por uma linha tracejada, enquanto a linha contínua indica a mudança na ecogenicidade no miométrio causada pelo reforço posterior que pode ser interpretada inadequadamente como interface endométrio-miométrio.

7. CONCLUSÕES

Considerando a avaliação do endométrio, durante tratamentos de reprodução assistida, mais especificamente, no dia da indicação do hCG, concluímos:

1. Se a medida da espessura endometrial por US-3D, utilizando uma visão multiplanar padronizada, apresenta melhor confiabilidade e concordância interobservador comparada à medida da espessura endometrial por US-2D, a confiabilidade e a concordância interobservador foram bastante semelhantes entre os métodos.

2. A padronização da visão multiplanar, utilizando a US-3D, melhora a confiabilidade e concordância intra e interobservador da medida do volume endometrial, comparado com a medida do volume endometrial sem preparo prévio.

3. A escolha do plano utilizado, para se delinear a interface miométrio-endometrial (plano A ou C), não alterou a confiabilidade e/ou concordância intra e interobservador da medida do volume endometrial, porém os observadores concordaram que foi mais fácil identificar a interface miométrio-endometrial, quando esta foi delineada no plano A.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUHAMAD, A.Z. Clinical implications of the echo enhancement artifact in volume sonography of the uterus. **J Ultrasound Med**, v.25, n.11, Nov, p.1431-5. 2006.

ALCAZAR, J.L.; GALVAN, R. Three-dimensional power Doppler ultrasound scanning for the prediction of endometrial cancer in women with postmenopausal bleeding and thickened endometrium. **Am J Obstet Gynecol**, v.200, n.1, Jan, p.44 e1-6. 2009.

ALCAZAR, J.L.; KUDLA, M.J. Three-dimensional vascular indices calculated using conventional power Doppler and high-definition flow imaging: are there differences? **J Ultrasound Med**, v.29, n.5, May, p.761-6. 2010.

ALCAZAR, J.L. et al. Endometrial volume and vascularity measurements by transvaginal 3-dimensional ultrasonography and power Doppler angiography in stimulated and tumoral endometria: an interobserver reproducibility study. **J Ultrasound Med**, v.24, n.8, Aug, p.1091-8. 2005.

BARTLETT, J.W.; FROST, C. Reliability, repeatability and reproducibility: analysis of measurement errors in continuous variables. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.31, n.4, Apr, p.466-75. 2008.

BLAND, J.M.; ALTMAN, D.G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, v.1, n.8476, Feb 8, p.307-10. 1986.

BONETT, D.G. Sample size requirements for estimating intraclass correlations with desired precision. **Stat Med**, v.21, n.9, May 15, p.1331-5. 2002.

BORDES, A. et al. Reproducibility of transvaginal three-dimensional endometrial volume measurements with virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) during ovarian stimulation. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.19, n.1, Jan, p.76-80. 2002.

BOURGAIN, C.; DEVROEY, P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. **Hum Reprod Update**, v.9, n.6, Nov-Dec, p.515-22. 2003.

CHEONG, K. et al. Comparison of inter- and intraobserver agreement and reliability between three different types of placenta volume measurement techniques (XI VOCAL(TM), VOCAL(TM) and multiplanar), and the validity in the in vitro setting. **Ultrasound Obstet Gynecol**, Mar 4. 2010.

CHILD, T.J.; SYLVESTRE, C.; TAN, S.L. Endometrial volume and thickness measurements predict pituitary suppression and non-suppression during IVF. **Hum Reprod**, v.17, n.12, Dec, p.3110-3. 2002.

COHEN, J. A coefficient of agreement for nominal scales. **Educational and Psychological Measurement**, v.20, n.1, p.37-46. 1960.

COULAM, C.B. et al. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. **Fertil Steril**, v.62, n.5, Nov, p.1004-10. 1994.

DE PAULA MARTINS, W. et al. Agreement among insulin sensitivity indexes on the diagnosis of insulin resistance in polycystic ovary syndrome and ovulatory women. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v.133, n.2, Aug, p.203-7. 2007.

EPSTEIN, E.; VALENTIN, L. Intraobserver and interobserver reproducibility of ultrasound measurements of endometrial thickness in postmenopausal women. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.20, n.5, Nov, p.486-91. 2002.

FRIEDLER, S. et al. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. **Hum Reprod Update**, v.2, n.4, Jul-Aug, p.323-35. 1996.

GALVAN, R. et al. Three-dimensional power Doppler angiography in endometrial cancer: correlation with tumor characteristics. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.35, n.6, Jun, p.723-9. 2010.

JARVELA, I.Y. et al. Evaluation of endometrial receptivity during in-vitro fertilization using three-dimensional power Doppler ultrasound. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.26, n.7, Dec, p.765-9. 2005.

JOKUBKIENE, L. et al. Assessment of changes in endometrial and subendometrial volume and vascularity during the normal menstrual cycle using

three-dimensional power Doppler ultrasound. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.27, n.6, Jun, p.672-9. 2006.

KHAN, K.S.; CHIEN, P.F. Evaluation of a clinical test. I: assessment of reliability. **BJOG**, v.108, n.6, Jun, p.562-7. 2001.

KIM, A. et al. Relationship between endometrial and subendometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound and pregnancy after intrauterine insemination. **Fertil Steril**, v.94, n.2, Jul, p.747-52. 2010.

KYEI-MENSAH, A. et al. Transvaginal three-dimensional ultrasound: reproducibility of ovarian and endometrial volume measurements. **Fertil Steril**, v.66, n.5, Nov, p.718-22. 1996.

MARTINS WDE, P. et al. [The reproducibility of VOCAL endometrial volume measurement – importance of the step rotation]. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v.28, n.1, p.38-43. 2006.

MARTINS WDE, P. et al. Measurement of endometrial volume increase during the first week after embryo transfer by three-dimensional ultrasound to detect pregnancy: a preliminary study. **Fertil Steril**, v.90, n.3, Sep, p.883-5. 2008.

MARTINS, W.P. Three-dimensional power Doppler: validity and reliability. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.36, n.5, Nov, p.530-3. 2010.

MARTINS, W.P. et al. Reliability and validity of tissue volume measurement by three-dimensional ultrasound: an experimental model. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.29, n.2, Feb, p.210-4. 2007.

MARTINS, W.P. et al. Endometrial thickness and volume by three-dimensional ultrasound one week after embryo transfer to detect pregnancy. **J Assist Reprod Genet**, v.24, n.5, May, p.155-8. 2007.

MARTINS, W.P. et al. First trimester fetal volume and crown-rump length: comparison between singletons and twins conceived by in vitro fertilization. **Ultrasound Med Biol**, v.34, n.9, Sep, p.1360-4. 2008.

MARTINS, W.P.; NASTRI, C.O. Reproducibility of 3D power Doppler placental vascular indices. **Arch Gynecol Obstet**, May 19. 2010.

MARTINS, W.P. et al. Fetal volume and crown-rump length from 7 to 10 weeks of gestational age in singletons and twins. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v.145, n.1, Jul, p.32-5. 2009.

MARTINS, W.P. et al. Endometrial preparation for in vitro maturation treatment. **Fertil Steril**, v.93, n.1, Jan, p.e6; author reply e7. 2010.

MARTINS, W.P.; RAINE-FENNING, N.J. Analysis and acquisition reproducibility of 3D power Doppler. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.36, n.3, Sep, p.392-3; author reply 393-4. 2010.

MERCE, L.T. et al. Endometrial volume and vascularity measurements by transvaginal three-dimensional ultrasonography and power Doppler angiography in stimulated and tumoral endometria: intraobserver reproducibility. **Gynecol Oncol**, v.100, n.3, Mar, p.544-50. 2006.

