

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DO DISPOSITIVO INTRA-UTERINO COM
LEVONORGESTREL E COM COBRE NA VASCULARIZAÇÃO
SUB-ENDOMETRIAL E NO FLUXO DAS ARTÉRIAS UTERINAS**

Autora: Mirela Foresti Jiménez

Orientador: João Sabino Lahorgue Cunha Filho

Tese de Doutorado

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**EFEITO DO DISPOSITIVO INTRA-UTERINO COM
LEVONORGESTREL E COM COBRE NA VASCULARIZAÇÃO
SUB-ENDOMETRIAL E NO FLUXO DAS ARTÉRIAS UTERINAS**

Autora: Mirela Foresti Jiménez

Orientador: João Sabino Lahorgue Cunha Filho

Tese apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de
Medicina, para obtenção de Título de Doutor em Medicina

Porto Alegre

2007

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. João Sabino Cunha Filho, idealizador do estudo, pelo incentivo, pela excelência profissional e entusiasmo que serviram de modelo,

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

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

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

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

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

Dra. Daniela Vanessa Vetori, pela dedicação,

Dra. Luciana Fabian Guedes da Luz, pelo apoio,

Aos colegas do Hospital Fêmeina e Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo apoio e oportunidades.

Ao meu pai, grande exemplo de vida e de dedicação profissional,

Ao Roberto, Pedro e Laura que eu amo muito.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	6
1. Resumo.....	7
2. Introdução.....	8
3. Revisão de literatura.....	11
3.1. Histórico.....	11
3.2. Efetividade.....	12
3.3. Mecanismo de ação.....	14
3.4. DIU: para-efeitos e taxa de continuidade.....	16
3.5. DIU e alterações endometriais.....	18
3.6. DIU e vascularização uterina.....	22
3.6.1. Dopplervelocimetria das artérias uterinas.....	24
3.6.2. <i>Power Doppler</i> do endométrio.....	27
4. Objetivos.....	30
5. Referências bibliográficas.....	32
6. Artigo 1: The effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system and the copper-intrauterine device (TCu 380A) on subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow	43
7. Artigo 2: Subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow in iud-induced side-effect (levonorgestrel-intrauterine system and copper-intrauterine device).....	63
8. Conclusões.....	79
9. Considerações finais.....	81
10. Perspectivas.....	82
11. Anexos.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS

DIU: dispositivo intra-uterino.

IR: índice de resistência.

IP: índice de pulsatilidade.

TSH: *thyroid-stimulating hormone*.

FSH: *follicle stimulating hormone*.

PI: *pulsatility index*.

RI: *resistance index*.

LNG-IUS: *levonorgestrel intrauterine system*.

IUD: *intrauterine device*.

NSAID: *non steroidal anti-inflammatory drugs*.

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

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

VEGF: *vascular endothelial growth factor* (fatores de crescimento endotelial).

VEGFR-1: *vascular endothelial growth fact receptor-1*.

VEGFR-3: *vascular endothelial growth fact receptor-3*.

VEGF-A: *vascular endothelial growth fact-A*.

VPF: *vascular permeability factor* (fator de permeabilidade vascular).

17 β -HSD2: enzima 17 β -hidroxiesteróide dehidrogenase tipo2.

UNK: *uterine natural killer*.

3-D: ecografia em três dimensões.

1. RESUMO

O objetivo avaliar o efeito do DIU com levonorgestrel e do DIU com cobre (TCu 380A) na vascularização sub-endometrial, usando *power* Doppler, e na vascularização uterina, usando índice de pulsatilidade (IP) e índice de resistência (IR) das artérias uterinas na fase lútea média, antes e três meses depois da inserção do DIU. Realizamos um ensaio clínico (quase-experimento).

Dividimos os nossos achados em dois artigos: o primeiro deles descreve as manifestações vasculares uterinas e endometriais decorrentes do uso dos dois tipos de DIU e o segundo artigo correlaciona às alterações vasculares aos principais parâmetros dos diferentes tipos de DIU.

No primeiro estudo incluímos 27 pacientes com DIU com levonorgestrel e 25 pacientes com DIU com cobre.

Não houve diferenças significativas na vascularização sub-endometrial entre os grupos ($P = 0,45$). As usuárias de DIU com levonorgestrel apresentaram aumento na diferença percentuais do IP e IR (antes e depois) ($P = 0,001$ e $P = 0,046$, respectivamente) e redução da espessura endometrial ($P < 0,001$). Usamos o modelo de regressão logística múltipla para avaliar o efeito de possíveis variáveis de confusão (idade e paridade): o DIU com levonorgestrel esteve independentemente associado com aumento no índice de pulsatilidade ($P = 0,014$).

No segundo artigo observamos que as pacientes que apresentaram parâmetros tiveram aumento na vascularização sub-endometrial evidenciado pelo *power* Doppler, mesmo controlando para o tipo de DIU, idade e paridade, usando modelo de regressão logística múltipla. O IP e IR, no entanto, não foram diferentes nas pacientes que apresentaram dismenorréia e/ou sangramento, mesmo controlando para o tipo de DIU.

2. INTRODUÇÃO

O dispositivo intra-uterino (DIU) é um método contraceptivo amplamente utilizado¹, no entanto, existe ainda pouco entendimento a respeito da ação exercida sobre o endométrio e vascularização uterina². Em estudo realizado no Brasil na cidade de Pelotas (RS), 64,6% das mulheres de 20 a 49 anos usavam algum tipo de método contraceptivo. Entre as usuárias de métodos contraceptivos, 55,4% usavam anticoncepcionais orais, 22,2% tinham realizado ligadura tubária, 10,5% eram usuárias de preservativos e 7,7% usavam DIU³.

O mecanismo do DIU com cobre baseia-se na reação de corpo estranho desencadeada pela ação do polietileno, do cobre e dos sais de cobre no endométrio⁴. A reação provocada pode modificar o fluxo menstrual. Cerca de 5 a 15% das usuárias de DIU com cobre relatam aumento no sangramento menstrual, com repercussões importantes em seus hábitos de vida, levando a retirada do DIU. O sangramento menstrual aumentado é a principal causa de descontinuidade do uso de DIU⁵.

O principal mecanismo de ação do DIU com levonorgestrel é baseado no efeito na morfologia e função endometrial, causado pela liberação contínua deste hormônio⁶ que aumenta a apoptose das glândulas com marcante atrofia endometrial⁷. O DIU com levonorgestrel também está associado a uma importante redução do fluxo menstrual e tem sido também usado como tratamento para sangramento vaginal^{8, 9}. No entanto, a queixa de distúrbios menstruais, como sangramento escasso e contínuo do tipo “spotting”, é comum nas usuárias de DIU com levonorgestrel (14 até 26%) e parece ser independente do sangramento antes do tratamento¹⁰, sendo responsável também por elevada taxa de descontinuidade^{11, 12}. O endométrio exposto a progesterona mostra também alterações importantes na vascularização que

parecem estar implicadas na gênese do sangramento irregular do DIU com levonorgestrel⁹.

A investigação da ação do DIU com cobre e com progesterona no útero pode ser útil para melhor compreensão do seu mecanismo de ação e da fisiologia das modificações no sangramento uterino associado ao DIU.

Alguns estudos mostraram que não houve modificação de fluxo sangüíneo das artérias uterinas em usuárias de DIU com cobre^{13, 14, 15}. No entanto, houve aumento de fluxo uterino em usuárias de DIU com cobre e que apresentaram dismenorréia ou sangramento anormal^{13, 16}. A vascularização sub-endometrial de pacientes que apresentaram para-efeitos importantes relacionados ao DIU com cobre (dismenorréia e sangramento vaginal) mostrou-se aumentada na avaliação com *power Doppler*¹⁴.

Os resultados com DIU com levonorgestrel, por outro lado, são mais contraditórios: alguns estudos mostraram redução de fluxo sangüíneo nas artérias uterinas após três meses de uso¹⁷, outros mostraram que não houve modificação no índice de pulsatilidade (IP) e índice de resistência (IR) das artérias uterinas após três meses de uso em usuárias de DIU¹⁸. Comparando o DIU com levonorgestrel com o DIU com cobre não houve diferença nos IP e IR entre os dois grupos, no entanto, o fluxo nas artérias espiraladas e a espessura endometrial foram significativamente reduzidos no grupo do DIU com levonorgestrel¹⁹. É provável que estes resultados contraditórios devam-se a falta de precisão na definição da fase lútea média na maioria dos estudos, pois usaram a estimativa baseada na data da última menstruação^{13, 15, 17, 20}.

O *power Doppler* tem sido usado em várias especialidades com importante potencial diagnóstico, pois permite detectar imagens de áreas com baixo fluxo, que

não são identificadas pela Dopplervelocimetria²¹. O estudo da vascularização sub-endometrial com *power Doppler* em usuárias de DIU com cobre não mostrou alteração de fluxo três meses depois da inserção. No entanto, nas pacientes que apresentaram para-efeitos induzidos pelo DIU (dismenorréia e/ou sangramento), houve aumento de fluxo sanguíneo, evidenciado pelo *power Doppler*¹⁴.

Considerando a magnitude das manifestações clínicas, seja aumento do fluxo menstrual no DIU com cobre, ou redução do fluxo menstrual e possibilidade de sangramento escasso contínuo, no DIU com levonorgestrel, é importante estudar a vascularização uterina e endometrial, já que alteração no fluxo vascular poderia estar envolvida na fisiopatologia destas modificações, que resultam em taxas elevadas de descontinuidade.

Propusemos, então, um estudo com identificação exata da data da ovulação pelo controle ecográfico diário do crescimento folicular, obtendo, assim, maior precisão na definição da fase lútea média, possibilitando identificar melhor as diferenças.

Avaliaremos o efeito do DIU com levonorgestrel e do DIU com cobre na vascularização das artérias uterinas através dos IR e IP e avaliaremos o fluxo da microvasculatura endometrial em usuárias de DIU com levonorgestrel comparando com os resultados obtidos nas usuárias de DIU com cobre. Analisaremos a vascularização sub-endometrial e das artérias uterinas nas pacientes que apresentarem para-efeitos induzidos pelos dois modelos de dispositivos intra-uterinos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. HISTÓRICO

Há mais de quatro décadas que os Dispositivos Intra-uterinos (DIU) são usados em todo o mundo. Os primeiros tipos modernos de DIU, a espiral de Margulies e a alça de Lippes, apareceram no início dos anos 60 e eram de Polietileno. Durante as décadas de 60 e 70, os pesquisadores desenvolveram o DIU de cobre, que aliou ao dispositivo de plástico o conteúdo de cobre, tornando-o altamente eficaz, com maior vida útil e menos efeitos colaterais. Os primeiros tipos de DIU de cobre (TCu 200 e Cu 7) tinham mesma taxa de prevenção de gestações, mas com menos sangramento e dismenorréia que os DIU de plástico. Com o objetivo de aumentar o tempo de uso foi desenvolvida uma nova geração de DIU com mais cobre, incluindo o TCu 380A, o TCu 220, o Nova T, o Multiload 375 e outros. Estes novos modelos duram mais tempo e são mais eficazes⁵.

