

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTERÍCIA

RAFAELA DIB ISHIMURA

Endométrio fino refratário: protocolos de preparo endometrial e impacto
nas taxas de gestação em ciclos de transferência de embrião congelado

Ribeirão Preto
2023

RAFAELA DIB ISHIMURA

**Endométrio fino refratário: protocolos de preparo endometrial e
impacto nas taxas de gestação em ciclos de transferência de embrião
congelado.**

Versão corrigida

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ginecologia e
Obstetrícia

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Japur de
Sá Rosa e Silva

Ribeirão Preto

2023

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.

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Ishimura, Rafaela Dib

Endométrio fino refratário: protocolos de preparo endometrial e impacto nas taxas de gestação em ciclos de transferência de embrião congelado / Rafaela Dib Ishimura; Orientadora Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva. Ribeirão Preto: FMRP, 2023, 53 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-graduação em Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Versão corrigida.

1. Infertilidade; 2. Endométrio; 3. Transferência embrião congelado; 4. Endométrio fino.

Nome: Ishimura, Rafaela Dib

Título: Endométrio fino refratário: protocolos de preparo endometrial e impacto nas taxas de gestação em ciclos de transferência de embrião congelado.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 07/11/2023.

Banca examinadora:

Prof.(a) Dra Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP)

Julgamento: Aprovada

Prof.(a) Dra Ines Katerina Damasceno Cavallo Cruzeiro

Instituição: Life Search- Serviço de Reprodução Humana / UFMG

Julgamento: Aprovada

Prof.(a) Dr Gustavo Arantes Maciel

Instituição: Universidade de São Paulo (USP -SP)

Julgamento: Aprovada

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu primeiro agradecimento, pela oportunidade de vivenciar essa experiência e por iluminar todos meus passos! Sem a força divina, nenhuma conquista seria possível!

À minha família, pelo apoio e amor incondicional! Pai e mãe, impossível descrever em palavras a gratidão por toda dedicação e sacrifício ao longo dos anos. Meus exemplos de perseverança, fé, bondade e honestidade, que me forneceram um alicerce sólido, sempre me motivando a buscar excelência nos estudos. Minha irmã Giovana, obrigada por estar sempre presente (mesmo quando distante fisicamente), sendo meu amparo e companheira de todos os momentos.

À minha orientadora, Professora Dra. Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva, pelo incentivo, sabedoria e competência. Sua experiência e conhecimento moldaram não apenas esse projeto, mas também meu desenvolvimento acadêmico.

A todos os professores que contribuíram para minha formação. E todos os membros da banca de qualificação e defesa do Mestrado, que dedicaram seu tempo para avaliar esse trabalho, obrigada pelas críticas e sugestões valiosas.

A todas minhas pacientes, por serem inspiração na busca constante de aperfeiçoamento e principalmente por me lembrarem diariamente como amo minha profissão!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) por meio do Programa de Excelência Acadêmica (PROEX).

RESUMO

ISHIMURA R. D. **Endométrio fino refratário: protocolos de preparo endometrial e impacto nas taxas de gestação em ciclos de transferência de embrião congelado.**

2023. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.)

Introdução: O endométrio possui papel essencial na implantação embrionária, processo este que depende do desenvolvimento embrionário de boa qualidade e de endométrio sincrônico, associado a fatores endócrinos, sinalizações epigenéticas e moleculares. O endométrio fino é uma patologia, no qual mesmo na presença de níveis adequados de estrogênio não ocorre o crescimento e espessamento do tecido endometrial de maneira satisfatória, consequentemente a receptividade do endométrio fica comprometida, o que pode prejudicar a implantação do embrião. Esta alteração de receptividade endometrial é um fator limitante para o sucesso dos tratamentos de Reprodução Assistida, causa de falha recorrente de implantação e um dos fatores mais difíceis de serem abordados com as pacientes. Tendo em vista a importância do endométrio na implantação embrionária, esse trabalho teve como objetivo avaliar os ciclos de transferência embrionária, para definir a prevalência de endométrio fino refratário no Laboratório de Reprodução Assistida do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, avaliar a resposta endometrial aos diferentes protocolos de preparo e os desfechos reprodutivos quando endométrio satisfatório é atingido nestas mulheres.

Metodologia: Este estudo foi retrospectivo, baseado em dados de prontuário médico, no qual foram incluídas todas as pacientes submetidas a preparo endometrial para transferência de embriões criopreservados no período de 2018 a 2020 (N=550). Na primeira análise foram selecionados os casos em que o endométrio não atingiu espessura mínima de 7mm no primeiro ciclo (N=64), posteriormente, em análise complementar, foram incluídas pacientes com resposta endometrial considerada adequada, tratadas no mesmo período, como grupo controle (N=64). Foram analisadas as seguintes variáveis: características clínicas e epidemiológicas das pacientes, dados dos ciclos de estimulação ovariana, protocolos de preparo endometrial para transferência de embrião congelado e desfechos reprodutivos.

Resultados: A prevalência de endométrio fino em ao menos um ciclo de preparo endometrial foi de 11,63% (n=64/550). A maior parte das pacientes que não desenvolvem endométrio favorável no primeiro ciclo de preparo, responde bem a protocolos alternativos nos ciclos subsequentes. Entre as 64 pacientes incluídas, apenas 18 foram consideradas como realmente portadoras de endométrio refratário (3,3%). Setenta e três por cento das pacientes que

apresentaram ao menos um ciclo de endométrio fino no preparo para TEC desenvolveu endométrio favorável no ciclo fresco. Os protocolos que utilizaram a via transdérmica foram mais eficientes em induzir endométrio favorável e, portanto, propiciar a transferência, com superioridade estatística em relação ao ciclo natural (via oral + transdérmica x ciclo natural: $p=0,0029$) (via transdérmica x ciclo natural: $p=0,0137$). A taxa de gravidez química (β -hCG positivo) foi muito inferior nas pacientes com endométrio fino refratário quando comparado ao grupo controle (3,13% x 23,68%, $p=0,0090$).

Conclusões: A prevalência de endométrio fino refratário foi de 3,3%. A taxa de cancelamento de ciclos foi de 75%. Os protocolos que utilizaram o preparo artificial com a via transdérmica (associado a via oral ou isolado) foram mais eficientes em induzir endométrio favorável, com superioridade estatística em relação ao ciclo natural. Pacientes com endométrio fino refratário possuem taxas de gestação muito inferiores em relação a mulheres sem esta condição em ciclos de transferência de embriões criopreservados.

Palavras-chave: Infertilidade. Endométrio. Transferência embrião congelado. Endométrio fino.

ABSTRACT

ISHIMURA R. D. **Refractory thin endometrium: endometrial preparation protocols and impact on pregnancy rates in frozen embryo transfer cycles.** 2023. Thesis (Master Degree in Gynecology and Obstetrics, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.)

Introduction: The endometrium plays an essential role in embryonic implantation, which depends on a good embryo quality and a synchronic endometrium, together with endocrine factors, epigenetic and molecular signaling. The thin endometrium is a pathology where even in the presence of adequate levels of estradiol there is no satisfactory endometrial growth and thickening, therefore endometrial receptivity is impaired what affect embryo implantation. This endometrial receptivity alteration is a limiting factor for success of Assisted Reproduction treatments, it causes recurrent implantation failure and it is one of the most difficult issues for patients to deal with. Considering the importance of the endometrium in embryo implantation, this study aimed to evaluate embryo transfer cycles, to define the prevalence of refractory thin endometrium in the Assisted Reproduction Laboratory of the Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, to evaluate the endometrial response to different preparation protocols and reproductive outcomes when satisfactory endometrium is achieved in these women.

Methodology: This study was retrospective, based on data from medical records, including all patients who underwent endometrial preparation for frozen embryo transfer (FET) in the period from 2018 to 2020 (N=550). In the first analysis, cases were selected in which the endometrium didn't reach a minimum thickness of 7mm in the first cycle (N=64), subsequently, in a complementary analysis, patients with an endometrial response considered adequate, treated in the same period, were included as a control group (N=64). The following variables were analyzed: clinical and epidemiological characteristics of the patients, data of ovarian stimulation cycles, endometrial preparation protocols for frozen embryo transfer and reproductive outcomes.

Results: The prevalence of thin endometrium in at least one cycle of endometrial preparation was 11.63% (n=64/550). Most patients who didn't develop favorable endometrium in the first preparation cycle respond well in subsequent cycles. Among the 64 patients included, only 18 were considered to actually have refractory thin endometrium (3.3%). Seventy-three percent of patients who had at least one cycle of thin endometrium in preparation for FET developed favorable endometrium in the fresh

cycle. The protocols that used the transdermal route were more efficient in inducing favorable endometrium and, therefore, enabling transfer, with statistical superiority in relation to the natural cycle. The rate of chemical pregnancy (positive β -hCG) was much lower in patients with refractory thin endometrium when compared to the control group (3.13% x 23.68%, $p=0.0090$).

Conclusion: The prevalence of refractory thin endometrium was 3.3%. The cycle cancellation rate was 75%. The protocols that used artificial preparation with the transdermal route (associated with oral route or alone) were more efficient in inducing favorable endometrium, with statistical superiority in relation to the natural cycle. Patients with refractory thin endometrium have much lower pregnancy rates compared to women without this condition in frozen embryo transfer cycles.

Keywords: Infertility. Endometrium. Frozen embryo transfer. Thin endometrium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Implantação embrionária	16
Figura 2 - Endométrio em ultrassonografia	17
Figura 3 - Estratégias para endométrio refratário.....	20
Figura 4 - Fluxograma de distribuição dos prontuários analisados	28
Figura 5 - Características clínicas e causas de infertilidade das pacientes com endométrio fino no primeiro preparo endometrial.....	30
Figura 6 - Características clínicas e demográficas do grupo endométrio fino refratário	31
Figura 7 - Protocolos utilizados nos ciclos de preparo endometrial.....	32
Figura 8 - Resposta endometrial de acordo com protocolo no 2º ciclo	33
Figura 9 - Resposta endometrial de acordo com protocolo no 3º ciclo	34
Figura 10 - Resposta endometrial de acordo com protocolo, independente do ciclo	35
Figura 11 - Taxa de transferência por protocolo de preparo endometrial	36
Figura 12 - Resultado β -hCG por protocolo	36
Figura 13 - Taxa de aborto	38
Figura 14 - História de mal formação ou cirurgia uterina prévia	39
Figura 15 - β -hCG positivo nos grupos: refratário x responsivo x controle	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média de idade entre os grupos ($p>0,005$)	37
Tabela 2 - Causas de infertilidade entre os grupos ($p>0,005$)	38

LISTA DE SIGLAS

G-CSF	Fator Estimulador de Colônias Granulocitárias
β -hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
HCUSPRP	Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo - Ribeirão Preto
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
IMC	Índice de Massa corpórea
IL	Interleucinas
LH	Hormônio Luteinizante
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
RA	Reprodução Assistida
RCT	Randomized Controlled Trial
TEC	Transferência de embrião congelado
USP	Universidade de São Paulo
VEGF	Fator de Crescimento Vascular Endotelial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	O ENDOMÉTRIO E A JANELA DE IMPLANTAÇÃO.....	15
1.2	ENDOMÉTRIO FINO.....	17
2	JUSTIFICATIVA.....	21
3	OBJETIVOS.....	22
3.1	OBJETIVOS PRIMÁRIOS.....	22
3.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	22
4	METODOLOGIA.....	23
4.1	DESENHO DO ESTUDO.....	23
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	23
4.2.1	Grupo de estudo (endométrio fino).....	23
4.2.2	Grupo controle.....	24
4.3	INTERVENÇÕES AVALIADAS (RETROSPECTIVO).....	24
4.4	VARIÁVEIS ANALISADAS.....	25
4.5	PAREAMENTO ENDOMÉTRIO FINO X GRUPO CONTROLE.....	25
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
5	ASPECTOS ÉTICOS.....	27
6	RESULTADOS.....	28
6.1	GRUPO ENDOMÉTRIO FINO.....	29
6.1.1	Características clínicas e demográficas das pacientes	29
6.1.2	Características do ciclo de estimulação ovariana.....	31
6.1.3	Protocolos utilizados de preparo endometrial em ciclo para transferência de embrião congelado.....	32
6.1.4	Resposta endometrial por ciclo, de acordo com o protocolo de preparo endometrial.....	33
6.1.5	Resposta endometrial de acordo com o protocolo de preparo endometrial, independente do ciclo.....	34
6.2	DESFECHOS REPRODUTIVOS ENTRE ENDOMÉTRIO FINO REFRATÁRIO X ENDOMÉTRIO FINO RESPOSITIVO X GRUPO	