MERCE, L.T. et al. Clinical usefulness of 3-dimensional sonography and power Doppler angiography for diagnosis of endometrial carcinoma. **J Ultrasound Med**, v.26, n.10, Oct, p.1279-87. 2007.

MERCE, L.T. et al. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? **Fertil Steril**, v.89, n.1, Jan, p.111-7. 2008.

NG, E.H. et al. Comparison of endometrial and subendometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound between stimulated and natural cycles in the same patients. **Hum Reprod**, v.19, n.10, Oct, p.2385-90. 2004.

NG, E.H. et al. Endometrial and subendometrial blood flow measured during early luteal phase by three-dimensional power Doppler ultrasound in excessive ovarian responders. **Hum Reprod**, v.19, n.4, Apr, p.924-31. 2004.

NG, E.H. et al. Endometrial and subendometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in patients with small intramural uterine fibroids during IVF treatment. **Hum Reprod**, v.20, n.2, Feb, p.501-6. 2005.

NG, E.H. et al. Factors affecting endometrial and subendometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound during IVF treatment. **Hum Reprod**, v.21, n.4, Apr, p.1062-9. 2006.

NG, E.H. et al. The role of endometrial and subendometrial blood flows measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during IVF treatment. **Hum Reprod**, v.21, n.1, Jan, p.164-70. 2006.

NG, E.H. et al. The role of endometrial and subendometrial vascularity measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during frozen-thawed embryo transfer cycles. **Hum Reprod**, v.21, n.6, Jun, p.1612-7. 2006.

NG, E.H. et al. Changes in endometrial and subendometrial blood flow in IVF. **Reprod Biomed Online**, v.18, n.2, Feb, p.269-75. 2009.

NG, E.H.; YEUNG, W.S.; HO, P.C. Endometrial and subendometrial vascularity are significantly lower in patients with endometrial volume 2.5 ml or less. **Reprod Biomed Online**, v.18, n.2, Feb, p.262-8. 2009.

NOYES, R.W.; HERTIG, A.T.; ROCK, J. Dating the endometrial biopsy. **Am J Obstet Gynecol**, v.122, n.2, May, p.262-3. 1975.

ODEH, M. et al. Three-dimensional endometrial volume and 3-dimensional power Doppler analysis in predicting endometrial carcinoma and hyperplasia. **Gynecol Oncol**, v.106, n.2, Aug, p.348-53. 2007.

OPOLSKIENE, G. et al. Three-dimensional ultrasound imaging for discrimination between benign and malignant endometrium in women with postmenopausal bleeding and sonographic endometrial thickness of at least 4.5 mm. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.35, n.1, Jan, p.94-102. 2010.

PIERSON, R.A. Imaging the endometrium: are there predictors of uterine receptivity? **J Obstet Gynaecol Can**, v.25, n.5, May, p.360-8. 2003.

PRETORIUS, D.H. et al. Three-dimensional ultrasound in obstetrics and gynecology. **Radiol Clin North Am**, v.39, n.3, May, p.499-521. 2001.

RAGA, F. et al. Assessment of endometrial volume by three-dimensional ultrasound prior to embryo transfer: clues to endometrial receptivity. **Hum Reprod**, v.14, n.11, Nov, p.2851-4. 1999.

RAINE-FENNING, N. et al. The reproducibility of endometrial volume acquisition and measurement with the VOCAL-imaging program. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.19, n.1, Jan, p.69-75. 2002.

RAINE-FENNING, N.J. et al. The reliability of virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) for the semiquantification of ovarian, endometrial and subendometrial perfusion. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.22, n.6, Dec, p.633-9. 2003.

RAINE-FENNING, N.J. et al. The interobserver reliability of three-dimensional power Doppler data acquisition within the female pelvis. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.23, n.5, May, p.501-8. 2004.

RAINE-FENNING, N.J. et al. Endometrial and subendometrial perfusion are impaired in women with unexplained subfertility. **Hum Reprod**, v.19, n.11, Nov, p.2605-14. 2004.

RAINE-FENNING, N.J. et al. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power Doppler angiography. **Hum Reprod**, v.19, n.2, Feb, p.330-8. 2004.

RAINE-FENNING, N.J. et al. The interobserver reliability and validity of volume calculation from three-dimensional ultrasound datasets in the in vitro setting. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.21, n.3, Mar, p.283-91. 2003.

SCHILD, R.L. et al. Quantitative assessment of subendometrial blood flow by three-dimensional-ultrasound is an important predictive factor of implantation in an in-vitro fertilization programme. **Hum Reprod**, v.15, n.1, Jan, p.89-94. 2000.

SCHILD, R.L. et al. Three-dimensional endometrial volume calculation and pregnancy rate in an in-vitro fertilization programme. **Hum Reprod**, v.14, n.5, May, p.1255-8. 1999.

SHALEV, J.; DAVIDI, O.; FISCH, B. Quantitative three-dimensional sonographic assessment of pelvic blood after transvaginal ultrasound-guided oocyte aspiration: factors predicting risk. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.23, n.2, Feb, p.177-82. 2004.

SIEMER, J. et al. Three-dimensional power Doppler sonography of the (sub)endometrium and angiogenic cytokine concentrations. **Reprod Biomed Online**, v.17, n.2, Aug, p.249-58. 2008.

SPANDORFER, S.D. et al. Reliability of intraobserver and interobserver sonographic endometrial stripe thickness measurements. **Fertil Steril**, v.70, n.1, Jul, p.152-4. 1998.

WOLMAN, I. et al. Transvaginal ultrasonographic measurements of endometrial thickness: a reproducibility study. **J Clin Ultrasound**, v.24, n.7, Sep, p.351-4. 1996.

YAMAN, C. et al. Reproducibility of three-dimensional ultrasound endometrial volume measurements in patients with postmenopausal bleeding. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.19, n.3, Mar, p.282-6. 2002.

YAMAN, C. et al. Reproducibility of transvaginal three-dimensional endometrial volume measurements during ovarian stimulation. **Hum Reprod**, v.14, n.10, Oct, p.2604-8. 1999.

ZACKOVA, T. et al. Assessment of endometrial and ovarian characteristics using three dimensional power Doppler ultrasound to predict response in frozen embryo transfer cycles. **Reprod Biol Endocrinol**, v.7, p.151. 2009.

ZAIDI, J. et al. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization program. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.6, n.3, Sep, p.191-8. 1995.

ZOHAV, E. et al. Low endometrial volume may predict early pregnancy loss in women undergoing in vitro fertilization. **J Assist Reprod Genet**, v.24, n.6, Jun, p.259-61. 2007.

ZOLLNER, U. et al. Impact of three-dimensionally measured endometrial volume on the pregnancy rate after intrauterine insemination. **Zentralbl Gynakol**, v.125, n.3-4, Mar-Apr, p.136-41. 2003.

9. ANEXOS

ANEXO 1

COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO

Ribeirão Preto, 21 de julho de 2009

Ofício nº 2319/2009
CEP/MGV

Prezada Senhora,

O trabalho intitulado **"AVALIAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DA AVALIAÇÃO DO VOLUME ENDOMETRIAL EM DIFERENTES PERÍODOS DURANTE PROCEDIMENTOS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA"** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 291ª Reunião Ordinária realizada em 20/07/2009 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido,** de acordo com o Processo HCRP nº 6226/2009.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora
STAEL PORTO LEITE
Depto. de Ginecologia e Obstetrícia

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA – 0000 2733; IRB – 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.fmrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **Avaliação da reprodutibilidade da avaliação do volume endometrial em diferentes períodos, durante procedimentos de reprodução assistida.**

Conteúdo

Estamos convidando as pacientes da Clínica de Fertilização do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (HCFMRP-USP) que estejam sendo submetidas a procedimento de reprodução assistida de alta complexidade (transferência de embriões). Esta é uma pesquisa que vai utilizar uma nova forma de ultrassom, chamado tridimensional, em exames realizados na avaliação inicial, dois dias antes da captação de oocítos e uma semana após a transferência de embriões.