O sangramento uterino é a principal causa de descontinuidade do uso de DIU⁵. Com o objetivo de reduzir sangramento vaginal e a cólica, relacionada ao DIU, em especial aos modelos com cobre, surgiram, na década de 70, os dispositivos liberadores de hormônio. Foi desenvolvido o Progestasert, que libera 65 microgramas de progesterona por dia, causando atrofia do endométrio, diminuindo a dor e o sangramento. Embora seu desenvolvimento tenha sido paralelo com os avanços do DIU de cobre, o Progestasert teve seu uso pouco difundido, devido a sua curta duração de ação, validado para um ano de uso²².

A progesterona natural foi trocada por um potente progestágeno, o levonorgestrel²³. O cobre do DIU Nova-T foi retirado e substituído pelo de Levonorgestrel, que libera diariamente 20 microgramas do hormônio, por um período de, pelo menos, cinco anos²⁴. O produto final foi desenvolvido por Leiras Oy e

comercializado na Finlândia, em 1990 e tem sido amplamente utilizado na Europa. A comercialização no Brasil iniciou a partir do ano 2001.

A atrofia endometrial e as alterações no muco cervical, promovidos pela ação progesterônica tornaram este tipo de DIU muito efetivo. Os níveis sistêmicos são menores que os obtidos pela administração oral ou de depósito, mas podem causar anovulação, entre outros efeitos sistêmicos^{24, 25, 26}.

3.2. EFETIVIDADE

O DIU é um método contraceptivo altamente efetivo e amplamente usado no mundo todo (mais de 150 milhões de mulheres estão usando DIU). Apresenta taxas de eficácia e efetividade semelhantes, pois seu uso não depende da adesão. Possui taxa global de falha de 1% a 3%, que é menor que a dos anticoncepcionais orais, que apresentam taxa de falha, nas condições habituais de uso, de mais de 3%². Existem diferenças na taxa de falha entre países industrializados e em desenvolvimento, sendo de 2% e 3,45%, respectivamente². A taxa de gestação diminui significativamente com a idade da usuária²⁷.

De 1979 a 1982, a Organização Mundial de Saúde²⁸ conduziu um ensaio clínico, randomizado e multicêntrico, em 24 centros, localizados em 14 países, para avaliar a eficácia dos seguintes modelos de DIU: TCU 220C, Multiload 250, Nova T e TCU 380A. Não houve diferença significativa na taxa de gestação em três anos, entre o TCU 220C (1,7%) e o Multiload 250 (2,8%). A taxa de gestação observada foi significativamente maior com o Nova T, quando comparado com o TCU 220C (6,6% e 4,4%, respectivamente) em cinco anos de uso. A taxa de gestações foi significativamente menor com o TCU 380A, quando comparado com o TCU 220C: 1,0% versus 3,4% em 3 anos, 1,4% versus 4,0% em 5 anos, 1,6% versus 4,9% em sete anos, respectivamente.

Dois modelos diferentes de DIU de cobre (TCu 375 e TCu 380A) foram testados em outro estudo randomizado e multicêntrico em 19 centros²⁹. Houve diferença significativa na taxa de gestação em três anos de observação, entre 1.832 mulheres com TCu 375 e 1.823 mulheres com TCu 380A, tendo o TCu 375 maior taxa cumulativa de gestações que o TCu 380A (2,9% versus 1,6%, respectivamente). O TCu 380A possui uma parte do cobre sob forma espiral, como os demais modelos de cobre, e outra cilíndrica, o que é responsável pelo maior tempo de duração de ação e efetividade.

Outro ensaio clínico randomizado foi conduzido em 24 países³⁰, para avaliar a eficácia do TCu 380A e do TCu 220C. Foram recrutadas 3.277 com TCu 220C e 1.396 mulheres com TCu 380A e seguidas por doze anos. No final de doze anos, foram avaliadas 17.098 mulheres-ano com o TCu 220C e 7.150 mulheres-ano com o TCu 380. A taxa cumulativa de gestação, após doze anos de seguimento foi de 7,0 por 100 mulheres para o TCu 220C e 1,9 para o TCu 380A.

O TCu 380A é também o mais efetivo quando comparado com TCu 220C, Multiload 250, Nova T, Multiload 375^{2, 30}.

O DIU com levonorgestrel possui taxa de gestação de 0,1 por 100 mulheres/ano⁴.

Um ensaio clínico randomizado comparou o DIU com levonorgestrel com o TCu 380A (1.124 mulheres com DIU com levonorgestrel e 1.120 mulheres com TCu 380A) e a taxa cumulativa de gestação, após sete anos de uso, não foi diferente entre os dois modelos de DIU³¹.

Há, portanto, na literatura, evidências suficientes para concluir que o DIU com levonorgestrel, assim como os DIU com cobre são métodos contraceptivos de alta eficácia.

3.3. MECANISMO DE AÇÃO DO DIU

Mesmo depois de décadas de estudos, o exato mecanismo de ação do diferentes tipos de DIU permanece não definido, provavelmente porque é difícil realizar estudos relevantes em humanos e existem limitações para extrapolar resultados de estudos em animais⁴. A alta efetividade deste método sugere que existam múltiplos sítios de ação. O DIU previne a fertilização por impedir a ascensão dos espermatozoides e por reduzir a habilidade do espermatozoide fertilizar o óvulo³².

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

Os mecanismos pré-fertilização incluem: inibição da migração e viabilidade dos espermatozoides na cérvix uterina, endométrio e trompa de falópio; retardo ou aceleração do transporte do óvulo através da trompa; e dano ou destruição do óvulo, antes da fertilização⁴.

As ações pós-fertilização do DIU são: retardo ou aceleração do transporte do embrião antes dele atingir o útero, prevenido a implantação; dano ou destruição do embrião antes de atingir a cavidade uterina; e prevenção da implantação⁴. Estes efeitos são demonstrados quando o DIU é inserido até 72 horas após o coito, para prevenir gestação, parecendo ser 100% eficaz³³.

Ambos os efeitos, pré e pós-fertilização, são contribuintes significativos para a eficácia clínica de todos os tipos de DIU. Os efeitos pré-fertilização são os mais proeminentes em todos os modelos de DIU, sendo o DIU de cobre o que possui maior ação pré-fertilização⁴.

O principal mecanismo do DIU com cobre baseia-se na reação de corpo estranho desencadeada pela ação do polietileno, do cobre, sais de cobre no

endométrio⁴. O DIU com cobre altera pouco o desenvolvimento endometrial, mas aumenta o número de leucócitos no endométrio, indicando uma reação inflamatória crônica³⁴. Na cérvix ocorrem alterações no muco cervical com todos os tipos de DIU, mas é menor nos modelos sem cobre ou hormônios³⁴. O DIU com cobre, por outro lado, provoca concentração elevada de cobre no muco cervical, que atua inibindo a mobilidade dos espermatozoides no muco cervical. A reação provocada causa alterações celulares e bioquímicas que são tóxicas para o espermatozoide³⁵. Vários estudos demonstraram que o DIU reduz o número de espermatozoides que atingem a cavidade uterina e tropas de Falópio.

O DIU com cobre provoca maior reação inflamatória, quando comparado com o inerte ou com hormônio, o que sugere que ele tenha maior efeito espermicida no endométrio que os outros modelos³⁶.

O principal mecanismo de ação do DIU com levonorgestrel, assim como seus para-efeitos mais comuns, é baseado num marcante efeito na morfologia e função endometrial, causado pela liberação contínua do hormônio⁶. O levonorgestrel causa profunda supressão endometrial com diminuição da espessura endometrial e do tamanho das glândulas, diminuindo a capacidade de implantação²⁴.

A progesterona oral ou sistêmica altera o muco cervical e inibe o transporte de espermatozoides através da cérvix uterina⁴ e, como foi evidenciado em estudos *in vitro*, parece interferir com a função do espermatozoide, contribuindo, assim, para a ação contraceptiva^{37, 38}. No entanto, em pacientes com longo tempo de uso do DIU com levonorgestrel o muco cervical foi favorável para o transporte de espermatozoide em 69% das usuárias que tinham ciclos ovulatórios⁴.

As usuárias de DIU com levonorgestrel apresentam taxa de 71 a 85% de ciclos anovulatórios nos primeiros três meses de uso²⁵, devido ao nível sérico do

hormônio ser mais elevado nos meses iniciais, o que contribui para a ação contraceptiva. A taxa de ovulação, no entanto, aumenta ao longo do tempo⁴ e apresenta correlação com os níveis séricos decrescentes do levonorgestrel²⁵.

3.4. DIU: PARA-EFEITOS E TAXA DE CONTINUIDADE

As mulheres usam DIU por mais tempo que outros métodos anticoncepcionais reversíveis, apresentando taxas de continuidade superiores aos implantes, anticoncepcionais orais, preservativos ou diafragma^{5, 39}. Em grandes estudos multicêntricos entre 70 e 90% das mulheres ainda usavam o DIU depois de um ano; 51 a 85% depois de dois anos; 40 a 57% depois de quatro anos⁵.

O aumento do sangramento menstrual, freqüentemente acompanhado de dor, é o problema mais comum do uso do DIU e a principal razão médica para a sua remoção. A taxa de remoção médica do DIU varia de 6% a 20%^{5, 30, 36}. Os percentuais de remoção são mais altos para os modelos não medicados, como a alça de Lippes do que para os DIU com cobre e com levonorgestrel⁵.

Numa revisão sistemática de cinco ensaios clínicos randomizados e controlados a taxa de continuidade foi semelhante entre usuárias de DIU com levonorgestrel, quando comparadas com as usuárias de DIU com cobre em cinco anos⁴⁰. Problemas com sangramento, especificamente o sangramento escasso e contínuo no DIU com levonorgestrel e o sangramento prolongado no DIU com cobre, foram as principais causas para a remoção destes dois tipos de DIU¹¹.