	CONTROLE.....	37
7	DISCUSSÃO.....	41
8	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	ANEXOS.....	52

1. INTRODUÇÃO

1.1 O ENDOMÉTRIO E A JANELA DE IMPLANTAÇÃO

O endométrio é um tecido uterino com dinâmica cíclica de descamação, reparação, regeneração e remodelamento. Ele é dividido em camada basal e funcional e regulado por sinalização hormonal. Na fase folicular do ciclo menstrual, ocorre predomínio da atividade estrogênica, com proliferação glandular e crescimento das camadas endometriais. Após o pico de LH e ovulação, aumenta a secreção de progesterona, com consequente diferenciação glandular, vascular e decidualização para implantação embrionária. Caso esta não ocorra, o endométrio descama (menstruação) e é reparado pela ação estrogênica, com migração celular da camada basal para área descamada. [1,2]

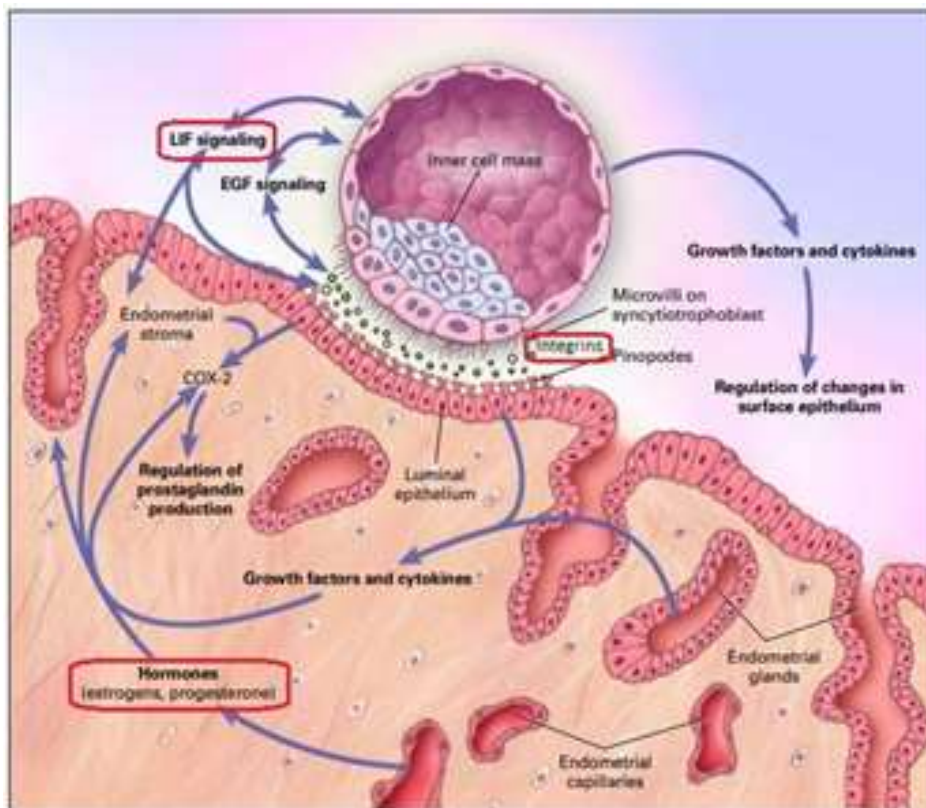
A implantação embrionária é caracterizada pela interação entre embrião e endométrio, sendo que depende do desenvolvimento embrionário de boa qualidade e endométrio receptivo sincrônico, associado a fatores endócrinos e parácrinos, sinalizações epigenéticas e moleculares.

A implantação embrionária pode ser dividida em fases: migração do blastocisto para cavidade uterina com eclosão e liberação da zona pelúcida; aposição do blastocisto eclodido; interação e adesão do trofoderma embrionário ao endométrio; invasão do endométrio pelo blastocisto. [3]

O período mais adequado para a ocorrência da implantação é chamado de “janela de implantação” e consiste na sincronia perfeita entre os tempos de desenvolvimento do endométrio e do embrião, com exposição de moléculas de adesão com seus respectivos receptores no tecido aposto, permitindo que o blastocisto se ligue à superfície endometrial. Ela ocorre entre o 20° e 24° dia, em um ciclo regular de 28 dias.

A ação hormonal estroprogestativa é essencial para que essas alterações funcionais e estruturais ocorram e permitam a implantação, sendo que a espessura endometrial é diretamente relacionada ao status estrogênico. Por isso, vale ressaltar que a expressão de receptores de progesterona, essencial para as etapas de maturação e diferenciação final do endométrio para a implantação bem sucedida, depende da ação prévia de estrogênio, sendo este de igual importância à progesterona no processo implantacional. [4,5]

Figura 1 – Implantação Embrionária



Fonte: Adaptado de Norwitz et al. (2001)

Além da ação estroprogestativa, a implantação embrionária também depende da liberação de quimiocinas, fatores de crescimento, prostaglandinas, moléculas de sinalização, proteinases e moduladores imunológicos [4]. Alguns biomarcadores são considerados essenciais, como: HLA-G antígeno leucocitário humano do complexo de histocompatibilidade; integrinas; L-selectina, proteínas semelhantes à lectina; fator de crescimento epidérmico ligador de heparina; fator de crescimento semelhante a insulina IGF-II; LIF fator inibidor de leucemia; calcitonina; interleucinas, como IL-1 e IL-6; leptinas; CSF-1 fator estimulador de colônia; e ascaderinas [5].

A espessura endometrial adequada facilita a decidualização e invasão do blastocisto, assim como posterior crescimento placentário, sendo importante marcador prognóstico com impacto nos desfechos reprodutivos [6,7]. Por isso, em mulheres submetidas a procedimentos de Reprodução Assistida (RA) é habitual o monitoramento não só do crescimento folicular e ovulação, mas também das características do endométrio. O método mais utilizado atualmente para este fim é a ultrassonografia, que possui baixo custo e boa acurácia quando realizado por operador habilitado. Os parâmetros usados mais importantes são a espessura e a característica de ecogenicidade

endometrial, que podem ser complementadas pelo volume do endométrio e fluxo ao Doppler.

O endométrio deve ser medido, através de ultrassonografia transvaginal com alta frequência (5-9MHz), no plano sagital, próximo ao fundo uterino. Vários fatores podem limitar a acurácia dessa medida, como nódulos miometriais, adenomiose, pólipos, biotipo da paciente, qualidade do aparelho e variação inter e intra-observador.[8] Estudos demonstraram variação inter-observador de aproximadamente 1mm, e intra-observador de 0,6-0,7mm. [9]

Figura 2 – Endométrio em ultrassonografia



Fonte: Liu, Hartman e Hartman, (2019).

1.2 ENDOMÉTRIO FINO

Sabe-se que o aumento da espessura endometrial na fase folicular depende predominantemente do *status* estrogênico da mulher. Entretanto, em algumas mulheres, apesar do bom nível de produção estrogênica pelo folículo ou adequada quantidade de estradiol administrado de maneira exógena, não ocorre a adequada proliferação endometrial, de maneira que não se atinge a espessura endometrial esperada para a

implantação.

Na literatura, não existe um valor totalmente padronizado para o diagnóstico de “endométrio fino” no ciclo. Apesar de já descrito caso de gravidez com endométrio medindo 4mm, reporta-se maiores taxas com endométrios acima de 7mm. [10]. Existe uma heterogenicidade entre os estudos, que variam o ponto de corte para endométrio fino entre 6-8mm, [11, 12, 13, 14], porém a maioria sugere valor de corte acima de 7mm, no dia do trigger em ciclos a fresco ou no início da progesterona pré transferência de embrião congelado, correlacionando com maiores taxas de implantação [15].

A definição de endométrio fino refratário também não é completamente estabelecida na literatura, pois ainda não foi determinado quantos ciclos com espessura endometrial abaixo de 7mm seriam necessários para o diagnóstico. Algumas pacientes podem apresentar endométrio fino em um ciclo isolado de transferência de embrião congelado, porém responder normalmente em preparos subsequentes.

A prevalência de endométrio fino refratário em ciclos de transferência de embrião congelado nos diferentes estudos varia de 2,5-5%. Esses valores podem ser subestimados, pois muitas vezes não incluem os ciclos cancelados. [16,17]

Os principais fatores preditores para endométrio fino são endométrio fino durante o ciclo de estimulação ovariana e baixo peso corporal, o que colabora na decisão por determinado protocolo ou dose de medicação. [10]

O endométrio fino pode ser idiopático ou secundário a injúrias teciduais ou disfunções hormonais, como por exemplo: Síndrome de Asherman, história de irradiação pélvica prévia, cirurgia anterior incluindo curetagem, uso de citrato de clomifeno, mal formações Mullerianas, hipogonadismo hipogonadotrófico, história de endometrite, entre outras causas. Estudos em pacientes com endométrio fino reportaram história de curetagem, endometrite pós parto, aborto séptico, radiação, hipogonadismo e mal formações mullerianas. [1,15,18]

Além da importância para receptividade endometrial, em estudo conduzido por Miwa et al., foi identificado redução da expressão de fatores de crescimento endotelial em casos de endométrio fino, com piora da vascularização e impacto na placentação. Isso pode ter como consequência aumento das taxas de aborto, desordens hipertensivas e prematuridade. [10]

A alteração de receptividade endometrial é um fator limitante para o sucesso dos procedimentos de Reprodução Assistida, sendo causa de falha recorrente de implantação. Sendo assim, é essencial a avaliação de espessura e característica

endometrial, para proposição de estratégias para correção deste tipo de alteração e seu adequado tratamento.

Para pacientes com história de endométrio fino nos ciclos de transferência de embrião congelado, a evidência é insuficiente e não demonstra superioridade entre as formas de preparo endometrial. Ciclo artificial e natural apresentam taxas semelhantes de gravidez e nascido vivo. Da mesma forma, nos ciclos artificiais, não se encontrou diferença na via de administração do estrogênio (oral, transdérmica ou combinada). Além disso, o tempo de administração do estrogênico possui pouco impacto, podendo ser estendido quando não se atinge a espessura adequada, desde que o endométrio esteja trilaminar. [10,19]

Diversas terapêuticas já foram propostas para tratamento de endométrio refratário, como uso de aspirina, sildenafil, fator estimulador de colônias, pentoxifilina, hCG, vitamina E, plasma rico em plaquetas, células tronco ou injúria tecidual. Apesar de alguns terem resultados promissores em pequenos estudos observacionais, observa-se ausência de evidência robusta em trials randomizados, não sendo possível conclusões definitivas (figura 3). [19]

Figura 3 - Estratégias para endométrio refratário

Summary of described efficacy of the different therapeutic options for refractory endometrium

● No evidence of benefit ● Unclear effect ● Beneficial intervention.

<i>Endocrine strategies</i>	
high doses of estradiol	●
long courses of estradiol	●
vaginal estradiol	●
systemic HCG	●
intrauterine PRP	●
intrauterine G-CSF	●
GnRH analogues	●
<i>AAS, vitamins & supplements</i>	
aspirin	●
nitroglicerín patches	●
vitamin E	●
L-arginine	●
pentoxifilina	●
sildenafil	●
<i>Surgical strategies</i>	
hysteroscopy	●
stem cells	●
uterine transplantation	●

Fonte: Garcia- Vellasco, et al., 2016

2. JUSTIFICATIVA

O endométrio possui papel essencial na implantação embrionária, com impacto importante no processo reprodutivo, sendo um dos fatores definidores de sucesso em procedimentos de Reprodução Assistida. O endométrio fino associa-se a falha recorrente de implantação e conseqüente prejuízo significativo dos desfechos reprodutivos.