Justificativa e objetivo da pesquisa:

Atualmente não há consenso sobre qual método é o mais confiável para se determinar o volume do endométrio, justificando-se estudos para que se determine a melhor maneira de se realizar esta avaliação.

Os procedimentos que serão utilizados:

Para este estudo, além do que é normalmente feito pelas pacientes submetidas à transferência de embriões, serão realizados exames de ultrassonografia vaginal tridimensional em três avaliações: no dia da avaliação inicial, no dia em que se indica a captação dos óvulos e uma semana após a transferência de embriões. Pode-se participar de todas as três avaliações ou apenas de uma ou duas, dependendo de sua disposição.

Os riscos esperados:

Não há nenhum risco descrito com o exame de ultrassom pela vagina. Entretanto durante o exame pode ocorrer certo desconforto, ocorrido pela introdução do aparelho de ultrassom apropriado no interior da vagina. Tal desconforto é o mesmo de um exame de ultrassom pela vagina que já é normalmente realizado durante os procedimentos de reprodução assistida. Nas duas primeiras avaliações, o exame será realizado junto com o ultrassom de rotina, porém pode demorar alguns minutos além do habitual. Nestes exames não há risco para o futuro bebê, pois esses exames são feitos antes de sua formação

Caso aceite participar também da avaliação uma semana após a transferência de embriões, este será um exame adicional e o futuro bebê também será submetido ao exame. Entretanto, não há riscos descritos para o feto utilizando exames de ultrassonografia, quando se respeitam as normas de segurança estabelecidas, o que ocorrerá em todas as avaliações.

Eu, _____,

RG Nº _____, abaixo assinada, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar.
A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionada com a pesquisa a que serei submetida;
A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso me traga prejuízo;
A segurança de que não serei identificada e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade;
O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando.

Tenho ciência do exposto acima e desejo participar voluntariamente da pesquisa.

Data: _____

_____
Assinatura da Paciente

_____
Stael Porto Leite - CRM: 57596
Pesquisador Responsável
Telefone: (16) 3602 2815

_____
Prof. Dr Wellington de Paula Martins
CRM-SP: 104.946
Orientador

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

Ultrasound Obstet Gynecol (2011)
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.9016

A standardized measurement technique may improve the reliability of measurements of endometrial thickness and volume

W. P. MARTINS*††, N. J. RAINE-FENNING§, S. P. LEITE*, R. A. FERRIANI* and C. O. NASTRI*‡

*Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, Brazil; †Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Hormônios e Saúde da Mulher, Ribeirão Preto, Brazil; ‡Escola de Ultra-sonografia e Reciclagem Médica de Ribeirão Preto (EURP), Ribeirão Preto, Brazil; §Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Human Development, University of Nottingham, Nottingham, UK

KEYWORDS: endometrium; imaging; reproductive medicine; standardization; three-dimensional; ultrasonography

ABSTRACT

Objective *To investigate whether standardization of the multiplanar view (SMV) when evaluating the uterus using three-dimensional ultrasonography (3D-US) improves intra- and interobserver reliability and agreement with regard to endometrial measurement.*

Methods *Two-dimensional (2D) and 3D-US was used to measure endometrial thickness by two observers in 30 women undergoing assisted reproduction treatment. Endometrial volume was measured with Virtual Organ Computer-aided AnaLysis (VOCAL™) in the longitudinal (A) and coronal (C) planes using an unmodified multiplanar view (UMV) and a standardized multiplanar view (SMV). Measurement reliability was evaluated by intraclass correlation coefficient (ICC) and agreement was examined using Bland–Altman plots with limits of agreement (LoA). The ease of outlining the endometrial–myometrial interface was compared between the A- and C-planes using subjective assessment.*

Results *Endometrial volume measurements using the SMV and A-plane were more reliable (intra- and interobserver ICCs, 0.979 and 0.975, respectively) than were measurements of endometrial thickness using 2D-US (intra- and interobserver ICCs, 0.742 and 0.702, respectively) or 3D-US (intra- and interobserver ICCs, 0.890 and 0.784, respectively). The LoAs were narrower for SMV than for UMV. Reliability and agreement were not much different between the A- and C-planes. However the observers agreed that delineating the endometrial–myometrial interface using the A-plane was easier (first and second observer, 50.0 and 46.7%, respectively) or 'comparable' (50 and 53.3%, respectively), but never more difficult than using the C-plane.*

Conclusions *Endometrial volume measurements are more reliable than endometrial thickness measurements and are best performed using SMV and the A-plane.* *Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.*

INTRODUCTION

Virtual Organ Computer-aided AnaLysis (VOCAL™; GE Medical Systems, Zipf, Austria) is software that can be used to determine endometrial volume[1,2]. It allows the user to manually define any object within a three-dimensional (3D) dataset through delineation of its surface contours as the dataset is rotated through 180° about a fixed axis. The user must decide the rotation step (e.g. 30°, 15°, 9°) and which of three perpendicular planes will be used for the purpose (A, B or C). While several groups have examined the effect of the rotation step on the reliability of volume measurements[2–5], to the best of our knowledge none has studied the effects of the plane used to delineate the object to be measured. This is important, as different views are made available to the user, which may influence the measurement and its reliability. When using VOCAL, most authors have delineated the endometrium starting from a coronal view of the uterus (usually the C-plane)[3,6,7] because this was considered to provide more information about the cornual aspects of the endometrial cavity and because the upper and lower aspects of the endocervical canal are more readily identified[4]. Other authors have noted posterior acoustic enhancement when assessing the endometrium

Correspondence to: Dr W. P. Martins, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes, 3900, 8 andar, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. CEP: 14049-900 (e-mail: wpmartins@gmail.com)

Accepted: 27 March 2011

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

in the coronal plane, which may reduce the clarity of the endometrial–myometrial interface[8].

Regardless of the exact method used we know of no studies on endometrial volume measurement that provide detailed information about the initial preparation of the dataset. The initial image presented in the multiplanar view reflects the volume obtained during acquisition of the dataset and invariably gives oblique images in one or more planes. The dataset can be manipulated and centralized to provide a standardized view of the uterus and endometrial cavity. Standardization of the multiplanar view is likely to improve the reliability of endometrial measurements.

This study was designed to evaluate the effect of image standardization on the intra- and interobserver reliability and agreement when measuring endometrial thickness and volume.

METHODS

Subjects

We invited 44 subfertile women, aged 22–38 years, who were undergoing assisted reproduction treatment and embryo transfer to take part in the study. If the patient was interested they were provided with written information about the study and given 24 h to consider this. All patients in our clinic undergo a baseline transabdominal and transvaginal ultrasound examination to identify pelvic pathology prior to their treatment. Patients were excluded if this revealed the presence of myometrial or endometrial pathology, including uterine leiomyomas, and polyps or adnexal pathology such as a hydrosalpinx or ovarian cyst. The study was approved by the local ethics committee and all subjects provided written consent before entering the study. All subjects underwent conventional IVF treatment according to local standardized protocols.

Terminology

The following terms are used in this paper:

- Reliability, which relates the magnitude of the measurement error in observed measurements to the inherent variability between subjects[9].
- Agreement, which quantifies how close two measurements made on the same subject are, independently of the variability between subjects[9].