A reação provocada pelo DIU com cobre modifica o fluxo menstrual. Cerca de 5 a 15% das usuárias cobre relatam aumento no sangramento menstrual, com repercussões importantes em seus hábitos de vida, levando a retirada do DIU³⁶. O sangramento aumentado pode levar a anemia que pode aumentar a morbidade, além de comprometer a qualidade de vida⁴¹.

O DIU com levonorgestrel está associado a uma importante redução do fluxo menstrual ou até amenorréia⁴². Tem sido, por esta razão, também usado como tratamento para sangramento vaginal⁴¹ e como proteção endometrial durante a terapia de reposição hormonal^{8, 9}. Apesar de reduzir sangramento menstrual, a queixa de distúrbios como sangramento escasso e freqüente, do tipo “spotting”, é comum nas usuárias de DIU com levonorgestrel, ocorrendo em até 14 % das usuárias deste método e, junto com a amenorréia, é a principal causa de descontinuidade^{11, 12, 42}. A dor é uma razão importante para a descontinuidade do DIU com levonorgestrel, levando a uma taxa de 6,7% de retirada³⁹.

O endométrio exposto a progesterona mostra alterações importantes na vascularização, com redução substancial no número de arteríolas espiraladas, uma redução significativa na densidade dos capilares e formação de novos vasos com paredes finas e frágeis. Estas alterações parecem estar implicadas na gênese do sangramento irregular do DIU com levonorgestrel^{9, 43}.

Estudo em usuárias de DIU com levonorgestrel⁴⁴ associou o sangramento aumentado e *spotting*, depois de seis meses de uso, com a presença de miomatose uterina e pequenos pólipos. A biópsia endometrial dos casos evidenciou atrofia na maioria dos casos, mas em 20% havia hiperplasia ou endometrite.

O mecanismo subjacente a estas modificações no fluxo menstrual, no entanto, não é completamente compreendido e podem estar relacionados a alterações bioquímicas e vasculares.

3.5. DIU E ALTERAÇÕES ENDOMETRIAIS

É bem estabelecido que o DIU cause alterações endometriais, que dependem do tipo de dispositivo utilizado^{45, 46}. O DIU com cobre altera pouco o desenvolvimento endometrial, mas aumenta o número de leucócitos no endométrio, indicando uma

reação inflamatória crônica. Os estudos demonstram que existem diferenças significativas no efeito causado no epitélio endometrial entre os diferentes tipos de DIU⁴⁶. O número de mastócitos aumenta no endométrio de usuárias de DIU, independentemente do tipo utilizado, mas é mais proeminente no DIU de cobre, quando comparado com DIU de aço inoxidável ou com DIU com levonorgestrel. Não há diferença no número de mastócitos nas usuárias que têm sangramento aumentado com o uso do DIU⁴⁵.

O DIU com cobre também provoca alteração nos marcadores de reação inflamatória endometrial, que tem sido sugerido como um dos mecanismos responsáveis pelo sangramento vaginal aumentado pós-inserção. O DIU com cobre liberador de indometacina foi projetado com o objetivo de diminuir sangramento, através da ação antiinflamatória local. A análise dos marcadores de reação inflamatória, em usuárias de DIU liberador de indometacina, mostrou não haver modificação nos marcadores de reação inflamatória, quando comparado com os níveis encontrados antes da inserção. Entretanto, as usuárias deste tipo de dispositivo tiveram redução do sangramento desencadeado pela inserção do DIU, o que sugere, de qualquer maneira, que a reação inflamatória é contribuinte importante para o sangramento e que a ação antiinflamatória é efetiva no alívio dos parafeitos⁴⁷.

O aparecimento súbito de um tipo de integrina (α -v- β -3), no 20° dia do ciclo, é coincidente com o início da janela de implantação, enquanto que o desaparecimento da subunidade α -4 no 24° dia do ciclo, representa o fechamento da janela de implantação. A expressão conjunta das integrinas correlaciona-se com o período de implantação (20° ao 24° dias do ciclo)⁴⁸. Pela sua expressão e relação temporal com o período de implantação e pela sua ausência em condições relacionados com a infertilidade, as integrinas provavelmente têm papel importante como marcadores da receptividade uterina⁴⁸. Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas

nos níveis de integrina α -4- β -1 e α -v- β -3, no epitélio glandular e luminal endometrial, em usuárias de DIU com cobre (TCu 200), quando comparadas com mulheres normais e férteis⁴⁹.

Por outro lado, foi observada diferença significativa no percentual de amostras negativas de integrina α -v- β -3 no endométrio de usuárias de DIU⁴⁹. A expressão negativa da integrina α -v- β -3 nas glândulas endometriais em 38,5% das usuárias de DIU sugere que o DIU com cobre possa atuar no sítio de implantação. Entretanto, a alteração da integrina não deve ser o único mecanismo de ação do DIU de cobre, já que apenas 38,5% das usuárias de DIU tinham níveis reduzidos de integrina, o que não explica toda a sua alta efetividade. Portanto, o DIU tem múltiplos mecanismos de ação⁴, incluindo, também, alterações na receptividade uterina⁴⁹. Estudos in-vitro demonstraram resultados contrários: um aumento de duas vezes na integrina beta-3 em usuárias de DIU. Estes resultados sugerem que as alterações hormonais e interações parácrinas no endométrio de usuárias de DIU não são reproduzíveis in-vitro e que o processo de reação inflamatória e liberação de citocinas devem ter um efeito regulador da expressão das integrinas⁵⁰.

Baixos níveis de atividade de fator VIII estão relacionados com sangramento vaginal induzido pelo DIU⁵¹. Foi pesquisada a atividade do fator VIII no endométrio em usuárias de três tipos de DIU: com cobre, com aço e com levonorgestrel. O DIU de cobre e aço diminui a atividade do fator VIII no endométrio. As usuárias de DIU com levonorgestrel, por outro lado, não apresentaram alterações nos níveis de fator VIII. O DIU também provoca redução nas concentrações de proteínas endometriais e placentárias, refletindo uma alteração na função endometrial, provavelmente relacionada ao efeito contraceptivo³⁵.

O DIU com cobre aumenta a expressão endometrial do ácido ribonucléico mensageiro das citocinas (mRNA), que podem estar relacionadas ao seu

mecanismo de ação. As usuárias de DIU com levonorgestrel, por outro lado, não apresentaram alterações significativas⁵².

Estudos de ultra-estrutura do endométrio de usuárias de diferentes tipos de DIU (cobre, aço inoxidável e com levonorgestrel) evidenciaram que todos levam às alterações que comprometem e degeneram as células endoteliais, sendo que o DIU com cobre as modifica mais do que os outros modelos⁵³.

A angiogênese é o desenvolvimento de novos capilares a partir dos vasos já existentes e é fundamental para o desenvolvimento e diferenciação endometrial necessários para a implantação. Este processo vascular é mediado por fatores de crescimento endotelial (VEGF), também chamado de fator de permeabilidade vascular (VPF). Várias moléculas foram identificadas como fatores de crescimento angiogênicos no endométrio e que promovem proliferação endotelial celular, migração, formação de tubos e também facilita alterações necessárias para a formação de novos vasos na matriz extracelular⁴². A ação progesterônica e estrogênica promove aumento no mRNA para VEGF, dose dependente, no estroma de células endometriais. Resultado de um estudo revela que ocorre um aumento na expressão de fatores crescimento angiogênico em usuárias de DIU com levonorgestrel, indicando que mais de um fator angiogênico está envolvido na formação de vasos aberrantes, que são prováveis causadores do sangramento escasso e contínuo⁴².

O levonorgestrel liberado no endométrio inibe várias respostas celulares aos estrógenos, apesar da presença de estrógeno endógeno e de receptores estrogênicos. Exerce seu efeito progesterônico no endométrio, mesmo na ausência de receptores progesterônicos⁵⁴. O levonorgestrel liberado no endométrio eleva a enzima 17 β -hidroxiesteróide dehidrogenase tipo2 (17 β -HSD2) o que suprime os receptores estrogênicos e androgênicos produzidos nas glândulas endometriais, que

regula os níveis intracelulares de estrógeno, progestágenos e andrógenos⁵⁵. Os estrógenos intracelulares endometriais estão suprimidos durante os primeiros meses de uso do DIU com levonorgestrel e parecem ser importante contribuinte para o sangramento contínuo e escasso deste período e que não responde ao tratamento com estrógeno ou progestágeno. Um subsequente declínio dos níveis de 17β -HSD2 pode levar a um aumento nos níveis intracelulares de estradiol depois de três meses, quando o sangramento tende a desaparecer⁵⁵.

A progesterona utilizada nos contraceptivos hormonais, quando não associada ao estrógeno, tem como consequência um infiltrado leucocitário. As usuárias de DIU com levonorgestrel que apresentam sangramento escasso e contínuo, quando comparadas com as usuárias em amenorréia, apresentam aumento do infiltrado de neutrófilos no endométrio e aumento da matriz metaloproteinase-3⁵⁶. A presença de células “uterine natural killer” (uNK) é maior em pacientes com sangramento escasso contínuo e não houve diferença no número de mastócitos⁵⁷.

Estas alterações bioquímicas e vasculares parecem desempenhar um papel importante na gênese do sangramento escasso contínuo do DIU com levonorgestrel^{54, 55, 56, 57}.

3.6. DIU E VASCULARIZAÇÃO UTERINA

A técnica de ultra-sonografia tem passado por alterações importantes desde a sua inserção como auxiliar diagnóstico na medicina, há mais de três décadas. Os avanços tecnológicos na eletrônica e na computação revolucionaram a prática da

ultra-sonografia e ampliaram as aplicações. Os estudos com Doppler foram ampliados e técnicas de avaliação da micro-circulação foram desenvolvidas⁵⁸.

A reação provocada pelo DIU com cobre no endométrio pode modificar o fluxo menstrual e causar dismenorréia, acredita-se que estes para-efeitos possam ser causados pelo aumento da secreção uterina de prostaglandinas, o que levaria à atividade uterina anormal⁵⁹ e vasoconstrição das arteríolas miometriais e endometriais⁶⁰. Os estudos, de fato, evidenciaram que a produção de prostaglandinas parece estar aumentada, pelo menos temporariamente, no endométrio após inserção do DIU^{61, 62}.