Sendo assim, justifica-se o mapeamento dos casos de endométrio fino em nosso serviço, especialmente com enfoque nos seguintes aspectos: prevalência, critérios definidores, perfil epidemiológico das pacientes, protocolos de tratamento utilizados e desfechos reprodutivos, a fim de estabelecer protocolos de diagnóstico e tratamento mais específicos a esta população.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS PRIMÁRIOS

Avaliar a prevalência de endométrio fino refratário dentre todos os ciclos de transferência de embrião congelado (TEC) e comparar a resposta endometrial a diferentes protocolos de preparo de endométrio, em pacientes com histórico de endométrio menor que 7 (sete) mm em ciclo prévio de preparo endometrial para transferência de embrião congelado.

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar os fatores demográficos e clínicos que podem estar associados a refratariedade do endométrio.
- Avaliar a taxa de cancelamento de ciclos de preparo endometrial para TEC e os desfechos reprodutivos dos ciclos não cancelados.
- Comparar a taxa de gestação entre paciente com endométrio fino refratário e grupo controle.

4. METODOLOGIA

4.1- DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal retrospectivo. A amostra de conveniência foi obtida a partir do levantamento de dados nos prontuários eletrônicos do sistema HCFMRP-USP de todas as pacientes submetidas a ciclos de transferência embrionária entre janeiro de 2018 e dezembro de 2020, cujo endométrio não tenha atingido espessura maior que 7 mm no primeiro ciclo de preparo endometrial.

As pacientes que preencheram critérios de inclusão e exclusão (descritos no item 4.2) foram avaliadas através das variáveis descritas abaixo. Foi identificada a resposta endometrial de cada ciclo, sendo a paciente considerada responsiva se a espessura endometrial atingiu 6mm ou mais nos ciclos subsequentes. Esse valor de 6mm foi escolhido, pois após algumas tentativas de preparo malsucedidas, pacientes que atingem endométrio de 6mm são consideradas para transferência. Portanto, reforçamos que o critério de inclusão no estudo para a análise de prevalência de endométrio fino foi 7mm, porém, foi considerado endométrio fino refratário somente as pacientes que não atingiram ao menos 6mm de espessura em 3 ciclos consecutivos de preparo endometrial, independente do protocolo utilizado. Para a segunda análise (comparativa entre desfechos reprodutivos das pacientes do estudo e grupo controle) foram selecionadas pacientes submetidas a preparo de TEC no mesmo período porém que apresentaram endométrio maior ou igual a 7mm, já na primeira tentativa de preparo endometrial, pareadas por idade (grupo controle). As pacientes foram divididas em endométrio fino refratário, endométrio fino responsivo e grupo controle (item 4.5).

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

4.2.1. Grupo de estudo (endométrio fino)

Crítérios de inclusão: Mulheres submetidas a ciclo de transferência de embriões congelados (TEC) no Centro de Reprodução Humana do HCRP, no período de janeiro de 2018 a dezembro de 2020, que não atingiram a espessura endometrial de 7mm no primeiro ciclo de preparo endometrial para TEC (independente do protocolo).

Critérios de exclusão: Pacientes submetidas a único ciclo de preparo endometrial, devido impossibilidade de comparação com outros ciclos e/ou prontuários com dados incompletos ou informações discrepantes.

4.2.2. Grupo Controle

Critérios de inclusão: Mulheres submetidas a ciclo de transferência de embriões congelados (TEC) no Centro de Reprodução Humana do HCRP, no período de Janeiro de 2018 a Dezembro de 2020, que obtiveram espessura endometrial maior ou igual a 7mm no primeiro ciclo de preparo endometrial para TEC (independente do protocolo), pareadas por idade com as pacientes do grupo endométrio fino.

Critérios de exclusão: Suspensão da transferência de embrião congelado por qualquer motivo que não a espessura endometrial e/ou Prontuários com dados incompletos ou informações discrepantes.

4.3 INTERVENÇÕES AVALIADAS (RETROSPECTIVO)

- Características do ciclo de estimulação ovariana: protocolo de tratamento utilizado, número de dias de indução, espessura endometrial no dia do trigger (desencadeamento da maturação folicular), se houve ou não transferência de embrião a fresco, resultados reprodutivos alcançados - taxa de gravidez química (beta-hCG positivo).
- Protocolos de preparo endometrial para TEC utilizados na prática clínica e que serão comparados neste estudo, sendo eles:
 - a. Ciclo artificial com valerato de estradiol, via oral, dose entre 4-8mg/dia;
 - b. Ciclo artificial com terapia combinada, com valerato de estradiol via oral (4-6mg/dia) associado a estradiol por via transdérmica (2-4mg/dia);
 - c. Ciclo artificial com estradiol por via transdérmica isolada (ex: estradiol em gel 4 mg/dia ou estradiol em adesivos de 100mcg, troca de 1 adesivo a cada 48horas);
 - d. Ciclo natural modificado (crescimento folicular espontâneo, com desencadeamento da ovulação por hCG/LH ou com associação de progesterona em folículos ≥ 17 mm) ou ciclo induzido com indutores da ovulação (ex: letrozol ou clomifeno).

4.4 VARIÁVEIS ANALISADAS

- Idade da paciente;
- Índice de massa corpórea;
- Causa de infertilidade;
- História de cirurgia ou mal formação uterina;
- Espessura endometrial no dia do trigger no ciclo de estimulação ovariana;
- Protocolos de preparo endometrial artificial para ciclo de transferência de embriões congelados;
- Espessura endometrial máxima ao longo do preparo endometrial (antes da introdução da progesterona);
- Quantidade de dias de preparo, antes da introdução da progesterona;
- Necessidade ou não de mudança de protocolo de preparo endometrial em ciclo de transferência de embrião congelado, como aumento da dose ou associação de estrogênio por outra via;
- Realização ou não de transferência, com taxa de cancelamento de ciclos;
- Desfecho reprodutivo, como resultado de β -hCG.

4.5 PAREAMENTO: ENDOMÉTRIO FINO X GRUPO CONTROLE

Para comparação de taxa de gestação, cada paciente do grupo de estudo (espessura endometrial abaixo de 7mm no primeiro preparo endometrial) foi pareada por idade com uma paciente do grupo controle (espessura endometrial maior ou igual a 7mm), na proporção 1:1.

Em seguida as pacientes foram divididas em 3 grupos: endométrio fino refratário (mais de 3 ciclos de preparo com endométrio fino, considerado abaixo de 6mm de espessura), endométrio fino responsivo (paciente que respondeu no segundo ou terceiro preparo subsequente) e grupo controle. Foi realizada comparação da taxa de aborto prévio e de gestação química (β -hCG positivo) por ciclo dessas pacientes.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com a ajuda do programa SAS versão 9.4. Os dados numéricos serão apresentados na forma de média \pm desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil, de acordo com a distribuição.

As variáveis qualitativas foram resumidas considerando as frequências absolutas e relativas. Foram realizadas tabelas de contingências para verificar a distribuição das variáveis qualitativas de interesse.

Os resultados foram apresentados em gráficos de pizzas e colunas.

Foi considerado como endométrio favorável: espessura do endométrio acima de 6mm, associado a característica trilaminar. Para verificar a associação do endométrio favorável com os protocolos de preparo endometrial foi aplicado o teste qui-quadrado. Esse teste também foi aplicado para verificar se existe associação entre os protocolos de preparo endometrial e β -hCG positivo.

As pacientes foram divididas em endométrio fino refratário, responsivo e grupo controle, também sendo utilizado o teste qui-quadrado para avaliar a taxa de β -hCG positivo por ciclo.

Foi considerado nível de significância quando $p < 5\%$.

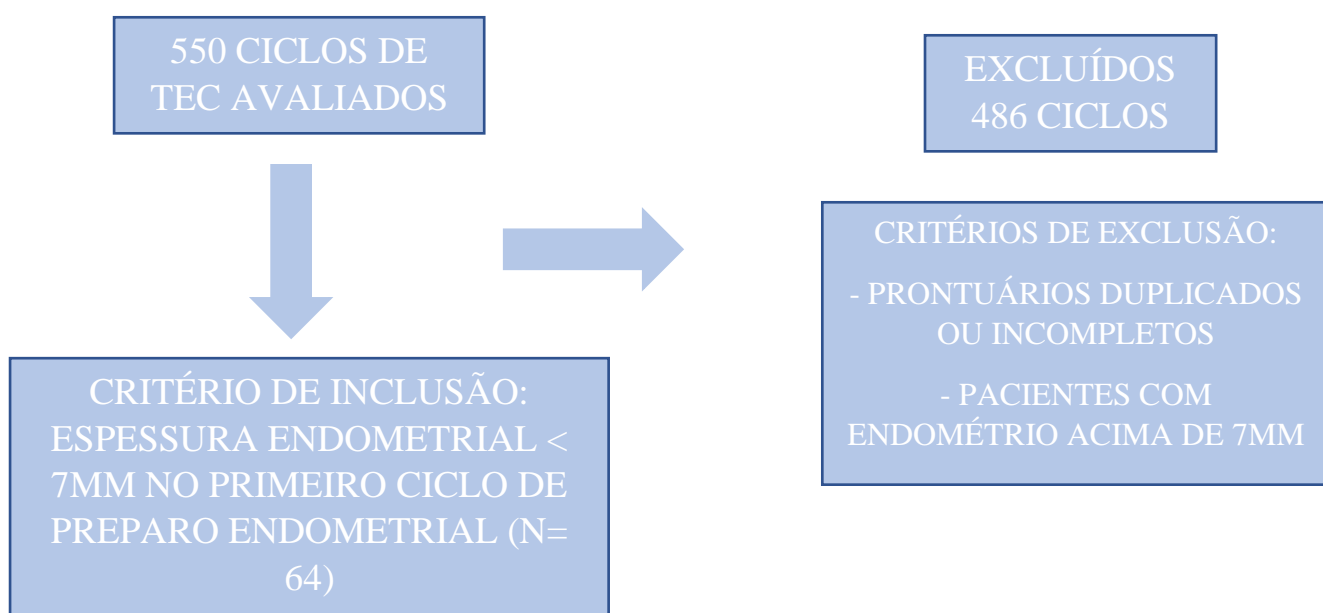
5. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia (CCP-DGO) e posteriormente ao Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP, conforme anexos A e B. Foi solicitada a dispensa do termo de consentimento por tratar-se de levantamento de banco de dados, sendo que muitos dos sujeitos de pesquisa já não se encontram mais em tratamento no Laboratório de Reprodução Humana.

6. RESULTADOS

Foram analisados 550 ciclos de transferência de embrião congelado, sendo observado espessura endometrial abaixo de 7 milímetros no primeiro ciclo de preparo endometrial em 64 pacientes (11,63%), após excluídos prontuários incompletos e repetidos, conforme fluxograma abaixo.

Figura 4: Fluxograma de distribuição dos prontuários analisados



Tivemos uma prevalência de 11,63% (64/550) pacientes com endométrio fino no primeiro ciclo de preparo endometrial. Dentre as 64 pacientes incluídas, 43,75% (n= 28) responderam no segundo ciclo subsequente de preparo endometrial; 28,13% (n=18) no terceiro ciclo; e 28,13% (n=18) não responderam.

Consideramos como endométrio fino refratário a paciente que não respondeu em mais de 3 ciclos de preparo endometrial. Sendo assim, foi observado uma prevalência de endométrio fino refratário de 3,3% (18/550).

Foi identificada taxa de cancelamento de ciclos de 75%, devido espessura endometrial desfavorável no grupo de pacientes com endométrio fino.