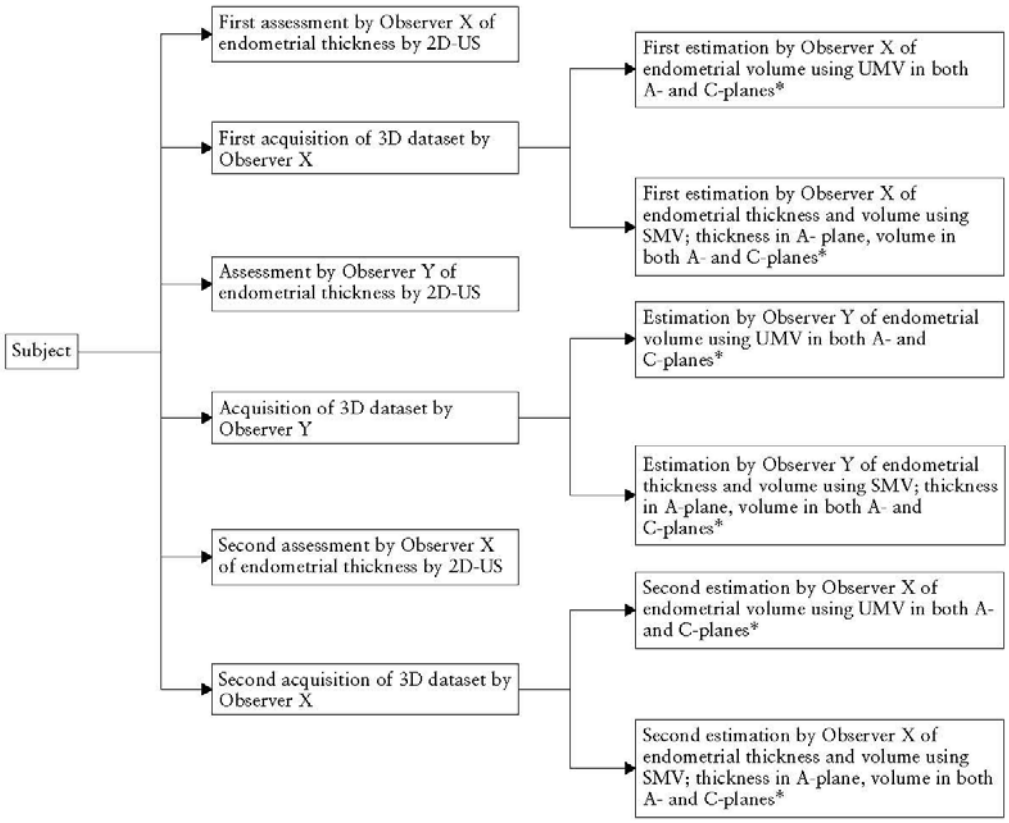

Figure 1 Flowchart of study design. Measurements of endometrial thickness and volume using the acquired volumes were performed on two different occasions at least 2 weeks apart. In one of the evaluations each observer determined endometrial volume using the unmodified multiplanar view (UMV) in both the A- and C-planes, while in the other evaluation the observers manipulated the dataset to obtain the standardized multiplanar view (SMV) before measuring endometrial thickness and volume. *Order (A-plane first or C-plane first) was random. 2D-US, two-dimensional ultrasound; 3D-US, three-dimensional ultrasound.

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

- Validity, which refers to differences observed between the recorded value from one observer and the 'true' value, which should be estimated by a suitable reference standard (e.g. histological measurement of endometrial thickness from surgically removed uterus)[10]. Validity is not assessed in this study.
- Multiplanar view, which is an option within the 'sectional planes' mode of 4D View (GE Medical Systems), in which the observer is able to see three orthogonal planes that are mutually related to each other by a single reference point.

Data collection and analysis

The research ultrasound examination was performed on the last day of ovarian stimulation prior to the induction of final follicular maturation. A Voluson 730 Expert (GE Medical Systems) ultrasound machine equipped

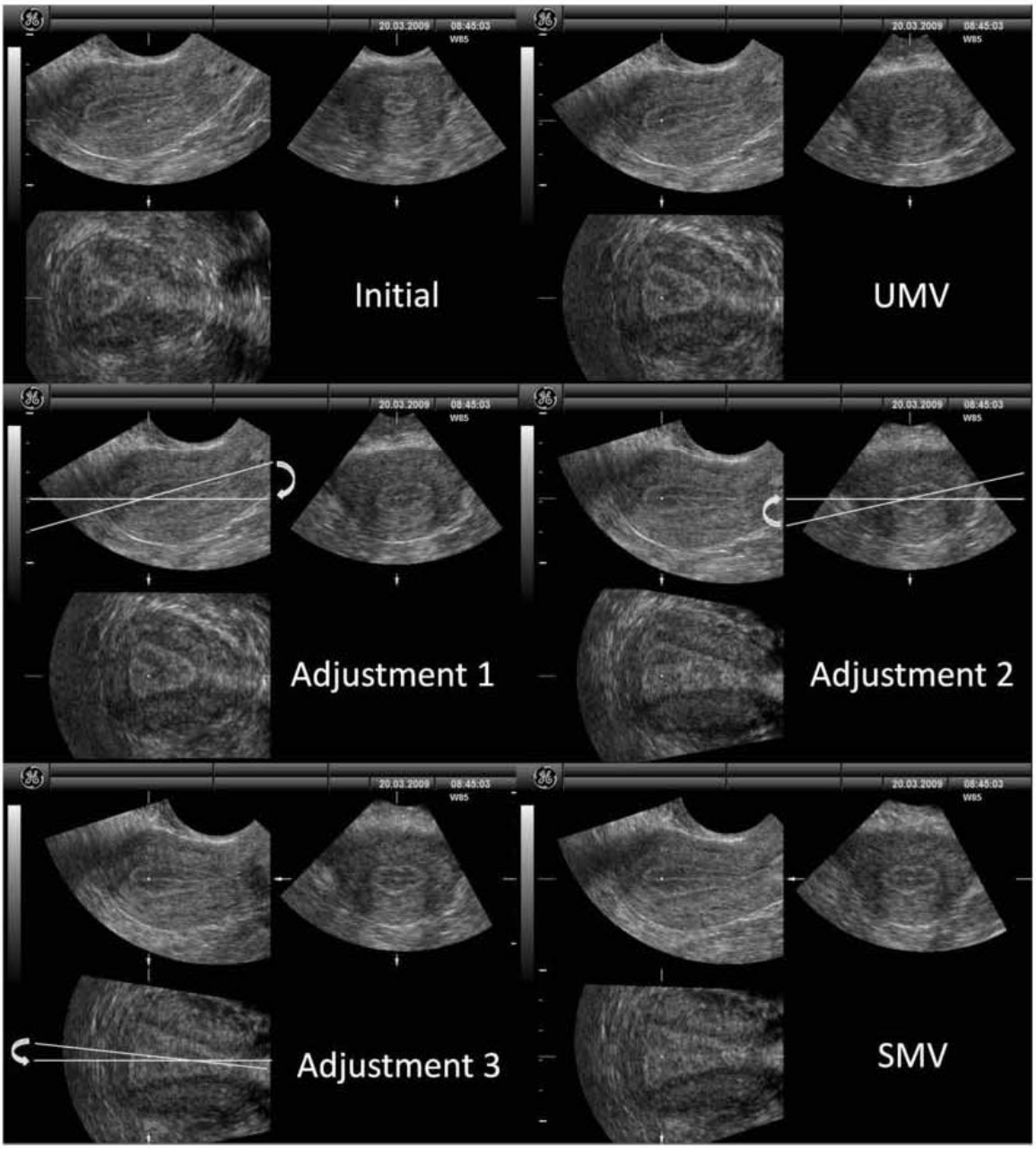

Figure 2 Manipulation of the three-dimensional dataset for obtaining the standardized multiplanar view. See text for details.