O DIU com levonorgestrel causa uma redução marcante na perda sangüínea menstrual, mas, apesar deste benefício, o sangramento escasso e contínuo é uma queixa freqüente das usuárias deste método contraceptivo, especialmente nos primeiros três a seis meses de uso, podendo ser causa de retirada do DIU^{11, 12, 63, 64}.

A taxa de sangramento uterino irregular diminui e a taxa de amenorréia aumenta com o tempo decorrido, sendo que a amenorréia ocorre em 20-30% das usuárias de longo tempo⁹. O mecanismo subjacente a estas alterações permanece pouco conhecido, mas parece envolver fatores angiogênicos, ativação da matriz de metaloproteinase, alteração de fatores hemostáticos e hormonais que parecem levar a uma maior fragilidade dos vasos endometriais favorecendo o sangramento uterino^{55, 56, 57}.

Fatores de crescimento vascular endotelial (VEGF) e seus receptores (VEGFR) são necessários para o controle da angiogênese endotelial e são, provavelmente, os fatores determinantes da ocorrência de sangramento uterino anormal⁹. Estudo de biópsia endometrial de usuárias de DIU com levonorgestrel com sangramento uterino evidenciou que as células endoteliais apresentam maior

imunorreatividade para os receptores dos fatores de crescimento vascular endotelial (VEGFR-1 e VEGFR-3). Os fatores de crescimento vascular endotelial (VEGF-A e VEGF-C) têm sido estudados no endométrio de usuárias de DIU com levonorgestrel e as células do estroma endometrial das pacientes com sangramento têm menor imunorreatividade os fatores do que das pacientes sem sangramento⁹. A expressão destes fatores de crescimento angiogênicos e seus receptores podem estar envolvidos na formação de vasos frágeis responsáveis pelo sangramento irregular do DIU com levonorgestrel^{9, 65}. A progesterona liberada também promove pseudodescidualização do estroma endometrial, que pode explicar a redução do sangramento menstrual por reforçar a coesão tecidual⁴³.

O estudo anatomopatológico de biópsia de endométrio exposto a progesterona mostra atrofia glandular, pseudodescidualização do estroma e dilatação vascular, especialmente próximo a superfície endometrial⁴³. Apresenta, também, alterações importantes na vascularização, com redução substancial na densidade média vascular (número de vasos por mm²) e um aumento na área vascularizada (µm²), avaliados através da análise matemática computadorizada das imagens do leito vascular em usuárias de DIU com levonorgestrel e comparado com o endométrio fisiológico⁴³. No entanto, as pacientes que tiveram sangramento com o DIU não apresentaram alterações na vascularização, quando comparadas com o grupo de pacientes sem sangramento^{43, 56}.

Estes estudos sugerem, estão, um efeito na vascularização uterina e endometrial causada pela ação do cobre e progesterona liberados pelos dispositivos intra-uterinos^{9, 43, 56}, mas as alterações nas de pacientes com para-efeitos induzidos pelo uso do DIU tem sido pouco estudadas.

3.6.1. DOPPLERVELOCIMETRIA DAS ARTÉRIAS UTERINAS

A ultra-sonografia é uma das técnicas diagnósticas auxiliares mais utilizadas em ginecologia. A DopplerveLOCimetria colorida transvaginal ou abdominal permite o estudo do fluxo sangüíneo das artérias uterinas.

Foi encontrado, em estudos com Doppler colorido, que existem alterações no fluxo uterino durante o ciclo menstrual^{66, 67}. A resistência ao fluxo sangüíneo das artérias uterinas é diminuída na fase lútea média⁶⁶ e tardia⁶⁷, o que, provavelmente, indica um aumento de fluxo uterino no período de implantação do blastocisto^{66, 67}. O maior índice de resistência em artéria uterina é no primeiro dia de menstruação e é maior em pacientes com dismenorréia⁶⁸, indicando que a diminuição de fluxo sangüíneo está envolvida na fisiopatologia da dismenorréia⁵⁹.

O uso de antiinflamatório não esteróides (nimesulide e naproxeno) leva a um rápido decréscimo na resistência de artéria uterina em pacientes com dismenorréia, aproximando-se dos valores das mulheres sem dismenorréia⁶⁹. No entanto, a resistência das artérias uterinas durante a menstruação foi significativamente menor em mulheres que usavam DIU com cobre e tinham sangramento aumentado, que naquelas que usavam DIU e não apresentavam sangramento. Indicando um aumento na perfusão uterina, naquelas pacientes que apresentam sangramento uterino aumentado após a colocação do DIU⁷⁰.

O efeito do DIU com cobre no fluxo arterial uterino foi avaliado no meio da fase lútea e no primeiro dia do fluxo menstrual antes da inserção do DIU e três meses depois¹³ e não houve alterações no fluxo das artérias uterinas após a inserção do DIU com cobre. No entanto, nas pacientes que apresentaram dismenorréia relacionada ao DIU houve redução no índice de pulsatilidade. Os autores concluíram que o DIU com cobre não altera a resistência ao fluxo da artéria uterina, embora,

durante a menstruação, em pacientes com dismenorréia haja diminuição no índice de pulsatilidade da artéria uterina. Foi observado que a alteração nos índices de pulsatilidade já existia, mesmo antes da inserção do DIU com cobre, nas pacientes que apresentaram dismenorréia, o que sugere que existam alterações uterinas que tornam a paciente mais propensa a desenvolver este para-efeito. Este resultado, no entanto, não foi repetido em outros estudos¹⁴.

O efeito do diclofenaco na vascularização uterina foi avaliado através do índice de resistência, durante a menstruação, em mulheres com e sem DIU com cobre. O diclofenaco foi efetivo em aliviar a dismenorréia de mulheres com e sem DIU. No entanto, não houve diferença significativa na Dopplervelocimetria de usuárias de DIU, que apresentaram dismenorréia e utilizaram o diclofenaco, sugerindo que o DIU deve induzir a produção de outros agentes vasoativos, diferentes das prostaglandinas²⁰. Também não houve diferença significativa no IP das artérias uterinas em pacientes com sangramento uterino aumentado causado pelo DIU e que usaram ácido mefenâmico ou desmopressina, sugerindo que a ação terapêutica na redução da perda menstrual não deva ser mediada por alteração no tônus vascular uterino⁷¹.

Os IR e IP foram significativamente mais baixos nas usuárias de DIU com cobre que apresentaram sangramento uterino anormal, quando comparadas com as usuárias de DIU com cobre que não apresentaram para-efeitos ou pacientes que não estavam usando DIU¹⁶.

Outro estudo¹⁵ avaliou os IP e IR antes e depois da colocação do DIU com cobre (30 dias) e não observou modificação nos índices.

Não houve diferença significativa nos IR e IP medidos na fase lútea média, três meses depois da inserção do DIU com cobre¹⁵. No entanto, nas pacientes que

apresentaram para-efeitos induzidos pelo DIU (dismenorréia e/ou sangramento) houve aumento de fluxo sanguíneo endometrial, evidenciado pelo *power Doppler*¹⁵.

Os estudos com DIU com levonorgestrel, por outro lado, apresentam resultados mais contraditórios. Avaliando com Doppler as alterações hemodinâmicas do DIU com levonorgestrel concluiu-se que ele aumenta a impedância do fluxo sanguíneo nas artérias uterinas durante a fase lútea média, correlacionada com a concentração sérica de Levonorgestrel¹⁷. No entanto, estudo anterior não havia demonstrado modificações no IP e IR das artérias uterinas após três meses de uso¹⁸.

O efeito do DIU com levonorgestrel na vascularização uterina (IR das artérias uterinas) foi avaliado e comparado com o DIU com cobre¹⁹ e não houve diferença significativa entre eles. Por outro lado, o fluxo nas artérias espiraladas foi significativamente reduzido no grupo do DIU com levonorgestrel, sugerindo um efeito mais localizado no endométrio¹⁹. No entanto, a sensibilidade da Dopplervelocimetria é limitada em vasos menores, como as artérias espiraladas⁷², e pode não refletir a vascularização do leito sub-endometrial, sendo um estudo de difícil reprodução.

Além disto, as pacientes tinham tempos diferentes de uso do DIU¹⁹ e, como nos demais estudos, o fluxo vascular foi avaliado na fase lútea média estimada pela data da última menstruação. Considerando a variação nos índices de pulsatilidade e resistência das artérias uterinas ao longo do ciclo menstrual, é de grande importância definir com maior precisão o momento da realização das medidas, para reduzir distorções nos resultados causados por anovulação.

Por estas razões decidimos utilizar uma definição precisa da fase lútea média usando como base a data da ovulação, diagnosticada através da ecografia diária para acompanhar o crescimento folicular, diminuindo, desta forma, a possibilidade incluir pacientes anovulatórias. Como não existe definição de valores normais dos IP

e IR é, também, importante avaliar o efeito provocado na vascularização através da diferença entre exames realizados na mesma paciente, antes e depois da inserção do contraceptivo, permitindo, desta forma avaliar o efeito provocado na vascularização.

O uso da definição precisa do momento do exame e avaliando a diferença (antes e depois da inserção do DIU) dos IP e IR são cuidados metodológicos no estudo que poderão permitir evidenciar diferenças.

3.6.2. POWER DOPPLER DO ENDOMÉTRIO

A Dopplervelocimetria das artérias uterinas e artérias espiraladas foi usada, sugerindo que seriam representativas da vascularização sub-endometrial. No entanto, a sensibilidade da Dopplervelocimetria é limitada em vasos menores e apresenta um sinal de captação muito fraco em regiões como o endométrio⁷² e pode não refletir a vascularização do leito sub-endometrial. Por isso, é de interesse o desenvolvimento de tecnologia que permitam estudar áreas de baixo fluxo como o endométrio.

O efeito *power* Doppler resulta da refração da onda de ultra-som das hemácias das artérias, arteríolas e vênulas permitindo detectar imagens de áreas com baixo fluxo, que não são identificadas pela Dopplervelocimetria convencional⁷³, como as áreas da micro-vasculatura renal, do testículo⁷⁴, hepática, ovariana⁷⁵ e endometrial⁷⁶, entre outras áreas de interesse. Possui a vantagem, quando comparado ao Doppler tradicional, de não depender do ângulo. Os ruídos de fundo, que podem representar dificuldade na avaliação do Doppler tradicional, são facilmente diferenciados do fluxo normal, quando o *power* Doppler é utilizado²¹.