6.1 GRUPO ENDOMÉTRIO FINO

6.1.1 Características clínicas e demográficas das pacientes

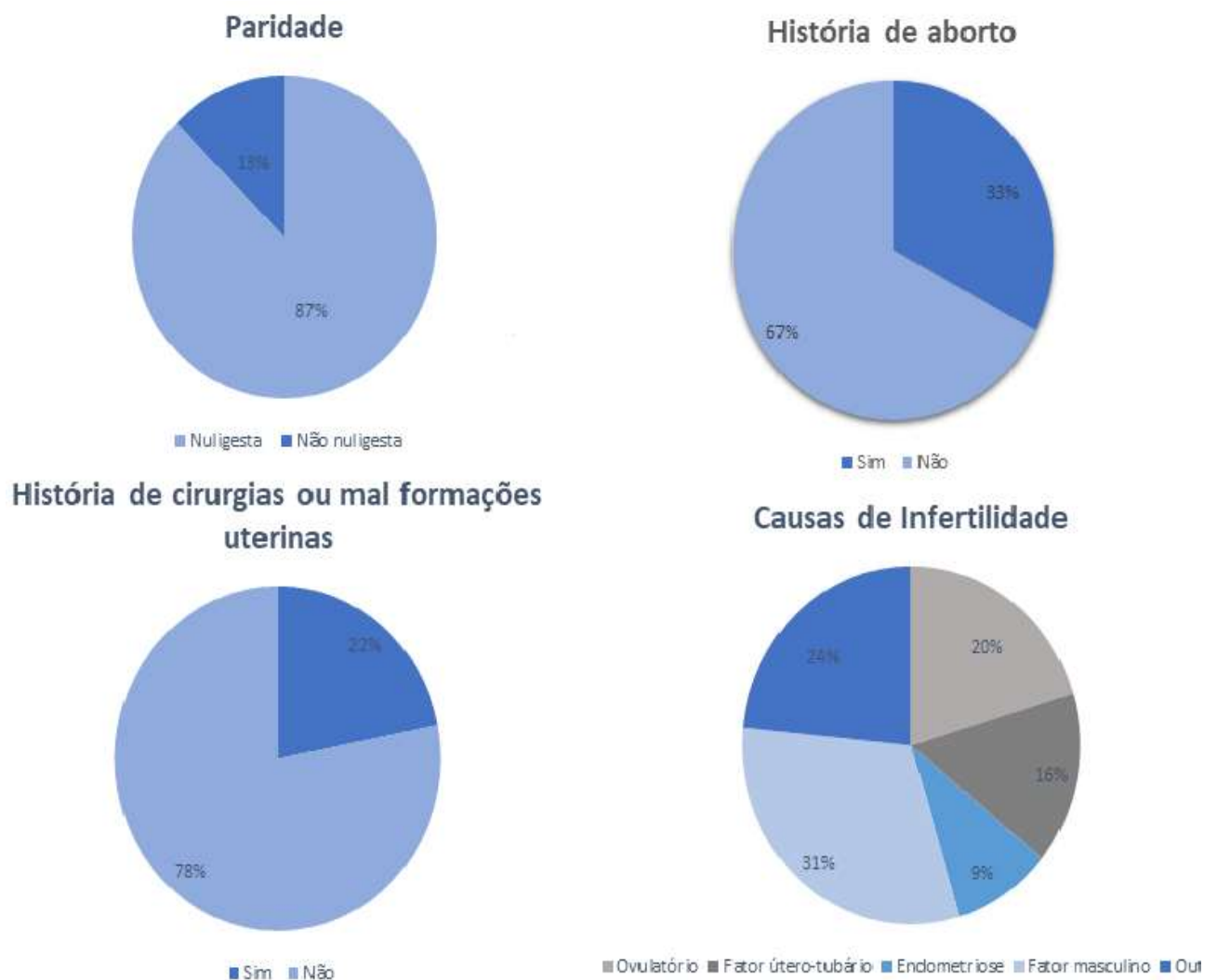
Para avaliação das características demográficas e clínicas, foram analisadas as 64 pacientes que apresentaram pelo menos um ciclo de endométrio fino.

A idade das pacientes variou de 26 a 44 anos, com média de 35,39 anos (desvio padrão 3,32), mediana de 36 anos. O índice de massa corpórea (IMC) variou de 21,10 a 32,00, com média de 25,28 kg/m².

Com relação às características clínicas das pacientes do grupo estudado (N=64), 87% das pacientes nunca tinham engravidado (nuligestas), e daquelas com história de gestação prévia 33% havia apresentado ao menos um aborto (figura 5), o que é uma taxa mais alta do que a prevalência de aborto da população geral.

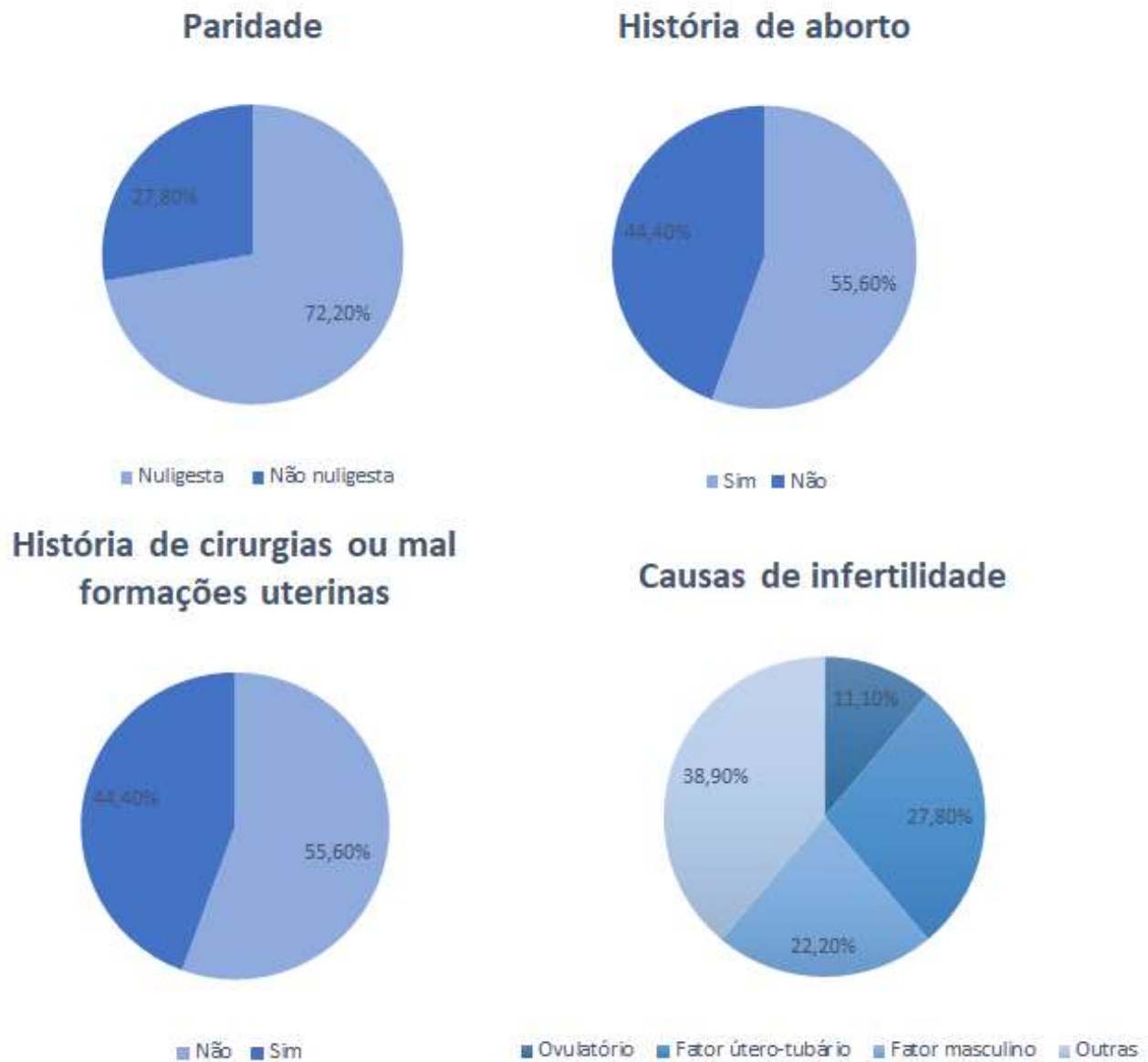
Do ponto de vista das causas de infertilidade, foram encontradas pacientes com fatores ovulatórios, masculino, endometriose, entre outros. 22% das pacientes eram portadoras de malformações mullerianas ou com histórico de cirurgia uterina prévia (como exemplo: curetagem, miomectomia, histeroscopia cirúrgica) (Figura 5).

Figura 5 - Características clínicas e causas de infertilidade das pacientes com endométrio fino no primeiro preparo endometrial (N=64).



Foi realizado também a análise isolada das características clínicas e causas de infertilidade apenas do grupo de pacientes com endométrio fino refratário (N=18), conforme a figura 6.

Figura 6 - Características clínicas e demográficas do grupo endométrio fino refratário (N=18)



6.1.2 Características do ciclo de estimulação ovariana

Para coleta de óvulos e formação de embriões, as pacientes foram submetidas a estimulação ovariana controlada, sendo que 96,88% utilizaram o protocolo padrão com gonadotrofinas injetáveis. Observou-se que estas mulheres necessitaram de 10 a 16 dias

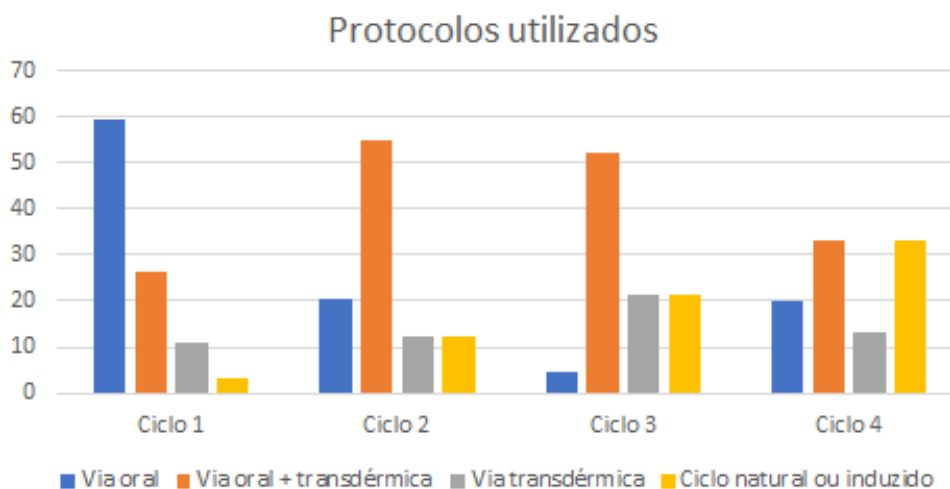
de estimulação ovariana (média: 12,5).

Dentre as 64 pacientes avaliadas, 47 (73,44%) apresentaram espessura endometrial acima de 7 milímetros no dia do trigger e indicação da coleta de óvulos. Destas 47 pacientes, vinte (42,55%) realizaram transferência a fresco, com duas gestações químicas, três abortos e uma gravidez ectópica (6/20: 30%). A espessura média endometrial nas pacientes que realizaram a transferência no ciclo fresco foi de 7,7mm.

6.1.3 Protocolos utilizados de preparo endometrial em ciclo para transferência de embrião congelado

Os protocolos de tratamento utilizados foram: via oral; via oral + transdérmica (misto); via transdérmica isolada; ciclo natural modificado ou induzido (com indutores da ovulação, como por exemplo letrozol) (Figura 7).

Figura 7 - Protocolos utilizados nos ciclos de preparo endometrial



O gráfico acima demonstra os protocolos utilizados para preparo endometrial, por ciclo na ordem em que ocorreram os preparos. É necessário levar em consideração que o primeiro ciclo foi o critério de inclusão. Quarenta e nove pacientes utilizaram valerato de estradiol via oral no primeiro ciclo de preparo endometrial, por ser considerado o protocolo do serviço, com preço e posologia acessíveis. Quinze pacientes utilizaram a via transdérmica no primeiro ciclo.

6.1.4 Resposta endometrial por ciclo, de acordo com o protocolo de preparo endometrial

Com o objetivo de avaliar a resposta endometrial, essa foi dividida em favorável e desfavorável, sendo considerado endométrio favorável aquele que atingiu espessura endometrial acima de 6 milímetros associado a característica trilaminar. Esse valor de 6mm foi escolhido, pois de acordo com a literatura, após algumas tentativas de preparo malsucedidas, pacientes que atingem endométrio de 6mm e característica trilaminar são consideradas para transferência.

As figuras 8 e 9 referem-se ao padrão de resposta endometrial, favorável ou desfavorável, em cada um dos ciclos subsequentes de preparo, de acordo com os protocolos utilizados (excluindo o primeiro ciclo, que foi critério de inclusão).