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

with a volumetric 5–9-MHz transvaginal transducer was used for all subjects. Two observers conducted the ultrasound examinations. Observer X (S.P.L., with 18 years of experience with two-dimensional ultrasound (2D-US) and 1 year of experience with 3D-US) measured the endometrial thickness using conventional 2D-US and then acquired a 3D dataset for later evaluation. Observer Y (W.P.M., with 8 years of experience with 2D-US, and 5 years of experience with 3D-US) then repeated these steps for the determination of interobserver reliability and agreement, before Observer X undertook an identical third examination for the determination of intraobserver reliability and repeatability. Only one examiner was present at the time of each ultrasound examination, the other leaving the room. The probe was removed between examinations and the two observers were blinded to each others' findings and measurements and to their own measurements; see below for analysis of volumes. The study design is outlined in Figure 1.

Endometrial thickness was determined by two methods: by conventional 2D-US, by which it was assessed in a median longitudinal plane of the uterus (subjective evaluation) as the maximum distance between the endometrial–myometrial interface of the anterior to the posterior wall of the uterus, and by 3D-US, by which it was measured in the same way as for 2D-US but only after the dataset had been manipulated to produce a standardized multiplanar view (SMV) of the uterus. Figure 2 shows a series of six 3D multiplanar views of the uterus, depicting the steps used to obtain the SMV of the uterus. Each of the multiplanar views contains three images, which demonstrate the longitudinal (upper left image; A-plane), transverse (upper right image; B-plane) and coronal (lower left image; C-plane) planes of the uterus. Starting with the initial dataset, the unmodified multiplanar view (UMV) is obtained by simply centering the endometrium in the A-plane (placing the central point in the endometrium close to the fundus of the uterus). The SMV was obtained by placing the central point in the endometrium close to the fundus of the uterus and then rotating the uterus in the A-, B- and C-planes until the observer was sure that the dataset was appropriately aligned, with the reference point placed in the central aspect of the endometrium in all three planes (Figure 2), in an attempt to avoid potential oblique and/or off-center measurements of endometrial thickness.

Endometrial volume was determined with VOCAL, which allows the user to manually define the contours of an object as the dataset is rotated around a fixed axis. For the purposes of this study we first delineated the endometrium starting on a longitudinal section through the uterus (the A-plane) and the dataset was rotated vertically around the y-axis (uterine anteroposterior axis). A second measurement was made by delineating the endometrium in the coronal plane of the uterus (C-plane), the dataset now being rotated around the x-axis (uterine longitudinal axis). We did not measure the endometrial volume starting from a transverse plane through the uterus (B-plane) because the images generated from this evaluation are exactly the same as those obtained when starting from the A-plane, since the uterus is also rotated on its anteroposterior axis. All rotational measurements were performed with the manual mode and a 15° rotation step, which provides the user with 12 planes for volume calculation as the dataset is rotated through 180°. This ensures a high degree of measurement reliability and is no less valid or reliable than measurements made with a 6° rotation step, which take significantly longer[3–5]. Two different techniques were used for each of these endometrial volume measurements: the first involved using the UMV, which is the initial, unedited view presented after the process of volume acquisition achieved by simply centering the endometrium in the A-plane (Figure 2). The second measurement was undertaken after the dataset had been manipulated to produce the SMV of the uterus as described above. Four endometrial volume measurements were made for each 3D dataset: (1) A-plane using the UMV; (2) C-plane using the UMV; (3) A-plane using the SMV; and (4) C-plane using the SMV. The order of measurements – A-plane first or C-plane first, when assessing endometrial volume in each 3D dataset – was random and determined by a random number generator to avoid potential 'learning' bias. When evaluating interobserver reliability and agreement, only values obtained during the first evaluation by Observer X were used.

Measurements of endometrial thickness and volume using the acquired volumes were performed on two different occasions at least 2 weeks apart: in one of the evaluations each observer determined endometrial volume using the UMV in both the A- and C-planes, while in the other evaluation the observers manipulated the dataset to obtain the SMV before measuring endometrial thickness and volume. The observers were blinded to

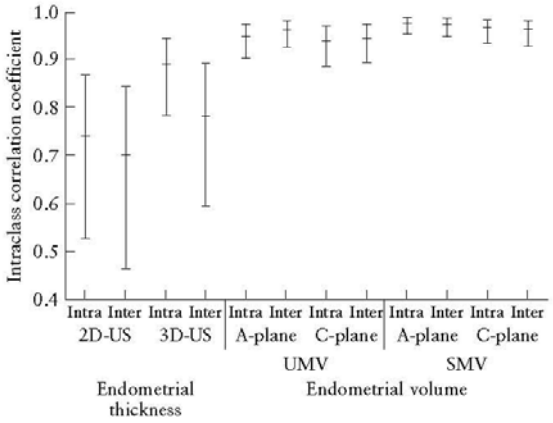

Figure 3 Estimates and 95% CIs for intraclass correlation coefficients obtained when assessing intra- and interobserver reliability. 2D-US, two-dimensional ultrasonography; 3D-US, three-dimensional ultrasonography; SMV, standardized multiplanar view; UMV, unmodified multiplanar view.

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

each others' measurements and to their own previous measurements.

After performing endometrial volume measurements of each subject in each of the two evaluations, the observers were also asked to subjectively choose in which plane it was easier to delineate the endometrial–myometrial interface: A-plane easier, C-plane easier or no difference between the two methods. Observer X was asked to answer only after evaluation of the first dataset from each subject had been done.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 16.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and GraphPad Prism 5 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Since all parameters were shown to be normally distributed, we compared the values of endometrial thickness between every method and observer using repeated measures ANOVA to detect the presence of any systematic bias. The same comparison was also performed for endometrial volume.

Reliability of the measurements was evaluated by the intraclass correlation coefficient (ICC) and intra- and interobserver agreement was examined by Bland–Altman plots with limits of agreement (LoA)[11]. Agreement between the two observers with regard to the ease of delineating the endometrial–myometrial interface was expressed as percentage agreement and Cohen's kappa coefficient[12,13], and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Only 34 of the 44 women invited to take part in the study agreed to participate. Four of these were excluded due to the presence of leiomyomas on the baseline scan, resulting in a final study group of 30 women. For each subject Observer X performed two complete evaluations and Observer Y one complete evaluation. Each complete evaluation consisted of two measurements of endometrial thickness (2D-US and 3D-US), and four measurements of endometrial volume (A-plane using UMV and SMV, and C-plane using UMV and SMV). Considering all measurements by the two observers in the 30 subjects, a total of 180 endometrial thickness measurements and 360 endometrial volume measurements were performed.

When comparing the results of endometrial thickness measurement between methods and observers, no significant differences were observed ($P = 0.83$, repeated measures ANOVA); considering all subjects, methods and observers, the mean endometrial thickness was 10.42 ± 1.38 (range, 6.7–13.4) mm. When comparing the corresponding results for measurement of endometrial volume, no significant differences were observed ($P = 0.93$, repeated measures ANOVA); the mean endometrial volume was 4.29 ± 1.70 (range, 1.24–8.82) cm^3.