O estudo da vascularização sub-endometrial, com *power* Doppler, pode servir como indicativo da receptividade endometrial para implantação de embriões, em

conjunto com a espessura endometrial⁷⁶. Mulheres com adequada espessura endometrial, mas com reduzida vascularização sub-endometrial, têm piores resultados na implantação dos embriões, quando submetidas à fertilização in-vitro⁷⁶. A avaliação da micro-vascularização endometrial com o *power* Doppler também foi estudada, com o objetivo de estabelecer parâmetro para o prognóstico de implantação de embrião em pacientes submetidas à injeção intra-citoplasmática de espermatozoides (ICSI). A taxa de implantação não foi diferente nos grupos, sendo que os dados demonstram que a avaliação isolada da vascularização sub-endometrial não parece ser um fator prognóstico de gestação em programas de fertilização⁷⁷. O mesmo grupo idealizou um escore contendo sete parâmetros, que incluíam o *power* Doppler e também falhou em estabelecer um fator prognóstico para implantação⁷⁸.

A ultrasonografia em três dimensões tem sido usada para prever taxas de gestação em fertilização assistida⁷⁹. Estudo com angiografia três dimensões (3-D) avaliando a vascularização endometrial demonstrou uma variação significativamente ao longo do ciclo menstrual com um pico na fase lútea média⁸⁰. Estudos recentes têm avaliado e validado a angiografia 3-D como um método de avaliação da vascularização endometrial^{81, 82}. No entanto, os resultados não podem ser reproduzidos pela falta de software específico no nosso meio e não existem estudos da vascularização sub-endometrial com angiografia 3-D em usuárias de DIU.

Estudo da vascularização sub-endometrial com *power* Doppler foi realizado em usuárias de DIU com cobre e não evidenciou modificação na vascularização três meses depois da inserção do DIU. No entanto, nas pacientes que apresentaram para-efeitos induzidos pelo DIU (dismenorréia e/ou sangramento), houve aumento de fluxo sanguíneo¹⁴, sugerindo que o *power* Doppler endometrial possibilita identificar alterações na vascularização endometrial associadas ao DIU.

A quantificação do *power* Doppler tem sido recentemente, objeto de interesse e varia de métodos subjetivos a técnicas quantitativas^{21, 76, 77, 81}.

Nosso grupo de pesquisa desenvolveu um padrão de medida para avaliação da vascularização sub-endometrial com *power* Doppler⁸³. O *power* Doppler foi classificado em cinco categorias de acordo com a porcentagem de área de captação do sinal na região sub-endometrial: categoria I (< 10%), categoria II (10-25%), categoria III (25-50%), categoria IV (50-75%) e categoria V (> 75%). Esta classificação apresentou uma forte e significativa correlação (Kappa > 0,70), fazendo desta quantificação do *power* Doppler uma técnica mais simples, reproduzível, disponível e custo-efetivo. No nosso estudo utilizamos este padrão de medida para quantificar a vascularização sub-endometrial.

A maioria dos estudos não realizou os exames no mesmo horário do dia e isto pode causar alterações nos resultados. Tivemos o cuidado de realizar os exames na mesma hora do dia, entre 8:00 e 10:00 horas da manhã, pois existem estudos mostrando variações decorrentes do ritmo circadiano⁷².

JUSTIFICATIVAS

A ausência de estudos com *power* Doppler comparando os dois tipos de DIU, os problemas metodológicos encontrados nos estudos, a falta de precisão na definição da fase lútea média usada pela maioria dos autores^{13, 15, 17, 19, 20} e os resultados controversos encontrados na literatura justificam a pesquisa com os cuidados metodológicos que propusemos neste trabalho.

Considerando a magnitude dos para-efeitos e suas repercussões clínicas e na taxa de adesão e continuidade do método contraceptivo e a falta de dados na literatura, torna-se importante estudar a vascularização uterina e endometrial nas pacientes que apresentam para-efeitos com o uso do DIU com levonorgestrel e do

DIU com cobre, já que alteração no fluxo vascular pode estar envolvida na fisiopatologia destas modificações e pode servir de base para estudo de novas opções terapêuticas. Não existe estudo da vascularização sub-endometrial com *power* Doppler em usuárias de DIU com levonorgestrel que apresentaram para-efeitos.

4. OBJETIVOS

Geral:

Comparar o efeito do DIU com levonorgestrel com o do DIU com cobre na vascularização sub-endometrial e no fluxo das artérias uterinas.

Específicos:

Comparar o efeito do DIU com levonorgestrel com o do DIU com cobre na vascularização sub-endometrial através do *power* Doppler.

Comparar o efeito do DIU com levonorgestrel com o do DIU com cobre nos IR, IP das artérias uterinas e na espessura endometrial através da Dopplervelocimetria colorida.

Avaliar a vascularização sub-endometrial em pacientes que apresentarem para-efeitos (dismenorréia e menorragia) induzidos pelo DIU com levonorgestrel ou com cobre.

Avaliar a vascularização das artérias uterinas em pacientes que apresentarem para-efeitos (dismenorréia e menorragia) induzidos pelo DIU com levonorgestrel ou com cobre.

HIPÓTESES

Hipótese nula 1 (Ho 1) = não existe diferença na vascularização sub-endometrial entre usuárias de DIU com levonorgestrel e DIU com cobre.

Hipótese nula 2 (Ho 2) = não existe diferença no fluxo das artérias uterinas e na espessura endometrial entre as usuárias de DIU levonorgestrel e DIU com cobre.

Hipótese nula 3 (Ho 3) = não existe diferença na vascularização sub-endometrial entre as pacientes que apresentam para-efeitos induzidos pelo DIU com levonorgestrel ou DIU com cobre.

Hipótese nula 4 (Ho 4) = não existe diferença na vascularização das artérias uterinas entre as pacientes que apresentam para-efeitos induzidos pelo DIU com levonorgestrel ou com cobre.

5. REFERÊNCIAS

1. UNDP/UNPF/WHO/World Bank, Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction (HRP) The intrauterine device (IUD) - worth singing about. *Progress in Health Research* 2002; 60:1-8.
2. Thonneau P, Goulard H, Goyaux N. Risk factors for intrauterine device failure: a review. *Contraception* 2001; 64: 33-7.
3. Dias-da-Costa JS, Gigante DP, Menezes AMB, Olinto MTA, Macedo S, Britto MAP and Fuchs SC. Uso de métodos anticoncepcionais e adequação de contraceptivos hormonais orais na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: 1992-1999. *Caderno de Saúde Pública* 2002; 18 (1).
4. Stanford JB and Mikolajczyk RT. Mechanisms of action of intrauterine device: update and estimation of postfertilization effects. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187 (6)1699-708.
5. Treiman K, Liskin L, Kols A, and Rinehart W. An Update. *Popul. Rep.* Baltimore Johns Hopkins University School of Public Health, Population Information Program 1995; B, n° 6: 1-35.
6. Pakarinen P I, Läteenmäki P, Lehtonen E and Reima I. The ultrastructure of human endometrium is altered by administration of intrauterine levonorgestrel. *Hum. Reprod* 1998; 13 (7): 1846-53.
7. Maruo T, Laoag-Fernandez JB, Pararinen P, Murakoshi H, Spitz IM and Johansson E. Effects of the levonorgestrel-releasing intrauterine system on proliferation and apoptosis in the endometrium. *Hum Reprod* 2001; 16 (10): 2103-8.
8. Bongers MY, Mol BWJ and Brölmann HAM. Current treatment of dysfunctional uterine bleeding. *Maturitas* 2004; 47: 159-174.

9. Möller B, Rönnerdag M, Wang G, Odling V and Olovsson M. Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors in human endometrium from women experiencing abnormal bleeding patterns after prolonged use of a levonorgestrel-releasing system. *Hum Reprod* 2005; 20 (5): 1410-7.
10. Hurskainen R, Salmi A, Paavonen J, Teperi J and Rutanen EM. Expression of sex steroids receptors and Ki-67 in the endometria of menorrhagic women: effects of intrauterine levonorgestrel. 2000; 6 (11): 1013-8.
11. Andersson K, Odling V and Rybo G. Levonorgestrel-releasing and copper-releasing (Nova T) IUDs during five years of use: a randomized comparative trial. *Contraception* 1994; 49: 56-72.
12. Rönnerdag M and Odling V. Health effects of long-term use of the intrauterine levonorgestrel-intrauterine-releasing system. A follow-up study over 12 years of continuous use. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 716-21.
13. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of a Copper-intrauterine Device on the Uterine Artery Blood Flow in Regularly Menstruating Women. *Hum Reprod* 1998; 13(7): 1841-1845.
14. Jiménez MF, Passos EP, Fagundes PAP, Freitas FM, Arbo E and Cunha-Filho J. S. L. Effect of the copper-intrauterine device (TCu 380A) on subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow. *Fertil and Steril*, 2006; 86 (6): 1780-2.
15. Souza M. A. and Geber S. Doppler color flow analysis of the uterine arteries before and after intrauterine devices insertion: a prospective study *J Ultrasound Med* 2006; 25 (2): 153-157.
16. Frajndlich R, von Eye Corleta H and Frantz N Color Doppler sonographic study of the uterine artery in patients using intrauterine contraceptive devices. *J Ultrasound Med* 2000; 19 (8): 577-9.

17. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of a Levonorgestrel-releasing Intrauterine System on Uterine Artery Blood Flow, Hormone Concentrations and Ovarian Cyst Formation in Fertile Women. *Hum. Reprod* 1998; 13 (12): 3379-3383.
18. Pakarinen P, Luukkainen T Laine H and Lähteenmäki P. The effect of local intrauterine levonorgestrel administration on endometrial thickness and uterine blood circulation. *Hum Reprod.* 1995; 10 (9): 2390-2394.
19. Zalel Y, Shulman A, Lidor A, Mashiach S and Gamzu R. The local progestational effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system: a sonographic and Doppler flow study. *Hum Reprod* 2002; 17 (11): 2878-2880.
20. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of Diclofenac on Uterine Artery Blood Flow Resistance During Menstruation in Patientes With and Without a Copper Intrauterine Devices. *Hum Reprod* 1998; 13 (9): 2480-2483.
21. Amso NA, Watermeyer SR, Pugh N, O'Brien S and D'Angelo A. Quantification of power doppler energy and its future potencial. *Fertil. Steril* 2001; 76 (3): 583-587.
22. Scommegna A, Pandya GN, Christ M, Lee AW and Cohen MR. Intrauterine administration of progesterone by a slow-release device. *Fertil Steril* 1970; 21: 201-10.
23. Luukkainen T, Lähteenmäki P and Toivonen J. Levonorgestrel-releasing intrauterine device. *Ann Med* 1990; 22: 85-90.
24. Lähteenmäki P, Rauramo I and Backman T. The levonorgestrel intrauterine system in contraception. *Steroids* 2000; 65: 693-7.
25. Lokhat FB, Emembolu JE and Konje JC. Serum and peritoneal fluid levels of levonorgestrel in women with endometriosis who were treated with an

- intrauterine contraceptive device containing levonorgestrel. *Fertil Steril* 2005; 83 (2): 398-404.
26. Thiery M. Intrauterine contraception: from silver ring to intrauterine contraceptive implant. *European Journal of Obstetric & Gynecology and Reproductive Biology* 2000; 90:145-152.
 27. Castro A, Abarca L, Rios M. The clinical performance of the Multiload IUD. I. The influence of age. *Adv Contracep* 1993; 9:291-8.
 28. WHO Special Programme of Research, Development, and Research Training in Human Reproduction: Task Force on the Safety, and Efficacy of Fertility and Regulating Methods (1990) The TCu 380A, TCu 220C, Multiload 250, and Nova T IUDs at 3, 5, and 7 years of use- results from the three randomized multicentre trials. *Contraception*, 42:141-58.
 29. UNDP/UNPF/WHO/World Bank, Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction: IUD Research Group A randomized multicentre trial of the multiload 375 and TCu 380A in parous women: three-year results. *Contraception* 1994; 49:543-9.
 30. United Nations Development Programme/Inte Nations Population Fund/World Health Organization/World Bank, Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction Long-term reversible contraception. Twelve years of experience with the TCu380A and TCu220C. *Contraception* 1997; 56: 341-352.
 31. Sivin I, Stern J and Coutinho E. Prolonged intrauterine contraception: a seven-year randomized study of the levonorgestrel 20mcg/day (LNg20) and the copper T380 Ag IUDs. *Contraception* 1991; 44: 473-80.

32. Rivera R, Yacobson I and Grimes D. The mechanism of action of hormonal contraceptives and intrauterine contraceptives devices. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181 (5); 1263-9.
33. Gottardi G, Spreafico A, and Orchi L. The postcoital IUD as an effective continuing contraceptive method. *Contraception* 1986; 34: 549-58.
34. Hagenfeldt K, Johannisson E and Brenner P. Intrauterine contraception with copper-T device: effect upon endometrial morphology. *Contraception* 1972; 6: 207-18.
35. Seleem S, Hills FA, Salem HT, El-Nashar EM and Chard T. Mechanism of action of the intrauterine device: evidence of a specific biochemical deficiency in the endometrium. *Hum Reprod* 1996; 11: 1220-2.
36. Mishell DR Jr. Intrauterine device: mechanisms of action, safety and efficacy. *Contraception* 1998; 58: 45S-53S.
37. Munuce MJ, Nascimento JA, Rosano G, Faúndes A, Saboya-Brito F and Bahamondes L. In vitro effect of levonorgestrel on sperm fertilizing capacity and mouse embryo development. *Contraception* 2005; 72 (1): 71-6.
38. Munuce MJ, Nascimento JA, Rosano G, Faúndes A and Bahamondes L. Doses of levonorgestrel comparable to that delivered by the leonorgestrel-releasing intrauterine system can modify the in vitro expression of zona binding sites of human spermatozoa. *Contraception* 2006; 73 (1): 97-101.
39. Suhonen S, Haukkamaa, Jacobsson T and Rauramo I. Clinical performance of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and oral contraceptives in young nulliparous women: a comparative study. *Contraception* 2004; 69: 407-12.
40. French RS, Cowan FM and Mansour D. Levonorgestrel-releasing (20 microgram/day) intrauterine system (Mirena) compared with other methods of reversible contraceptives, *BJOG* 2000; 107: 1218-25.

41. Wildemeersch D and Rowe PJ. Assessment of menstrual blood loss in women with ideopathic menorrhagia using frameless levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Contraception* 2004; 70: 165-8.
42. Roopa BA, Loganath A and Singh K. The effect of a levonorgestrel-releasing intrauterine system on angiogenic growth factors in the endometrium. *Hum Reprod* 2003; 18 (9): 1809-19.
43. Jondet M, Letellier B and Verdys MT. Endometrial vascularization in levonorgestrel intrauterine device users; computerized microvessel measurement study. *Contraception* 2005; 71: 60-64.
44. Rönnerdag M and Odland V. Late bleeding problems with the levonorgestrel-releasing intrauterine system: evaluation of the endometrial cavity. *Contraception* 2007; 75: 268-70.
45. Yin M, Zhu P, Luo H and Xu R. The presence of mast cells in the human endometrium pre and post-insertion of intrauterine devices. *Contraception* 1993; 48 (3): 245-54.
46. Peng-Di Z, Hongzhi L, Ruhua X, Jie C, Shangchun W, Juhua C, MU-Zhen W and Xiu-Pin W. The effect of intrauterine devices, the stainless steel sting ring, the copper T220, and releasing levonorgestrel, on the bleeding profile and morphological structure of the human endometrium: a comparative study of three IUDs. A morphometric study of 96 cases. *Contraception* 1989; 40 (4): 425-38.
47. Zhao G, Minshi L, Pengdi Z, Ruhua X, Jiedong W and Renqing X. A preliminary morphometric study on the endometrium from patients treated with indomethacin-releasing copper intrauterine device. *Hum Reprod* 1997; 12 (7): 1563-6.

48. Lessey BA, Castelbaum AJ and Buck CA. Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 1994; 62 (3): 497-506.
49. Savaris R, Zettler CG, Ferrari AN. Expression of alpha-4beta-1 and alpha-v-beta3 integrins in the endometrium of women using the T200 copper intrauterine device. *Fertil Steril* 2000; 74 (6): 1102-7.
50. Savaris R, Chies JAB. Copper ions dynamically regulate beta 3 integrin subunit expression in Ishikawa cells. *Contraception* 2003; 67: 247-9.
51. Peng-Di Z, Hongzhi L, Wenlia NGS, Jie-Dong W, Jie C and Ruhua X. Observation of the activity of factor VIII in the endometrium of women pre- and post-insertion of three types of IUDs. *Contraception* 1991; 44 (4): 367-84.
52. Ammala M, Nyman T, Strengell L, Rutanen EM. Effect of intrauterine contraceptive devices on cytokine messenger ribonucleic acid expression in the human endometrium. *Fertil Steril* 1995; 63: 773-8.
53. Jie-Dong W, Peng-Di Z, Jie C, Hong-Shi, Ru-Hau X and Wen-Wei H. Ultrastructural comparative study on endometrium of Chinese women using intrauterine devices of stainless steel ring, copper T220 and releasing levonorgestrel: morphometry of microvessels. *Contraception* 1990; 41 (4): 389-97.
54. Salmi A, Pakarinen AM and Rutanen EM. The effect of intrauterine levonorgestrel use on the expression of c-JUN, oestrogen receptors, progesterone receptors and Ki-67 in human endometrium. *Mol Hum Reprod* 1998; 4 (12): 1110-5.
55. Burton KA, Henderson TA, Hillier SG, Mason JI, Habib F, Brenner RM et al. Local levonorgestrel regulation of androgen receptor and 17 β -hydroxysteroid

- dehydrogenase type 2 expression in human endometrium. *Hum Reprod* 2003; 18 (12): 2610-7.
56. Oliveira-Ribeiro M, Petta CA, De Angelo Andrade LAL, Bahamondes L and Hidalgo MM. Correlation between endometrial histology, microvascular density and calibre, matrix metalloproteinase-3 and bleeding pattern in women using a levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Hum Reprod* 2004; 19 (8): 1778-84.
57. Pelligia A, Petta CA, Bahamondes L, Oliveira-Ribeiro M, Ahang J and Salamonsen L. Endometrial chemokines, uterine natural killer cells and mast cells in long-term users of the levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Hum Reprod* 2006; 21 (5): 1129-1134.
58. Harvey CJ, Pilcher JM, Eckersley RJ, Bromlley MJK and Cosgrove DO. Advances in ultrasound. *Clin Radiol* 2002; 57: 157-77.
59. Dawood MY. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and reproduction. *Am J Obstet Gynecol* 1993 57 (1255-65).
60. Nygren KG and Rybo G. Prostaglandin and menorrhagia. *Acta Obstet. Gynecol Scand* 1983; 113: 101-3.
61. Green K and Hagenfeldt K. Prostaglandins in the human endometrium. Gas chromatographic-mass spectrometric quantification before and after IUD insertion. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 122: 611-4.
62. Hillier K and Kasonde JM. Prostaglandins E and F concentration in human endometrium after insertion of intrauterine contraceptive device. *Lancet* 1976; I: 15-6.
63. McGavigan CJ, Dockery P, Metaxa-Mariatou V, Campbell D, Stewart CJR, Cameron IT and Campbell S. Hormonally mediated disturbance of

- angiogenesis in the human endometrium after exposure to intrauterine levonorgestrel. *Hum Reprod* 2003; 18 (1): 77-84.
64. Jensen JT. Contraceptive and therapeutic effects of the levonorgestrel intrauterine system: an overview. *Obstet Gynecol Surv* 2005; 60 (9): 604-612.
65. Laoag-Fernandez JB, Marua T, Pakarinen P, Spitz IM and Johansson E. Effects of levonorgestrel-releasing intra-uterine system on the expression of vascular endothelial growth factor and adrenomedullin in the endometrium in adenomyosis. *Hum Reprod* 2003; 18 (4): 694-9.
66. Steer CV. Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. *Hum Reprod* 1990; 5: 391-5.
67. Sladkevicius P, Valentin L and Marshal K. Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound Obstet. Gynecol* 1993; 3: 199-208.
68. Sladkevicius P, Valentin L and Marshal K. Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound Obstet. Gynecol* 1994; 4: 421-7.
69. Pirhonen J and Pulkkinen M The effect of nimesulide and naproxen on the uterine and ovary arterial blood flow velocity. A Doppler study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74 (7): 549-53.
70. Momtaz M Zayed M Rashid K. et al (1994) Doppler study of the uterine artery in patients using an intrauterine contraceptive device. *Ultrasound Obstet. Gynecol* 1994; 4: 231-4.
71. Mercorio F, Simone R, Carlo C, Bifulco G, Spiezio A and Nappi C. Effectiveness and mechanism of action of desmopressin in the treatment of copper intrauterine device-related menorrhagia: a pilot study. *Hum Reprod* 2003; 18 (11): 2322-2003.