Figura 8 - Resposta endometrial de acordo com protocolo no 2º ciclo

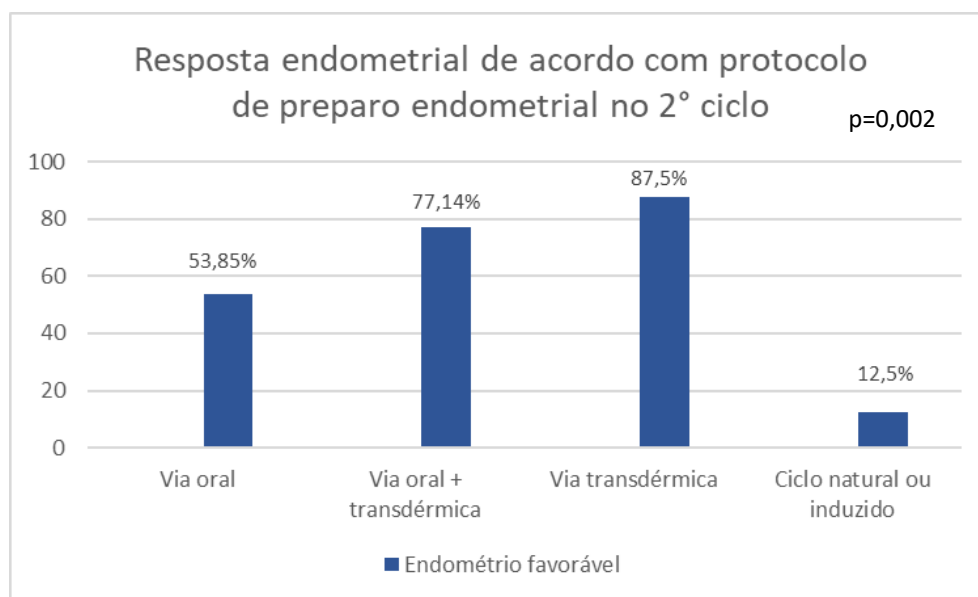
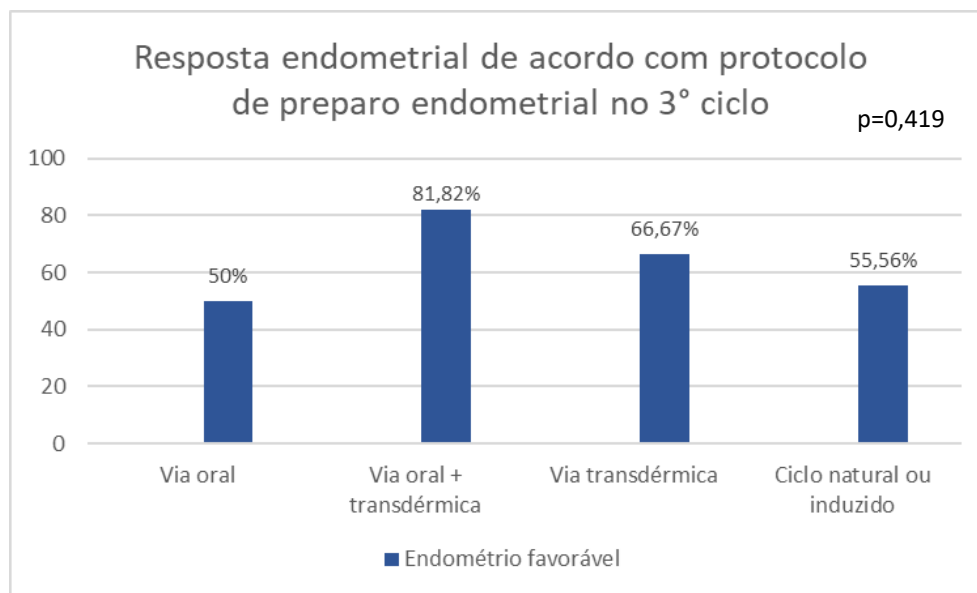


Figura 9 - Resposta endometrial de acordo com protocolo no 3º ciclo

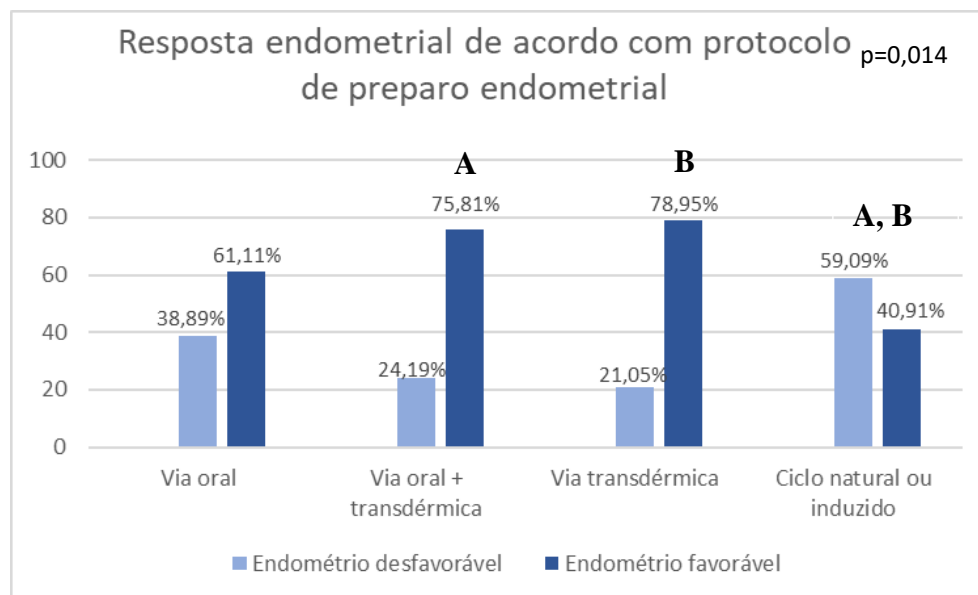


Observamos que no segundo ciclo de preparo endometrial, os protocolos que incluíam a via transdérmica foram mais eficientes na obtenção de endométrio favorável ($p=0,0022$). Enquanto que no terceiro ciclo não houve diferença significativa no padrão de resposta endometrial entre os diferentes protocolos ($p=0,419$).

6.1.5 Resposta endometrial de acordo com o protocolo de preparo endometrial, independente do ciclo

Também analisamos a resposta aos protocolos independente do ciclo em que foi utilizado, bem como em quantas pacientes foi possível realizar a transferência e qual foi o resultado destas transferências em termos de sucesso de gestação química (β -hCG positivo).

Figura 10 - Resposta endometrial de acordo com protocolo, independente do ciclo



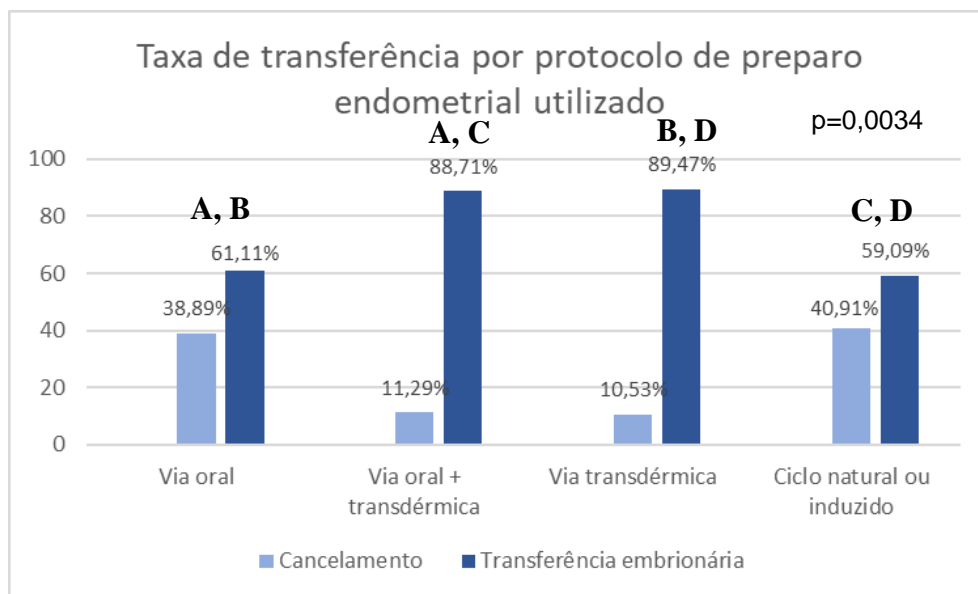
Legenda (A): via oral + transdérmica x ciclo natural ou induzido; ($p=0,0029$)
 (B): via transdérmica x ciclo natural ou induzido ($p=0,0137$)

Não houve superioridade entre os protocolos que incluíram o estradiol transdérmico, isoladamente ou em associação, e a via oral em termos de taxa de endométrio favorável, sendo 78,95, 75,81 e 61,1%, respectivamente ($p>0,05$). Entretanto, o ciclo natural (40,91%) foi menos eficiente que os transdérmicos, isolado ($p=0,0137$) ou associado ao oral ($p=0,0029$), sem diferença com relação ao oral sozinho ($p>0,05$) (Figura 10).

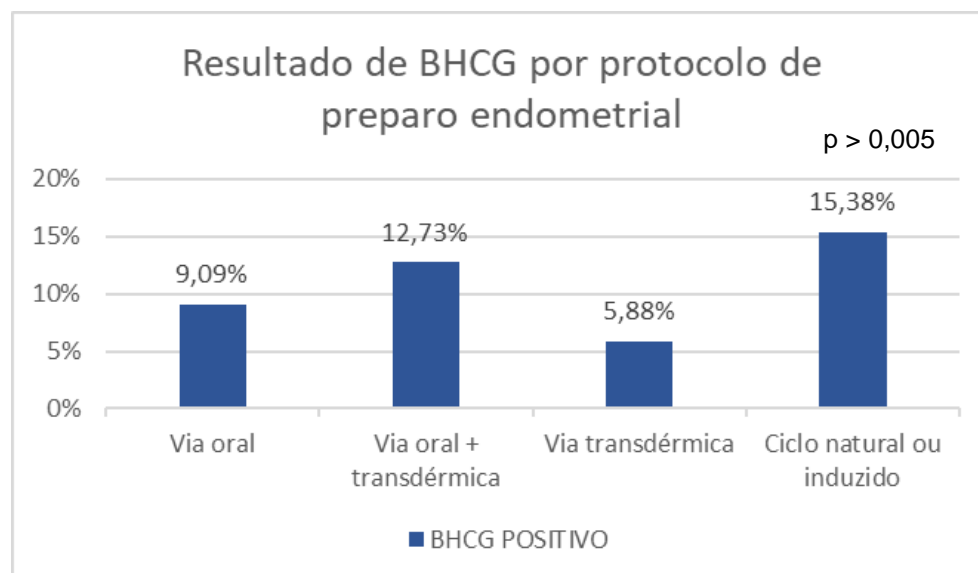
Ao analisar apenas as paciente que realizaram o primeiro ciclo de preparo endometrial com valerato de estradiol ($n=49$), os resultados foram semelhantes.

Houve mais transferências nos ciclos de preparo com uso de estradiol transdérmico, associado ao oral ou não, o que acompanha a melhor taxa de endométrio favorável nestes protocolos (Figura 11).

Figura 11 - Taxa de transferência por protocolo de preparo endometrial



Legenda: A) via oral x via oral + transdérmica ($p=0,0067$); B) via oral x via transdérmica ($p=0,0444$); C) via oral + transdérmica x natural ou induzido ($p=0,0024$); D) via transdérmica x natural ou induzido ($p=0,0286$).

Figura 12 - Resultado β -HCG por protocolo

Embora o número de transferências tenha sido maior nos protocolos que usaram a via transdérmica (isolada ou associada a via oral), considera-se que as condições adotadas para transferência foram similares entre os grupos. Não houve diferença na taxa de gestação química entre os grupos (β -hCG positivo), embora a taxa tenha sido baixa

quando comparada ao esperado para a literatura e a taxa histórica de gestação do serviço para transferências nas mesmas condições.