The ICCs for endometrial thickness were higher for 3D-US than for 2D-US, but the 95% confidence intervals (CIs) overlapped (Figure 3). The highest ICC values for endometrial volume measurements were obtained when the measurements were performed in the A-plane using

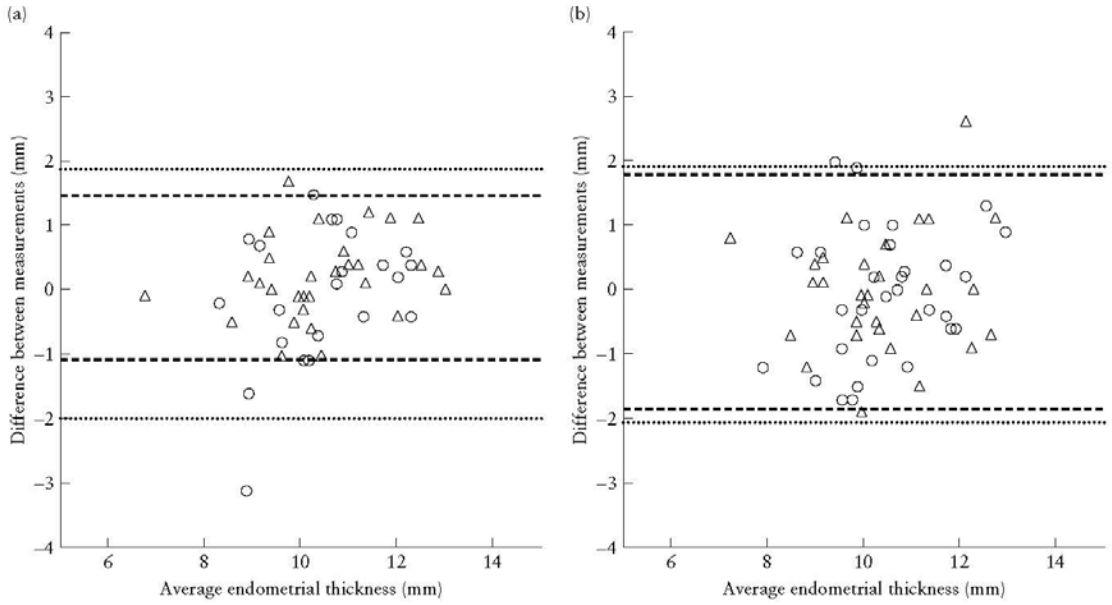

Figure 4 Bland–Altman plots for intraobserver (a) and interobserver (b) agreement of measurement of endometrial thickness by two-dimensional (○, ·····) and three-dimensional (△, ----) ultrasound, with horizontal lines showing estimates of lower and upper limits of agreement.

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

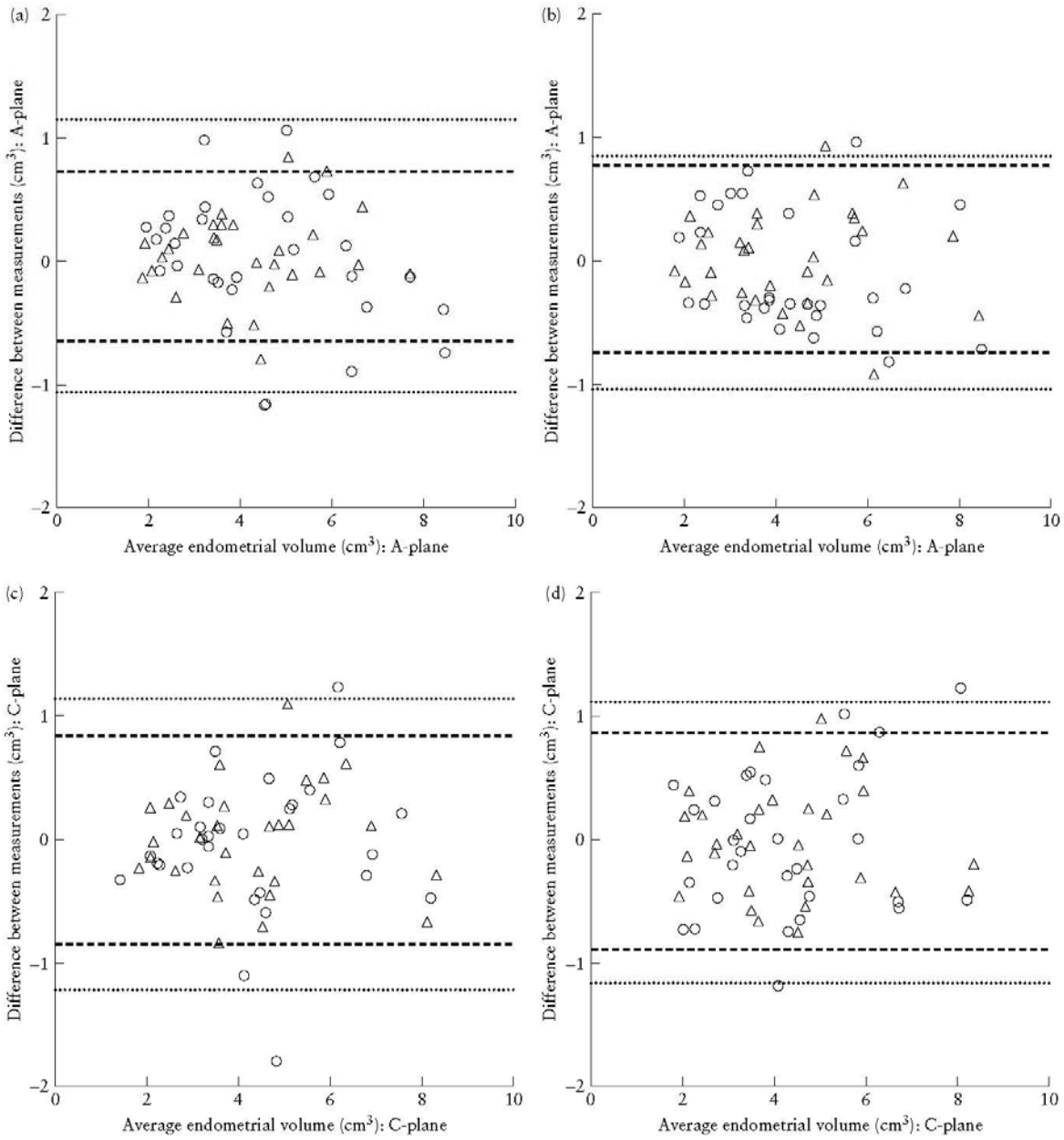

Figure 5 Bland–Altman plots for intraobserver (a,c) and interobserver (b,d) agreement of measurement of endometrial volume by VOCAL in longitudinal (A-plane, a,b) and coronal (C-plane, c,d) planes, using an unmodified multiplanar view (○, ·····) or a standardized multiplanar view (△, ----). Horizontal lines represent estimates of lower and upper limits of agreement.

SMV, but the 95% CIs of the ICC values for the various endometrial volume methods overlapped (Figure 3). The ICC values were substantially higher for endometrial volume measurements than for endometrial thickness measurements but the 95% CIs of many ICCs overlapped (Figure 3). However, the 95% CIs of the ICCs for endometrial volume measurement using the A-plane and SMV did not overlap with any of those for endometrial thickness measurements.

When evaluating the Bland–Altman plots for endometrial thickness measured by 2D-US and 3D-US (Figure 4), the LoA was narrower for 3D-US for the intraobserver differences, but not for the interobserver differences. When comparing the agreement of endometrial volume assessed between UMV and SMV, we observed narrower LoAs for SMV considering both intra- and interobserver differences. The estimates for LoA were not much different between A- and C-planes (Figure 5).

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

Observers X and Y considered it to be easier to delineate the endometrial–myometrial contour when measurements were performed using the A-plane than when using the C-plane in 50.0 and 46.7% of cases, respectively, or that it was equally easy to delineate the endometrial–myometrial border using the A-plane and C-plane in 50 and 53.3%, respectively. Neither observer considered the endometrial–myometrial interface to be 'more readily identifiable' using the C-plane in any evaluation. The observed concordance between the observers with regard to the ease of delineating the endometrial–myometrial border was 83.3%, with a Cohen's kappa of 0.67 (95% CI, 0.48–0.85).