72. Zaidi J, Collins W, Campbell S, Pittrof R, Tan SL. Blood flow changes in the intraovarian arteries during the periovulatory period: relationship to the time of day. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7 (2): 135-40.
73. Rubin JM, Bude RO, Carlson PL, Bree RL and Adler RS. Power Doppler US: a potencial useful alternative to mean frequency-based color doppler US. *Radiology* 1994; 190: 853-6.
74. Foresta C, Garolla A, Bettella A, Ferlim A, Rossato M and Candiani F. Doppler ultrasound of the testis in azoospermic subjects as a parameter of testicular function. *Hum Reprod* 1998; 13 (11): 3090-3.
75. Kupesic S and Kurlak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum Reprod* 2002; 17 (4): 950-5.
76. Yang JH, Wu MY, Chen CD, Jiang MC, Yang YS. Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999; 14: 1606-10.
77. Contart P, Baruffi RL., Coelho J, Mauri AL, Petersen C, Franco Junior JG. Power Doppler endometrial evaluation as a method for the prognosis of embryo implantation in an ICSI program. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17 (6): 328-4.
78. Baruffi RL, Contart P, Mauri AL, Petersen C, Felipe V, Gabriellini E, Franco Junior JG. A uterine ultrasonographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J Assist Reprod Genet* 2002; 19 (3): 99-102.
79. Wu HM, Chiang CH, Huang HY, Chao AS, Wang HS and Soong YK. Detection of the subendometrial vascularization flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2003 79: 507-511.
80. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS and Johnson IR. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal

- menstrual cycle with three-dimensional power Doppler angiography. *Hum Reprod* 2004; 19 (2): 330-338.
81. Bhal PS, Pugh N, Chui D, Gregory L, Walker SM, Shaw RW. The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum Reprod* 1999; 14: 939-45.
82. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Clewes JS, Kendall NR and Johnson IR. The interobserver reliability of three-dimensional power Doppler data acquisition within the female pelvis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004; may 23 (5): 501-8
83. Jiménez MF, Passos EP, Fagundes PAP, Magalhães JA, Palma-Dias R and Cunha-Filho JSL. Subendometrial power Doppler quantification: a new classification proposal. *Reproductive BioMedicine On line* 2005; 11(2): 232-235.

6. ARTIGO 1

THE EFFECT OF THE LEVONORGESTREL-RELEASING INTRAUTERINE SYSTEM AND THE COPPER-INTRAUTERINE DEVICE (TCU 380A) ON SUBENDOMETRIAL MICROVASCULARIZATION AND UTERINE ARTERY BLOOD FLOW

Mirela F. Jiménez, M.D.^a

Elisangela Arbo, M.D.^a

Daniela Vetori, M.D.^a

Fernando M. de Freitas Ph.D.^b

João S. L. Cunha-Filho Ph.D.^{a, b}

^aPrograma de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, UFRGS, Brazil.

^bObstetrics and Gynecology Department, Faculdade de Medicina, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS, Brazil.

All authors have nothing to disclose.

Correspondence:

Prof. Dr. João Sabino Cunha-Filho

Rua Ramiro Barcellos, 2350 sala 1124

CEP: 90035-003 Porto Alegre-RS-Brazil

Fone: +55 51 21018.117

E-mail: sabino@via-rs.net

Aceito para publicação na *Fertility and Sterility*, julho de 2007.

CAPSULE

Subendometrial microvascularization was not different between LNG-IUS and TCU 380A users. However, LNG-IUS reduced the uterine artery blood flow.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of LNG-IUS and TCU 380A on the subendometrial vascularization and the uterine artery blood flow during the midluteal phase.

Design: Prospective clinical trial (quasi-experimental).

Setting: Teaching Hospital.

Patients: The trial included 27 patients who received the levonorgestrel intrauterine system (LNG-IUS) compared to 25 patients who received the TCU 380A.

Interventions: The sub-endometrial blood flow was evaluated using power Doppler analysis, uterine artery pulsatility, and resistance index (PI and RI) just before inserting the intrauterine device (IUD) in the midluteal phase and three months after.

Main Outcome Measures: Power Doppler analysis, PI, RI, and endometrial thickness.

Results: There were no significant differences in subendometrial vascularization between the groups. PI and RI variability (before and after) increased and endometrial thickness reduced in LNG-IUS users. We used the multiple logistic regression model to examine the potential confounding bias (age and parity): LNG-IUS was independently associated with increased PI.

Conclusions: No subendometrial microvascularization difference was found between the groups. It is the first direct evidence that LNG-IUS reduced uterine artery blood flow, even after controlling for age and parity.

Key Words: Intrauterine devices; LNG-IUS; TCu 380A; Ultrasonography, Doppler, color; power Doppler, microvascular density.

INTRODUCTION

The levonorgestrel intra-uterine system (LNG-IUS) was originally developed for contraception, but it is also used to control excessive menstrual bleeding and has brought about a significant change in side-effects for IUD users. Fifteen percent of copper IUD users experienced increased menstrual blood loss. LNG-IUS, on the other hand, has markedly reduced blood loss¹ and others IUD-related side effects².

We and others investigators demonstrated that copper intrauterine devices do not induce any major changes in the uterine artery blood flow resistance^{3, 4}. However, in patients with increased menstrual pain after IUD insertion there seems to be a decrease in the uterine artery pulsatility index (PI)^{3, 5}. Using power Doppler analysis we also demonstrated an increase in subendometrial vascularization in patients presenting major side-effects (dysmenorrhea or menorrhagia)⁴.

In addition, the local endometrial effect was studied in several endometrial biopsies from LNG-IUS users which showed a significant change in endometrial vascularization, as demonstrated by a decrease in the mean vascular density and an increase in the mean vessel area⁶.

Indeed, there is some controversy regarding PI and RI in LNG-IUS users. Some studies suggest that there are no differences in PI before and after LNG-IUS insertion⁷; others⁸ demonstrate a PI increase in the midluteal phase.

The literature is absolutely scarce regarding the comparison of the hemodynamic effects of LNG-IUS and the copper IUD users. Some authors⁹ found no evidence of any PI difference between the groups, but the spiral artery flow was significantly reduced in LNG-IUS users.

Moreover, subendometrial and uterine vascularization studies in patients with LNG-IUS lack methodological and statistical consistence. Furthermore, the vast

majority had no proper control of one of the most important confounding biases: the menstrual cycle phase in which the ultra-sound examination was performed.

The aim of this study is to evaluate the effect of the LNG-IUS and TCU 380A on the subendometrial vascularization and the uterine artery blood flow using power Doppler analysis and ultrasonography pulsed color Doppler during the precise midluteal phase.

MATERIALS AND METHODS

Design

We performed a clinical trial (quasi-experimental).

Patients/Methodology

We prospectively enrolled 63 consecutive patients who wanted to use IUD (LNG-IUS or TCu 380A). We evaluated subendometrial blood flow using power Doppler analysis, uterine artery blood flow using pulsatility and resistance index and endometrial thickness before IUD insertion and three months later.

The inclusion criteria were: regularly menstruating women (menstrual cycle varying between 24-35 days); Normal serum TSH, FSH and prolactin levels (as measured on day-3) and under 40 years of age. Contraceptive pills or any kind of hormonal medication had not been taken for at least 3 months prior to the study and any intrauterine device had necessarily been removed at least 3 months earlier. Patients were not allowed to use non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) within 24 hours prior to any examination.

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

All patients were examined daily with US after the eighth day of the cycle, and follicular development was observed to confirm ovulation; they were then examined in the midluteal phase, 6-9 days after ovulation, to obtain the power Doppler energy (PDE) measurement, pulsatility index (PI), resistance index (RI) and endometrial thickness (ET) by ultrasound (US) scans. The study was approved by the Ethical Committee at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, IRB equivalent (# 02-127),

and informed consent was obtained from all patients. The authors do not have any conflict of interest

Patients were allocated into 2 groups according to the IUD: LNG-IUS (group A) or TCu 380A (group B).

Three months after, also in the midluteal phase (6-9 days after ovulation, confirmed by US), the same study protocol was repeated with all subjects.

The sonographic equipment used consisted of a SONOACE 9900 (Medison SA – Korea). The PDE, PI and RI were performed on a transvaginal route. The settings for Power Doppler sonography were standardized for the highest sensitivity in the absence of apparent noise using a high pass filter at 50 Hz, pulsed repetition frequency at 750 Hz, and moderate long persistence. The lowest possible measurable velocity was below 5 cm/s. The same investigator, using the same equipment and parameters, performed the sonography assessments so as to eliminate any interobserver variation. All exams were carried out between 08:00 and 10:00 a.m. in order to avoid interference from the circadian rhythm¹⁰.

Power Doppler energy was classified into 5 categories according to the subendometrial signal area percentage: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) and V (>75%)¹¹.

Statistics

Student *t* test was used for comparing age and body mass index (BMI). The Wilcoxon-Mann-Whitney (WMW) test was used to compare skewed data (PI, RI and ET) and Chi-Square test was used for categorical data (PDE). The PI, RI and ET difference (before and after IUD insertion) were analysed using the delta percentage ($\Delta\%$) using the following formula: $\{[(PI, RI \text{ or } ET \text{ value after LNG-IUS insertion}) - (PI, RI \text{ or } ET \text{ before LNG-IUS insertion})] \div (PI, RI \text{ or } ET \text{ before LNG-IUS insertion})\} \times 100$.

We used a multiple logistic regression model to examine outcome association (PI variability, before and after IUD insertion, categorized in percentile 50) and the independent variables: IUD (LNG-IUS or TCU 380A), age (years), and parity (0, 1 or >1). *P*-value < 0.05 was considered statistically significant. The power calculation before this study protocol required the inclusion of 19 patients for a PR=80%.

RESULTS

A total of 63 patients were included in our prospective study. A total of eleven patients were excluded: two patients had large ovarian cyst before IUD insertion, one had uterine miomatosis, one had polycystic ovarian syndrome and seven were anovulatory in two control cycles before IUD insertion. There were 27 patients in Group A (LNG-IUS) and 25 patients in the group B (TCu 380A).

The median (percentiles 25 and 75) of age (years), body mass index (BMI) (kg/m^2), pulsatility index (PI) and resistance index (RI) before IUD insertion was not different between the groups (table 1).