6.2 DESFECHOS REPRODUTIVOS ENTRE ENDOMÉTRIO FINO REFRAATÁRIO X ENDOMÉTRIO FINO RESPONSIVO X GRUPO CONTROLE

Para comparação das pacientes, foi realizado pareamento das pacientes do grupo estudado (n=64) com pacientes do grupo controle (endométrio maior ou igual a 7mm no primeiro ciclo de preparo) (n=64), na proporção de 1:1.

As pacientes foram divididas entre grupo refratário (mais de 3 ciclos de endométrio fino), grupo responsivo (até 3 ciclos de preparo com endométrio fino, com resposta subsequente) e grupo controle.

Não foi encontrado diferença em relação à idade das pacientes, paridade, presença de patologias e causas de infertilidade, conforme tabelas abaixo ($p>0,05$). Um dado que chamou atenção foi a média alta de idade entre as pacientes. No grupo controle, 63% das pacientes apresentavam 35 anos ou mais e 9% acima de 40 anos.

Tabela 1 - Média de idade entre os grupos ($p>0,005$)

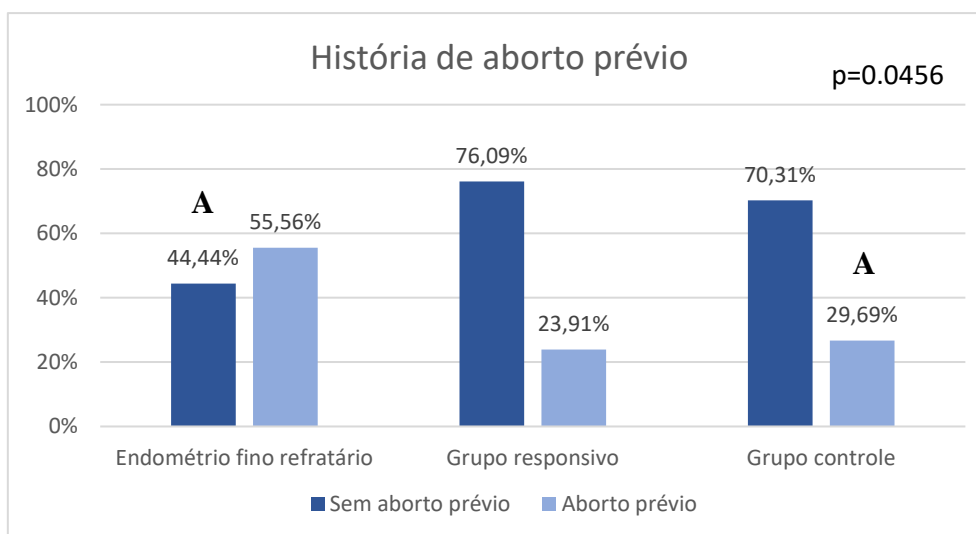
	Idade – média (anos)
Endométrio fino refratário	35,15 (DP 2,83)
Endométrio responsivo	35,48 (DP 3,52)
Grupo controle	35,44 (DP 3,26)

Tabela 2 : Causas de infertilidade entre os grupos (p>0,005)

	Endométrio fino refratário	Endométrio responsivo	Grupo controle
Fator ovulatório	11,1%	28,3%	15,6%
Fator útero-tubário	27,8%	15,2%	18,8%
Endometriose	0	13%	12,5
Fator masculino	22,2%	26,1%	39,1%
Outras causas	38,9%	17,4%	14,1%

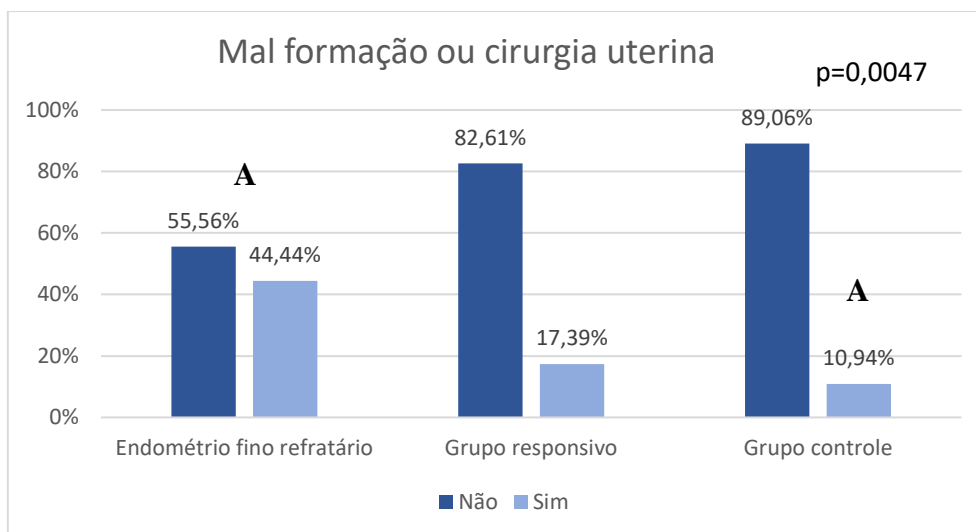
Ao avaliar a história prévia de aborto, foi observada uma taxa consideravelmente maior no grupo com endométrio fino refratário (figura 13). A presença de malformações ou cirurgias uterinas também foi maior no grupo refratário, o que pode estar relacionada inclusive a etiologia do endométrio fino (figura 14).

Figura 13- Taxa de aborto



Legenda: A) endométrio fino refratário x controle (p=0,0426)

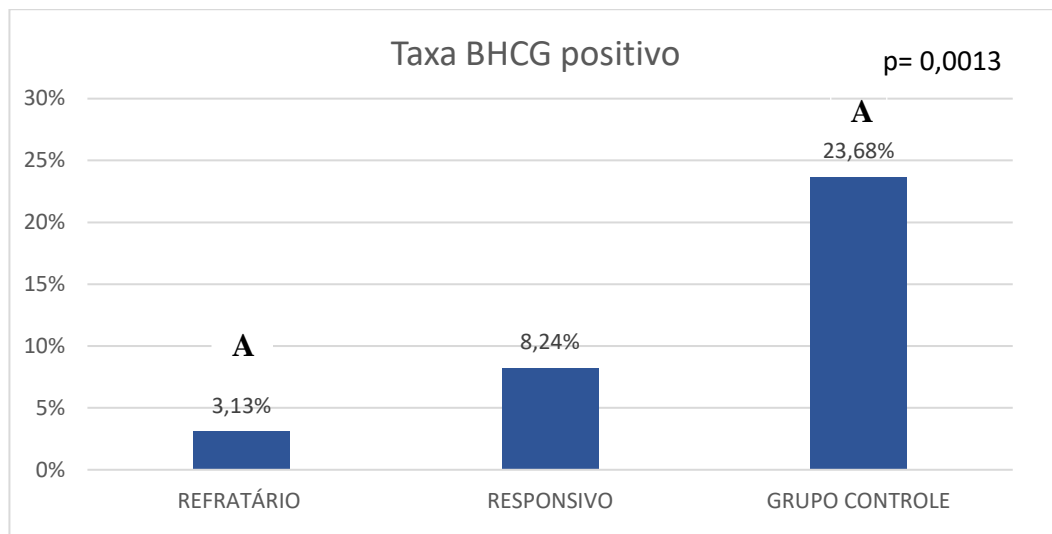
Figura 14 - História de má formação ou cirurgia uterina prévia



Legenda: A) endométrio fino refratário x controle (p= 0,0012)

Entre os grupos endométrio fino (n=64) e controle (n=64), foram realizadas número semelhante de transferências de embriões congelados, excluindo os ciclos cancelados (116 transferências no grupo endométrio fino x 115 transferências no grupo controle). No grupo endométrio fino refratário (n=18), 10 pacientes transferiram com endométrio entre 6-7mm, 5 pacientes transferiram com endométrio abaixo de 6mm e 3 pacientes não chegaram a realizar transferência.

Quando realizada a comparação entre pacientes refratárias x responsivas (ao menos um ciclo com endométrio favorável até o terceiro ciclo de preparo endometrial) x grupo controle, podemos observar uma diferença significativa na taxa de gestação química por ciclo (β -hCG positivo), conforme o gráfico abaixo.

Figura 15- β -hCG positivo nos grupos: refratário x responsivo x controle

Legenda: A) Taxa β -hCG positivo grupo refratário x controle (p=0,0090)

7. DISCUSSÃO

Neste estudo ficou evidente o impacto do endométrio fino nos desfechos reprodutivos dos ciclos de fertilização *in vitro*. Também ficou claro que a capacidade de resposta endometrial à atividade hormonal, avaliado pela espessura endometrial, possui correlação com prognóstico de gestação em ciclos de Reprodução Assistida (RA). Estes dados reforçam estudos anteriores que destacam como relevante a avaliação do endométrio durante a monitorização de ciclos de RA.

De acordo com Yuan et al, o endométrio fino possui impacto direto na implantação embrionária, reduzindo as taxas de gravidez. Em estudo retrospectivo com 8690 mulheres, foi demonstrado diferença significativa nas taxas de gravidez clínica e aborto ao comparar mulheres com diferentes espessuras endometriais, sendo elas menor que 8mm, 8 a 11mm, 11 a 15mm, maior que 15mm. [20]

Outro estudo realizado por Liu KE et al, relatou redução das taxas de gravidez clínica e de nascido vivo e aumento da taxa de aborto, diretamente correlacionados com a espessura endometrial em milímetros; para cada milímetro abaixo de 8mm as taxas de nascido vivo foram reduzindo de 33,7% (>8mm) para 25,5% (7-7,9mm), 24,6% (6-6,9mm) e 18,1% (5-5,9mm). [21]

Também destacando a relevância da espessura endometrial no prognóstico de gestação, uma metanálise publicada em 2014 com 22 estudos mostrou redução na taxa de gravidez clínica e nascido vivo, quando comparado espessura endometrial < 7mm e > 7mm (23,3% x 48,1% respectivamente, com odds ratio 0,42). [22]

Apesar de muito se comentar sobre o impacto do endométrio fino nos ciclos de reprodução assistida, não existe um consenso de qual o valor de corte mínimo da espessura ideal. Reporta-se menores taxas de gestação com endométrio abaixo de 6-7mm. Alguns estudos sugerem espessura abaixo de 7mm [11,12], outros 6mm [14] ou ainda 8mm [13].

No atual trabalho, consideramos 7mm como o cut off para inclusão das pacientes, ou seja, foram incluídas todas as pacientes que apresentaram espessura endometrial abaixo de 7mm no primeiro ciclo de preparo endometrial. Porém ao realizar análise dos casos, foi identificado que após preparo endometrial malsucedido e cancelado em sucessivas tentativas, as pacientes que atingiram endométrio de 6mm foram consideradas para transferência, com base em alguns estudos que apresentam taxas de sucesso semelhantes após transferência embrionária com espessura endometrial entre 6-

7mm e impossibilidade de se obter resposta após variações de protocolos de preparo. Por esse motivo, para realizar as análises, dividimos a resposta endometrial em favorável e desfavorável, sendo considerado favorável espessura acima de 6mm associado a característica trilaminar.

A definição de endométrio fino refratário também não é completamente estabelecida na literatura, pois ainda não foi determinado quantos ciclos com espessura endometrial abaixo de 6-7mm seriam necessários para o diagnóstico. Algumas pacientes podem apresentar endométrio fino em um ciclo isolado de preparo para transferência de embrião congelado, e após responder normalmente em preparos subsequentes. Isso foi identificado em nosso trabalho, em que 43,75% das pacientes responderam no segundo ciclo subsequente, ou seja apresentaram apenas um ciclo isolado de endométrio fino, sendo consideradas responsivas, após o aumento da dose do estrogênio ou mudança da via de administração. Um outro grupo de pacientes responderam no terceiro ciclo (28,13%) e foram também consideradas responsivas. Apenas 28,13% foram consideradas refratárias, pois não responderam nos primeiros três ciclos de preparo endometrial.