DISCUSSION

Evaluating our results, we feel that the best option for quantifying the endometrium is volume assessment using the SMV and A-plane, at least on the day on which human chorionic gonadotropin is administered during assisted reproduction. Endometrial volume measurements using the SMV and A-plane were more reliable than were

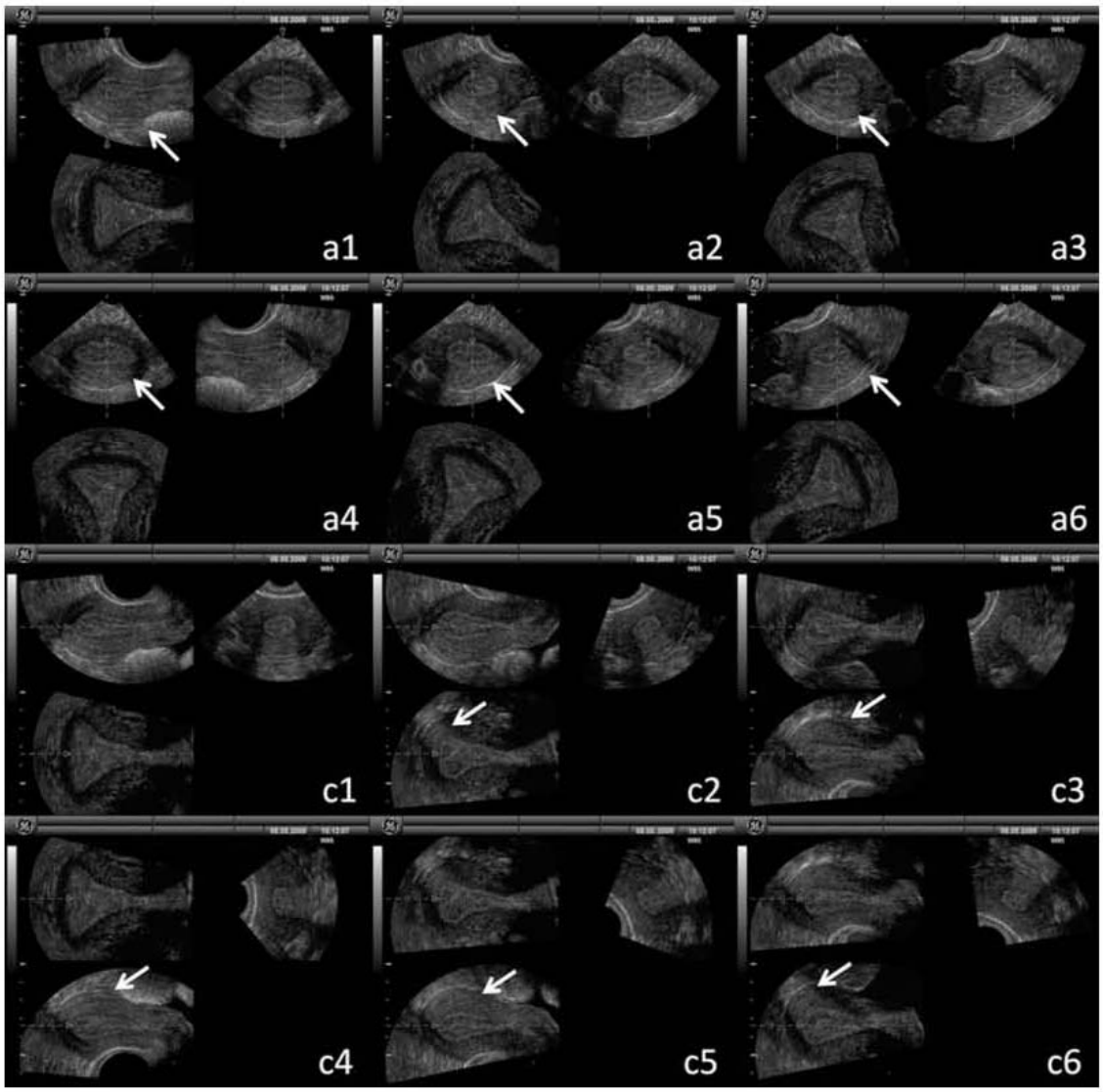

Figure 6 Endometrial volume measurements made with Virtual Organ Computer-aided AnaLysis in the A-plane as the dataset is rotated 180° vertically around the y-axis through the B-plane (a1–a6) and 180° horizontally around the x-axis through the C-plane (c1–c6). Posterior acoustic enhancement (arrows) is observed just beneath the endometrial–myometrial interface in all the evaluated planes when the dataset is rotated 180° vertically about the y-axis through the B-plane. The same artifact appears when the dataset is rotated 180° horizontally about the x-axis, but in a variable position and above the endometrial–myometrial interface.

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

measurements of endometrial thickness by both 2D-US and 3D-US. Agreement of endometrial volume measurements using the SMV and A-plane was better than when UMV was used (considering both A- and C-planes), since the estimates for LoAs were narrower. Although overlaps in the 95% CIs were observed for ICCs between the A- and C-planes using SMV, the observed ICC values were slightly better for the A-plane. Additionally the observers agreed that it was frequently easier to delineate the endometrial–myometrial interface using the A-plane.

This study has the following strengths: (1) the observers were blind to their own previous measurements and to each others' measurements[10]; (2) when assessing endometrial thickness by 2D-US, the probe was completely removed from the vagina between evaluations since different pressures applied during probe insertion could potentially interfere with measurement of endometrial thickness and 3D dataset acquisition; (3) completely different 3D datasets were examined, and both acquisition and analysis of 3D datasets could be evaluated in our study, while several published studies have evaluated single stored 3D-datasets[14–16]. The main weakness is that we only evaluated the endometrium in a very specific period (in the assisted reproduction setting); therefore our conclusions cannot necessarily be extrapolated to other conditions (e.g. the endometrium in postmenopausal bleeding).

Comparing our results of reliability and agreement of endometrial thickness measurement by 2D-US with those of Epstein and Valentin[17], interobserver agreement was very similar, and by evaluating the LoA from the two studies one should expect that 95% of differences between two examiners should be below 2 mm. Our ICCs for 2D-US endometrial thickness were lower; however this was expected, because we evaluated a more homogeneous sample (women at the same stage of ovulation induction, with endometrial thickness from 6.7–13.4 mm) than the previous report (postmenopausal women, some with bleeding, with endometrial thickness from approximately 2 to >30 mm)[17]. Several studies have shown that endometrial volume can be measured reliably and that measurements are consistently associated with ICCs above 0.80[3,4,18–20]. The classical 'slicing' technique is also reliable but takes longer than the rotational method (VOCAL)[21], which has become the standard for volume calculation in both obstetrics[22,23] and gynecology[3,6]. Volume determination by the rotation method starting from the coronal (C-) plane using the longitudinal axis for rotation was the first reported method using VOCAL[4], and the high degree of measurement reliability and validity was subsequently confirmed in *in-vitro* models[24]. However, when using VOCAL to measure endometrial volume both observers agreed that the endometrial–myometrial interface was more readily evident for approximately half of the cases when the A-plane was used as the reference point. In contrast, neither observer thought that the interface was more apparent when measurements were made in the C-plane. We believe that this difference is related

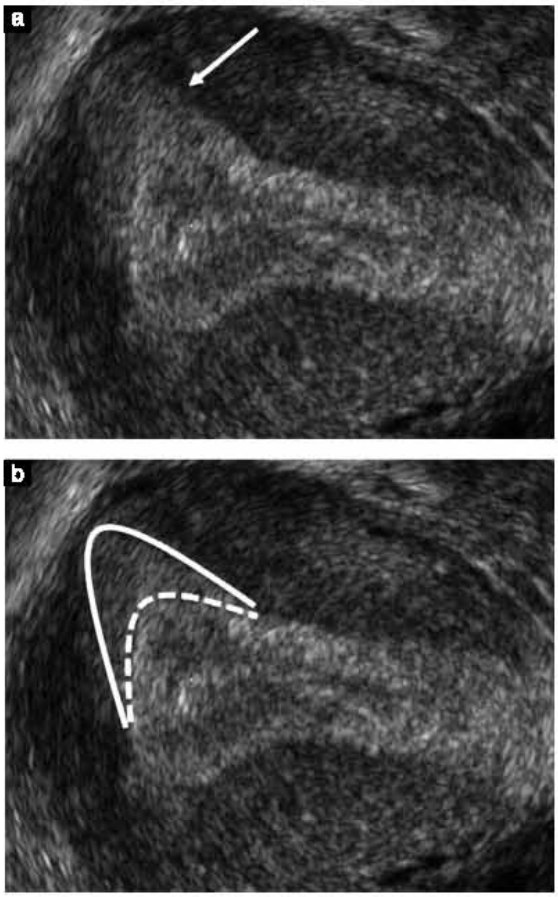

Figure 7 Ultrasound images showing how posterior enhancement (arrow) makes it difficult to delineate the endometrial–myometrial interface when assessing endometrial volume using the C-plane. In the original image (a) it is difficult to differentiate between the endometrium and the more echogenic myometrium. In (b) the endometrial–myometrial interface is delineated with a dashed line; the solid line delineates a change in myometrial echogenicity caused by posterior enhancement that may be misinterpreted as the endometrial–myometrial interface.

to the posterior acoustic enhancement that is normally observed during this period of the menstrual cycle. The surrounding extrauterine tissue becomes more echogenic by posterior enhancement, reducing the contrast with the surrounding myometrium. When the uterus is rotated in the anteroposterior axis (A-plane), posterior enhancement is presented in all evaluations and in a fixed position (just below the endometrial–myometrial interface), which agrees with the position observed during evaluation by 2D-US. Therefore it is relatively easy to delineate the interface, even when the contrast between myometrium and endometrium is not good enough. However, when the uterus is rotated in the C-plane, posterior enhancement only appears in some of the planes and above the endometrial–myometrial interface, which is the opposite of that observed using 2D-US. Additionally, posterior enhancement did not reach the uterine serosa in some of

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

the planes, and the resulting portion of more echogenic myometrium might be difficult to differentiate from the real endometrium (Figures 6 and 7).

With regard to the clinical relevance of our results, we suggest that the best option for evaluating endometrial volume with VOCAL is to use the SMV and A-plane. This is important, because until now physicians and researchers have used completely different methods when evaluating endometrial volume. We have shown that endometrial volume assessed using the SMV and A-plane is more reliable than are endometrial thickness methods for evaluating the uterus; however, one should consider the costs of equipment, human resources and the additional time needed to perform measurements related to endometrial volume. Other studies to see if the results obtained in different situations, such as postmenopausal bleeding, are similar to ours are still needed.

REFERENCES

1. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR. Endometrial and subendometrial perfusion are impaired in women with unexplained subfertility. *Hum Reprod* 2004; **19**: 2605–2614.
2. Martins WP, Ferriani RA, dos Reis RM, Nastri CO, Filho FM. Endometrial thickness and volume by three-dimensional ultrasound one week after embryo transfer to detect pregnancy. *J Assist Reprod Genet* 2007; **24**: 155–158.
3. Martins Wde P, Ferriani RA, Ferreira AC, Spara P, Pinheiro Filho L, Reis RM, Mauad Filho F. [The reproducibility of VOCAL endometrial volume measurement – importance of the step rotation]. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2006; **28**: 38–43.
4. Raine-Fenning N, Campbell B, Collier J, Brincat M, Johnson I. The reproducibility of endometrial volume acquisition and measurement with the VOCAL-imaging program. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; **19**: 69–75.
5. Raine-Fenning NJ, Clewes JS, Kendall NR, Bunkheila AK, Campbell BK, Johnson IR. The interobserver reliability and validity of volume calculation from three-dimensional ultrasound datasets in the *in vitro* setting. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; **21**: 283–291.
6. Martins Wde P, Ferriani RA, Nastri CO, Dos Reis RM, Mauad Filho F. Measurement of endometrial volume increase during the first week after embryo transfer by three-dimensional ultrasound to detect pregnancy: a preliminary study. *Fertil Steril* 2008; **90**: 883–885.
7. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power Doppler angiography. *Hum Reprod* 2004; **19**: 330–338.
8. Abuhamad AZ. Clinical implications of the echo enhancement artifact in volume sonography of the uterus. *J Ultrasound Med* 2006; **25**: 1431–1435.
9. Bartlett JW, Frost C. Reliability, repeatability and reproducibility: analysis of measurement errors in continuous variables. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **31**: 466–475.
10. Khan KS, Chien PF. Evaluation of a clinical test. I: assessment of reliability. *BJOG* 2001; **108**: 562–567.
11. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; **1**: 307–310.
12. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 1960; **20**: 37–46.
13. de Paula Martins W, Santana LF, Nastri CO, Ferriani FA, de Sa MF, Dos Reis RM. Agreement among insulin sensitivity indexes on the diagnosis of insulin resistance in polycystic ovary syndrome and ovulatory women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; **133**: 203–207.
14. Martins WP. Three-dimensional power Doppler: validity and reliability. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; **36**: 530–533.
15. Martins WP, Raine-Fenning NJ. Analysis and acquisition reproducibility of 3D power Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; **36**: 392–393; author reply 393–394.
16. Martins WP, Nastri CO. Reproducibility of 3D power Doppler placental vascular indices. *Arch Gynecol Obstet* 2011; **283**: 403–404.
17. Epstein E, Valentin L. Intraobserver and interobserver reproducibility of ultrasound measurements of endometrial thickness in postmenopausal women. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; **20**: 486–491.
18. Kyei-Mensah A, Maconochie N, Zaidi J, Pittrof R, Campbell S, Tan SL. Transvaginal three-dimensional ultrasound: reproducibility of ovarian and endometrial volume measurements. *Fertil Steril* 1996; **66**: 718–722.
19. Yaman C, Sommergruber M, Ebner T, Polz W, Moser M, Tews G. Reproducibility of transvaginal three-dimensional endometrial volume measurements during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1999; **14**: 2604–2608.
20. Bordes A, Bory AM, Benchaib M, Rudigoz RC, Salle B. Reproducibility of transvaginal three-dimensional endometrial volume measurements with virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) during ovarian stimulation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; **19**: 76–80.
21. Cheong KB, Leung KY, Li TK, Chan HY, Lee YP, Tang MH. Comparison of inter- and intraobserver agreement and reliability between three different types of placenta volume measurement technique (XI VOCAL, VOCAL and multiplanar) and validity in the *in-vitro* setting. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; **36**: 210–217.
22. Martins WP, Ferriani RA, Nastri CO, Filho FM. First trimester fetal volume and crown–rump length: comparison between singletons and twins conceived by in vitro fertilization. *Ultrasound Med Biol* 2008; **34**: 1360–1364.
23. Martins WP, Nastri CO, Barra DA, Navarro PA, Mauad Filho F, Ferriani RA. Fetal volume and crown–rump length from 7 to 10 weeks of gestational age in singletons and twins. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; **145**: 32–35.
24. Martins WP, Ferriani RA, Barra DA, Dos Reis RM, Bortolieiro MA, Nastri CO, Filho FM. Reliability and validity of tissue volume measurement by three-dimensional ultrasound: an experimental model. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; **29**: 210–214.

Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.