Portanto a prevalência global de endométrio fino refratário em nosso estudo foi de 3,3%, compatível com a literatura que descreve prevalências entre 1,5-5%. Como esperado, a incidência é maior quanto maior o valor de corte da espessura endometrial. Al-Ghamdi et al demonstraram aumento na incidência de endométrio fino de 1,5% para 9,1% quando o valor de corte aumentou de 7mm para 8mm. [16,17, 23]

Em relação às características clínicas, um dado que chamou atenção foi a média alta de idade (35,4 anos), o que pode estar relacionado com o perfil de pacientes atendidas no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Como sabemos, a idade avançada da mulher reduz consideravelmente as taxas de sucesso, com impacto na qualidade oocitária e embrionária. A idade certamente teve impacto nas taxas de gestação, inclusive no grupo controle foi mais baixa (23,68%) do que habitualmente se observa nas estatísticas das diferentes sociedades de medicina reprodutiva (cerca de 30-35%) e mesmo em relação à média histórica do serviço. Além disso, foi observado um histórico de abortamento prévio de 33% dentre as pacientes com endométrio fino, valor mais alto do que encontrado na população em geral, que é de cerca de 15-17% [38], o que pode estar relacionado ao fator endometrial em si, ou ao maior risco de aneuploidia nos embriões advindos de oócitos de pacientes com mais de 35 anos. [39]

O primeiro ciclo de preparo endometrial de cada paciente foi o critério de inclusão

para o estudo, sendo que 76,56% (49/64) utilizou valerato de estradiol via oral, por ser considerado o protocolo padrão do serviço, com preço acessível e posologia cômoda. Diferentes estudos, retrospectivos e prospectivos, não demonstraram diferenças significativas nas taxas de gravidez clínica, nascido vivo e de aborto, quando comparado protocolo artificial e natural para preparo endometrial. [19, 24, 25]. Em uma metanálise publicada em 2017 pela Cochrane, que incluiu 18 RCTs, com total de 3815 mulheres, não foi encontrada evidência suficiente para comprovar superioridade entre os protocolos de preparo endometrial. [26] O mesmo foi descrito por Yarali et al, 2019, uma revisão sistemática em que foram incluídos 33 estudos, que confirmou taxas de gestação semelhantes entre os esquemas testados. No ciclo artificial, também não foi demonstrado diferença entre as vias de administração do estrogênio (oral, transdérmico ou intramuscular). [27]

Embora a literatura não sugira a superioridade de nenhum protocolo específico, na prática clínica pode haver diferenças de respostas individuais, o que pode estar relacionado à sensibilidade dos receptores endometriais de estrogênio de maneira distante para as diferentes moléculas. Além disso, ocorre metabolização distinta do estrogênio, a depender da via administrada. Por isso, é comum a mudança do tipo de molécula de estrogênio ou de via de administração quando ocorre uma falha de resposta com o protocolo de preparo originalmente proposto. A administração do estrogênio via vaginal tem sido proposta por alguns autores, esta via parece atingir maior nível de estradiol sérico, com maior concentração uterina, o que poderia aumentar a espessura endometrial, porém não está confirmado que isso possa aumentar a taxa de implantação. [28,29] Em nosso estudo, não foi possível comparar protocolos com uso de estrogênio via vaginal pois este não é um esquema posológico padronizado no serviço.

Comparando os protocolos de preparo endometrial do presente estudo, foi demonstrado que os protocolos que utilizaram a via transdérmica isolada ou mista (oral + transdérmica) foram superiores em induzir endométrio favorável e propiciar a transferência embrionária. Porém, não houve diferença na taxa de gestação química (β -hCG positivo), ou seja, sem diferença no desfecho final. Porém quando os protocolos foram comparados separadamente entre si, observou-se superioridade estatística apenas entre a via transdérmica (isolada ou mista) em relação ao ciclo natural, sendo que esse último apresentou maior taxa de endométrio desfavorável. Entretanto, é necessário salientar o reduzido número de pacientes que utilizaram ciclo natural, o que pode ter contribuído para esse achado. Outro aspecto encontrado nos dados deste estudo e que

contradiz a inferioridade do ciclo natural é que 73,44% das pacientes incluídas atingiram espessura endometrial adequada durante o ciclo de estimulação ovariana (acima de 7mm no dia do trigger), o que demonstra o possível benefício do estrogênio endógeno na espessura endometrial.

Em uma subanálise dos dados, aonde incluímos apenas as pacientes que realizaram o primeiro preparo endometrial com valerato de estradiol, os resultados foram semelhantes. Isso poderia representar um direcionamento no momento de escolher um segundo preparo endometrial após ciclo cancelado por endométrio fino. Ou seja, naquela paciente que realizou o primeiro preparo com valerato de estradiol oral sem resposta adequada, poderia ser proposto um segundo ciclo com a via transdérmica isolada ou mista (transdérmica + oral). Porém mais estudos são necessários para comprovar o benefício destas orientações.

Na segunda etapa desse trabalho foram incluídas pacientes controle, ou seja, mulheres que responderam de maneira satisfatória ao preparo endometrial (maior ou igual a 7mm) já na primeira tentativa, com objetivo de confirmar o comprometimento dos desfechos reprodutivos das mulheres com endométrio fino em relação aos resultados encontrados em mulheres da mesma população, porém sem a mesma condição clínica. As pacientes foram divididas em 3 grupos: endométrio fino refratário, endométrio fino responsivo e grupo controle. Não foi encontrado diferença em relação à idade das pacientes, IMC, paridade, presença de patologias e causas de infertilidade, confirmando a adequada alocação das pacientes do grupo controle.

Foi observado maior taxa de cirurgias uterinas ou malformações Mullerianas no histórico das pacientes com endométrio fino refratário, o que inclusive pode estar relacionada com a etiologia do problema. Apesar da maioria dos casos serem idiopáticos, potenciais causas de endométrio fino incluem: síndrome de Asherman, história de cirurgia uterina, infecção ou radiação pélvica, uso de citrato de clomifeno e malformações Mullerianas.

Além disso, foi constatado maior taxa de aborto prévio e menor taxa de gestação prévia nas pacientes com endométrio fino refratário. As pacientes com endométrio fino refratário tiveram uma taxa de gravidez bioquímica (β -hCG positivo) por ciclo de 3,13%, muito inferior ao grupo controle de 23,68%. Esses dados sugerem que essa condição de endométrio fino refratário, que usa a espessura endometrial para o diagnóstico, apenas indica uma disfunção no desenvolvimento endometrial, provalmente em nível molecular, que compromete a receptividade deste endométrio para a implantação do

embrião. Os mecanismos pelos quais o endométrio fino não responsivo a estrogênios poderia comprometer a chance de implantação não estão ainda esclarecidos.

A receptividade endometrial e implantação embrionária depende de diversos fatores, como ação estrogênio-progestativa, liberação de quimiocinas, fatores de crescimento, prostaglandinas, moléculas de sinalização, proteinases e moduladores imunológicos. Essas moléculas também são essenciais para angiogênese.

A angiogênese endometrial é muito importante para regeneração tecidual após a menstruação, sendo que a vascularização endometrial possui impacto na implantação embrionária. O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), produzido principalmente pelas células epiteliais, é um dos principais marcadores da angiogênese, com atuação na regeneração endometrial, aumento da espessura e receptividade endometrial. [30] Um estudo conduzido por Miwa et al com 96 mulheres, divididas em 2 grupos (endométrio fino x endométrio normal) teve como objetivo comparar fluxo sanguíneo uterino, crescimento glandular epitelial e fatores de angiogênese (principalmente VEGF). As artérias uterinas e radiais foram avaliadas através do índice de resistência (impedância), com Doppler colorido pelo ultrassom transvaginal. Foi realizado biópsia endometrial, para avaliar marcadores de progesterona e estrogênio, VEGF (análise por Western Blot), além de estudar o crescimento epitelial glandular por área. O índice de resistência das artérias uterinas e radiais foi significativamente maior no grupo endométrio fino. A área de células epiteliais glandulares e número de vasos encontrados foi menor no grupo de estudo, assim como a reduzida expressão de VEGF. Os resultados mostram que pacientes com endométrio fino refratário possuem alterações fisiopatológicas que vão além da espessura endometrial, com redução do crescimento glandular, vascularização reduzida e menor expressão de marcadores de angiogênese, fatores que impactam diretamente na receptividade endometrial. [31]

Ainda relacionada a fisiopatologia da doença, muitos estudos indicam que a gestação concebida após transferência embrionária com endométrio fino possui maior risco de perda gestacional, desordens hipertensivas, restrição do crescimento intrauterino, parto pré termo e placenta prévia. A redução da expressão do VEGF descrita acima pode justificar a redução da vascularização, o que impacta na placentação e nos desfechos reprodutivos. [10]

Neste estudo, a maioria das pacientes com endométrio fino refratário (10/18), após tentativas de preparo mal sucedidas e cancelamentos, acabaram realizando transferência embrionária com endométrio considerado favorável (entre 6-7mm). E mesmo assim, as

taxas de gestação química foram ínfimas, o que reforça o componente endometrial envolvido, que vai além da espessura. Essas pacientes tiveram resposta após inúmeras tentativas, porém essa resposta não parece ser completa, a ponto de nivelar com o grupo controle. Isso nos leva ao questionamento se em pacientes refratárias deve-se ou não realizar a transferência independente das condições endometriais, ou se seria interessante buscar terapias alternativas e adjuvantes, ainda que com pouco embasamento científico ou ainda se em alguns casos poderia ser aventada até mesmo a indicação do útero de substituição, quando nenhuma alternativa conhecida tenha sido efetiva.

Inúmeras terapias adjuvantes tem sido propostas para melhorar as taxas de implantação e gestação neste grupo de mulheres, porém a maioria ainda sem evidência clínica de benefício.

O plasma rico em plaquetas (PRP), um concentrado autólogo, tem sido usado em diversas áreas da medicina regenerativa. Extrapolando para reprodução humana, entende-se que as citocinas, fatores de crescimento e interleucinas poderiam promover uma reação com regeneração tecidual e aumento da espessura endometrial. Uma metanálise incluindo 8 estudos demonstrou aumento da espessura endometrial e da taxa de gravidez com uso de PRP intrauterino. Outra metanálise com 10 RCTs (total de 540 mulheres), mostrou aumento da taxa de gravidez bioquímica, gravidez clínica e taxa de nascido vivo. Porém outros estudos bem delineados são necessários para comprovar a real eficácia na implantação embrionária.[33]

O fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF), que estimula o desenvolvimento de neutrófilos, também já foi estudado para aumento da espessura e receptividade endometrial, porém com qualidade de evidência ainda baixa. Em 2020, uma revisão publicada pela Cochrane (com inclusão de 13 trials) não encontrou evidência a favor do uso de G-CSF, por não melhorar as taxas de sucesso. [34,35]

O sildenafil, medicamento vasodilatador utilizado para disfunção erétil, teoricamente poderia ser benéfico em aumentar o fluxo sanguíneo uterino, com possível impacto na regeneração e espessura endometrial. Uma revisão da Cochrane em 2018, mostrou aumento da espessura endometrial com uso da medicação. Porém outros estudos não confirmaram melhora nas taxas de gestação, além de questionarem a segurança da medicação nos ciclos. [36]

As células tronco são células indiferenciadas, com capacidade de auto renovação e diferenciação em diversos tipos celulares, com papel regenerativo em tecidos que sofreram lesão ou injúria. Diversos estudos experimentais vêm demonstrando potencial

ação terapêutica de células tronco no endométrio, por exemplo em situações de endométrio fino, síndrome de Asherman e endometriose. Em estudo realizado por Zhao et al, com indução de endométrio fino em modelo animal, as células tronco mesenquimais foram injetadas diretamente no útero dos animais, produzindo aumento da espessura endometrial e da expressão de marcadores como vimentina, integrina $\alpha\gamma\beta3$, fator inibidor de leucemia e fator de crescimento de fibroblasto, todas moléculas ligadas ao processo de implantação. [37]

Tais terapias adjuvantes ainda necessitam de mais estudos de boa qualidade, sendo que até o momento não existem tratamentos bem estabelecidos para endométrio fino refratário. Por isso, essa entidade permanece sendo desafiadora na medicina reprodutiva, com grande impacto nas taxas de sucesso.

Esse estudo apresenta algumas limitações de maneira que os resultados devem ser olhados com cautela. Por tratar-se de uma amostra de conveniência foi incluído um número reduzido de mulheres no estudo. Apesar do número inicial total satisfatório (550), a entidade endométrio fino possui baixa prevalência, por isso apenas 64 pacientes foram incluídas nas análises específicas. Tivemos também um número reduzido de pacientes que utilizaram ciclo natural, o que prejudicou a análise deste protocolo em específico.

Além disso, por se tratar de estudo retrospectivo, o desfecho reprodutivo confiável disponível foi β -hCG positivo (gestação química), não sendo possível avaliar gravidez clínica e taxa de bebê em casa. Essa dificuldade ocorreu devido a muitos prontuários com informações incompletas.

Foi observado uma menor taxa de gravidez química no grupo controle do que o esperado, fato provavelmente relacionado a média alta de idade das pacientes. Porém não foi levado em consideração outros fatores que poderiam afetar a taxa de gravidez, como morfologia embrionária e número de embriões transferidos.

Apesar dessas limitações, este estudo apresenta a prevalência da condição endométrio fino refratário específica desta população, bem como confirma a relevância do parâmetro espessura como marcador prognóstico de implantação, embora este não ser o único critério a ser levado em consideração. Mais estudos prospectivos são necessários para confirmar a necessidade de variar diferentes protocolos de preparo diante da ocorrência de falha na resposta endometrial.

8. CONCLUSÕES

- A prevalência de endométrio fino em ao menos um ciclo de preparo endometrial para TEC na população estudada foi de 11,63%. Enquanto a prevalência de endométrio fino refratário (mais de 3 ciclos de preparo endometrial sem resposta) foi de 3,3%.
- A taxa de cancelamento de ciclo de transferência foi 75% no grupo de pacientes com endométrio fino no primeiro preparo endometrial.
- Os protocolos que utilizaram a via transdérmica (associado a via oral ou isolado) foram mais eficientes em induzir endométrio favorável após um primeiro ciclo malsucedido com estrogênio oral e, portanto, em propiciar a transferência embrionária. Porém foi encontrada diferença estatística apenas quando comparado com ciclo natural.
- Pacientes com endométrio fino refratário, caracterizado por pelo menos três tentativas malsucedidas de preparo endometrial, têm taxas de gestação muito inferiores em relação a mulheres sem esta condição em ciclos de transferência de embriões criopreservados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 Lebovitz O, Orvieto R. Treating patients with “thin” endometrium – an ongoing challenge. *Gynecological Endocrinology*, v. 30, n.6, p. 409–14, 2014.
- 2 Gargett C.E, Nguyen H.P, Ye L. Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells. *Rev Endocr Metab Disord*. v. 13, n. 4, p. 235-51, 2012.
- 3 Casper R.F, Yanushpolsky E.H. Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles: window of implantation and progesterone support, *Fert.Strel*. v. 105, n.4, p. 867-72, 2016.
- 4 Lea R.G, Sandra O. Immunoendocrine aspects of endometrial function and implantation. *Reproduction*, v. 134, n.3, p. 389-404, 2007.
- 5 Hang S. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med*, v. 34, n.5 , p. 939–80, 2013.
- 6 Zhao J, Zhang Q, Wang Y, et al. Endometrial pattern, thickness and growth in predicting pregnancy outcome following 3319 IVF cycle. *Reprod Biomed Online* v. 29, n. 3, p.291–298, 2014.
- 7 Zenclussen A.C, Hämmerling G.J. Cellular Regulation of the Uterine Microenvironment That Enables Embryo Implantation. *Front Immunol*. v.6n. 321. 2015.
- 8 Persadie, R.J. Ultrasonographic assessment of endometrial thickness: a review. *J. Obstet. Gynaecol. Canv*. 24: p. 131–136, 2002.
- 9 Delisle, M.F., Villeneuve, M., Boulvain, M. Measurement of endometrial thickness with transvaginal ultrasonography: is it reproducible? *J. Ultrasound Med.*, v.17, p. 481–484, 1998.
- 10 Jacobs E.A, et al. Endometrial thickness: How thin is too thin? *Fert.Steril.*, v. 118, n.2, p. 249-259, 2022.
- 11 Cavalcante M.B, et al. Granulocyte colony-stimulating factor and reproductive medicine: A review. *Iran J Reprod Med.*, v.13, p. 195-202, 2015.
- 12 Mahajan N, Sharma S. The endometrium in assisted reproductive technology: How thin is thin? *J Hum Reprod Sci.*, v. 9, n. 1, p.3-8., 2016.
- 13 Gingold J.A, et al. Endometrial pattern, but not endometrial thickness, affects implantation rates in euploid embryo transfers. *Fertil Steril.*, v.104, n.3, p. 620-8, 2015.
- 14 Shapiro H, Cowell C, Casper R.F. The use of vaginal ultrasound for monitoring endometrial preparation in a donor oocyte program. *Fertil Steril.*, v. 59, n. 5, p.1055-8, 1993.
- 15 Gao G., et al. Endometrial thickness with in-vitro fertilization: a meta-analysis. *Reproductive Bio Medicine On.*, v. 40, n. 1, p. 124-33, 2020.
- 16 Sher G., et al. Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing in-vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Hum Reprod*, v. 6, n.2, p.232-7, 1991.

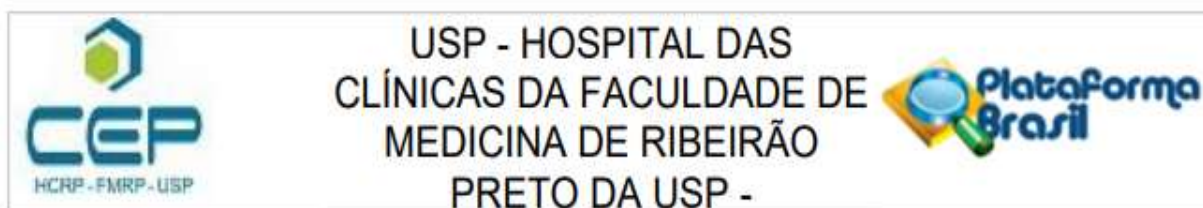
- 17 Kasius A., et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.*, v. 20, n. 4, p. 530-41, 2014.
- 18 Garcia-Velasco, J.A., et al. Strategies to manage refractory endometrium: state of the art in 2016. *Reprod. Biomed. Online*, v.32, n. 5, p. 474–489, 2016.
- 19 Liu K. E, Hartman M, Hartman A. Management of thin endometrium in assisted reproduction: a clinical practice guideline from the Canadian Fertility and Andrology Society. *Reprod Biomed Online*, n. 39,v. 1, p. 49–62, 2019.
- 20 Yuan X., et al. Endometrial thickness as a predictor of pregnancy outcomes in 10787 fresh IVF-ICSI cycles. *Reprod Biomed Online* v. 33, n. 2, p. 197–205, 2016.
- 21 Liu K.E., et al. The impact of a thin endometrial lining on fresh and frozen-thaw IVF outcomes: an analysis of over 40,000 embryo transfers. *Hum Reprod.*, v. 33, n. 10, p. 1883–8, 2018.
- 22Kasius A., et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis, *Human Reprod. Update.*, v.20, n.4, p. 530-4, 2014.
- 23Al-Ghamdi A.,et al.The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod. Biol Endocrinol.*, v. 2, p. 6-37, 2008.
- 24 Groenewoud E.R., et al. A randomized controlled, non-inferiority trial of modified natural versus artificial cycle for cryo-thawed embryo transfer. *Hum Reprod.*, v. 31, n. 07, p. 1483–92, 2016.
- 25 Alur-Gupta S., et al. Impact of method of endometrial preparation for frozen blastocyst transfer on pregnancy outcome: a retrospective cohort study. *Fertil Steril*, v. 110,n. 4, p. 680-686, 2018.
- 26 Ghobara T, Gelbaya T.A, Ayeleke R.O. Cycleregimens for frozen-thawed embryo transfer,v. 7, n. 7, 2017.
- 27 Yarali H. et al. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.*, v. 33, n.10, p. 1287–304, 2016.
- 28 Tourgeman D.E, Slater C.C, Stanczyk F.Z, Paulson R.J. Endocrine and clinical effects of micronized estradiol administered vaginally or orally. *Fertil Steril*, v. 75, n.1, p200–2, 2001.
- 29 Liao X, Li Z, Dong X, Zhang H. Comparison between oral and vaginal estrogen usage in inadequate endometrial patients for frozen-thawed blastocysts transfer. *Int J Clin Exp Pathol*, v. 7, n.10, p. 6992–7, 2014.
- 30 Tabibnejad N, Tabatabaie A.A. The thin endometrium in assisted reproductive technology: An ongoing challenge *Maryam Eftekhari*, v. 23, n. 1, p. 1-7, 2018.
- 31 Miwa I. et al. Pathophysiologic features of “thin” endometrium. *Fert Steril.*, v. 91, n. 4, p. 998-1004, 2009.
- 32 Mouhayar, Y., Franasiak, J.M., Sharara, F.I. Obstetrical complications of thin endometrium in assisted reproductive technologies: a systematic review. *J Assist Reprod Genet* v. 36, n. 4p. 607–611, 2019.

- 33 Anitua E. et al. Efficacy of Rich Plasma in Women with a History of Embryo Transfer Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis with Trial Sequential Analysis. *Bioengineering*, v. 10, n. 3, p. 303, 2023.
- 34 Sarvi F. et al. Effect of increased endometrial thickness and implantation rate by granulocyte colony-stimulating factor on unresponsive thin endometrium in fresh in vitro fertilization cycles: a randomized clinical trial. *Obstet Gynecol Int* 2017
- 35 Kamath M.S, Kirubakaran R, Sunkara S. K. Granulocyte-colony stimulating factor administration for subfertile women undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*, v. 1, n. 1, 2020
- 36 Gutarra-Vilchez R.B. et al. Vasodilators for women undergoing fertility treatment. *Cochrane Database. Syst Rev*. v. 10 ,2018.
- 37 Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Uterine Infusion With Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Improves Endometrium Thickness in a Rat Model of Thin Endometrium. *Reprod. Sci.*v. 22, n. 2, p. 181–188, 2015.
- 38 Zegers-Hochschild F. et al. Assisted reproductive technologies in Latin America: the Latin American Registry, 2019. *JBRA Assisted Reprod.*, v. 26, n. 4, p. 637-658, 2022.
- 39 Demko Z, P., et al. Effects of maternal age aneuploidy rates in a large cohort of embryos analyzed with 24-chromosome single-nucleotide polymorphism-based preimplantation genetic screening. *Fertil Steril*, v.105, n. 5, p. 1307-1313, 2016.
- 40 Norwitz E. R et al. Implantation nad the survival of early pregnancy. *N Engl J Med* v. 345, n. 19, p. 1400-8, 2001.

*De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)

* De acordo com o sistema de chamada numérico

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Endométrio fino refratário no serviço de Reprodução Assistida do HCRP-FMRP: características clínicas, protocolos de tratamento e desfechos reprodutivos.

Pesquisador: Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60995122.9.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.594.522

ANEXO B - Termo dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO



Ribeirão Preto, 31 de maio de 2022.

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA DE APLICAÇÃO DE TERMO DE CONSENTIMENTO
LIVRE E ESCLARECIDO


Solicito dispensa de aplicação de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o projeto intitulado; *"Endométrio fino refratário no serviço de Reprodução Assistida do HCRP-FMRP: características clínicas, protocolos de tratamento e desfechos reprodutivos"*, a ser desenvolvido no âmbito do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia.

Trata-se de projeto de levantamento de dados de prontuário e registros do laboratório de Reprodução Assistida do HCRP-FMRP, de pacientes submetidas a procedimentos de Reprodução Assistida no período de 2017 a 2021. Muitas destas pacientes já concluíram seus tratamentos e não se encontram mais em acompanhamento neste serviço e ainda, muitas destas pacientes são de fora de Ribeirão Preto, uma vez que para procedimentos de Reprodução de alta complexidade o nosso serviço é referência para toda a DRS-XIII.

Assumo, em nome do grupo de pesquisadores, o compromisso de manter o sigilo dos dados, os quais serão coletados pelas pesquisadoras Rafaela Dib Ishimura e Serena Rossato, que terão acesso aos prontuários.

Coloco-me à disposição para elucidar quaisquer dúvidas.

Atenciosamente,


Profª Dra Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva
Orientadora e responsável pelo projeto