There were no significant changes in the Power Doppler subendometrial evaluation between groups after IUD insertion: P -value = 0.45 using Chi-square test (figure 1).

In order to evaluate the effect of the intra-uterine devices on uterine vascularization we analyzed the difference ($\% \Delta$) before and after IUD insertion in both groups. The PI and RI difference (before and after) were significantly increased in group A (LNG-IUS) ($P = 0.001$ and $P = 0.046$, respectively). Moreover, there was a significant reduction in endometrial thickness in group A (LNG-IUS) ($P < 0.001$) (Table 2).

Using the univariate analysis, LNG-IUS IUD was significantly associated with an increase in PI difference ($P = 0.015$; OR=4.25; CI: 1.33-13.56).

In addition, we used a multiple logistic regression model to examine any potential confounding bias. PI difference (before and after), categorized in percentile 50, was the dependent variable, and IUD (LNG-IUS or TCu 380A), age (years), and parity (0, 1 or >1) the independent variables. Even after controlling for age and parity the association remained significant ($P = 0.014$) (table 3): LNG-IUS is independently associated with an increased pulsatility index.

DISCUSSION

We clearly demonstrated that there is a significant decrease in the endometrial thickness after the LNG-IUS insertion, probably related to the main LNG-IUS effect in endometrial morphology: glandular atrophy associated with pseudodecidualization⁶. Moreover, it was not possible to detect the IUD effect on the uterine cavity by power Doppler analysis, as no changes were found in the power Doppler analysis, suggesting that power Doppler energy (in mid-luteal phase) was not able to identify the local progestational effect on endometrium vascularization.

Copper-intrauterine devices do not induce any major changes in the PI and RI of the uterine artery either; however Copper IUD-related menorrhagia and pain might be caused by decreased vascular resistance in the uterine artery with increased uterine blood flow^{3, 5, 12}.

Others¹³ evaluated the RI and PI before and 30 days after IUD insertion with no differences in the uterine artery blood flow. We have shown an increase in sub-endometrial vascularization in power Doppler analysis⁴ in patients with major IUD-related side-effects (dysmenorrhea or menorrhagia).

Several Doppler flow studies evaluated the hemodynamic changes in LNG-IUS users. Uterine artery pulsatility index was not different before or three months after LNG-IUS insertion in 10 women of fertile ages⁷. On the other hand, another study found that the LNG-IUS appear to be associated with an increase in blood flow resistance in the uterine arteries during the midluteal phase and also appears to be dependent on the concentration of circulating levonorgestrel after three months of used⁸.

The RI was increased in premenopausal women with menorrhagia after LNG-IUS insertion but not the PI and endometrial thickness¹⁴. In addition, Doppler flow

did not reveal any significant change in the uterine artery between the groups (LNG-IUS and copper IUD users), whereas there was a marked reduction in subendometrial blood flow (spiral artery) in LNG-IUS users⁹.

However, most of the studies on subendometrial and uterine vascularization in patients with LNG-IUS lack methodological and statistical consistence. The vast majority did not properly control one of the most important confounding biases: the phase of the menstrual cycle in which the ultra-sound examination was performed.

Some studies used a different duration of IUD use⁹ or a short period of use (30 days)¹³. In fact, the local progestative effect of the LNG-IUS on the endometrium was already manifested within a period of 3 months or more after insertion¹⁵ and there were differences in endometrium when comparing the first three months with long time users¹⁶.

We carried out this study in view of the different results regarding uterine and subendometrial blood flow in IUD users. It is the first study using precise midluteal phase: ovulation was confirmed by daily US. We observed a significant increase in the PI and RI difference after IUD insertion in LNG-IUS users meaning that levonorgestrel circulating levels affect uterine vascularization. Moreover, only one study evaluated the uterine blood flow in copper-IUD and LNG-IUS users⁹ and appeared to be contradictory: it did not reveal any significant change in the uterine artery between groups, but lacks precision in midluteal phase definition and also used different durations of IUD use.

We enrolled consecutive women without randomizing. There was no bias introduced since we controlled any likely confounding bias (age, parity) using a logistic regression model, furthermore there were no demographic characteristic differences.

Our study brings some important evidence to clarify the physiopathology of LNG-IUS and TCu 380A changes in menstrual patterns and side-effects in IUD users. As already assessed by Järvelä *et al* 1998¹⁴, the levonorgestrel circulating levels may antagonize normal uterine response to the midluteal rising estradiol levels leading to a decrease in uterine blood flow. Postmenopausal estrogen therapy has been shown to increase endometrial thickness and to reduce the uterine artery PI. This effect was gradually abolished within 6 months of LNG-IUS insertion, which is in accordance with our results: LNG-IUS increased PI and RI.

PI and RI were also studied in premenopausal women with menorrhagia after LNG-IUS insertion¹⁵ with RI increasing, but not PI and endometrial thickness. It has been shown earlier that levonorgestrel circulating levels tend to decline during when LNG-IUS¹⁷ is being used. Accordingly, it is possible that the increase in PI and RI observed in our study could be only temporary.

The increased impedance in uterine artery blood flow, demonstrated in our study, is one hypothesis to explain the action mechanism in pelvic pain relief in endometriosis^{18, 19} medicated with LNG-IUS: a reduction in pelvic vascular congestion.

In conclusion, LNG-IUS reduced uterine artery blood flow as evidenced by the RI and PI differences before and after IUD insertion using pulsed color Doppler ultrasonography. It is important to emphasize, however, that the multiple logistic regression model demonstrated that, even controlling for age and parity, a significant increase in the PI difference was associated with LNG-IUS. The used of PI and RI variability ($\Delta\%$) and the precise midluteal phase makes those differences evident. Moreover, there are no differences between LNG-IUS and copper-IUD users in the subendometrial microvascularization, as evidenced by power Doppler analysis.

REFERENCES

1. Andersson K, Odland V and Rybo G. Levonorgestrel-releasing and copper-releasing (Nova T) IUDs during five years of use: a randomized comparative trial. *Contraception* 1994; 49: 56-72
2. Rönnerdag M and Odland V. Health effects of long-term use of the intrauterine levonorgestrel-intrauterine-releasing system. A follow-up study over 12 years of continuous use. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 716-21.
3. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of a Copper-intrauterine Device on the Uterine Artery Blood Flow in Regularly Menstruating Women. *Hum Reprod* 1998; 13(7): 1841-1845.
4. Jiménez MF, Passos EP, Fagundes PAP, Freitas FM, Arbo E and Cunha-Filho JSL. Effect of the copper-intrauterine device (TCu 380A) on subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow. *Fertil and Steril* 2006; 86 (6): 1780-2.
5. Frajndlich R, von Eye Corleta H and Franz N. Color Doppler sonographic study of the uterine artery in patients using intrauterine contraceptive device. *J Ultrasound Med* 2000; 19: 577-579.
6. Jondet M, Letellier B and Verdys M. Endometrial vascularization in levonorgestrel intrauterine device users; computerized microvessel measurement study. *Contraception* 2005; 71: 60-64.
7. Pakarinen P, Luukkainen T, Laine H and Lahteenmaki P. The effect of local intrauterine levonorgestrel administration on endometrial thickness and uterine blood circulation. *Hum Reprod* 1995; 10: 2390-2394.
8. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of a Levonorgestrel-releasing Intrauterine System on Uterine Artery Blood Flow, Hormone Concentrations

and Ovarian Cyst Formation in Fertile Women. *Hum Reprod* 1998; 13 (12): 3379-3383.

9. Zalel Y, Shulman A, Lidor A, Mashiach S and Gamzu R. The local progestational effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system: a sonographic and Doppler flow study. *Hum Reprod* 2002; 17 (11): 2878-2880.
10. Zaidi J, Collins W, Campbell S, Pittrof R. and Tan SL. Blood flow changes in the intraovarian arteries during the periovulatory period: relationship to the time of day. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7 (2): 135-40.
11. Jiménez MF, Passos EP, Fagundes PAP, Magalhães JA, Palma-Dias R and Cunha-Filho JSL. Subendometrial power Doppler quantification: a new classification proposal. *Reproductive BioMedicine On line* 2005; 11(2): 232-235.
12. Momtaz M, Zayed M and Rashid K. Doppler study of the uterine artery in patients using an intrauterine contraceptive device. *Ultrasound Obstet. Gynecol* 1994; 4: 231-4.
13. Souza MA and Geber S. Doppler color flow analysis of the uterine arteries before and after intrauterine devices insertion: a prospective study. *J Ultrasound Med* 2006; 25 (2): 153-157.
14. Haberal A, Kavikcioglu F, Gunes M, Kaplan M and Ozdegirmenci O. The effect of the levonorgestrel intrauterine system on uterine artery blood flow 1 year after insertion. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27 (3): 316-319.
15. Zalel Y, Gamzu R, Shulman A, Achiron R, Schiff G and Lidor A. The progestative effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system-when does it manifest? *Contraception* 2003; 67: 473-476.

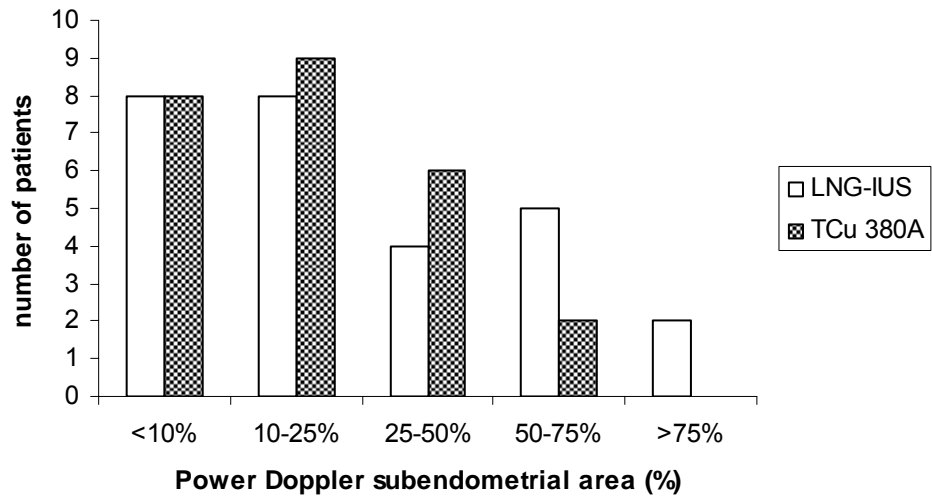
16. Burton KA, Henderson TA, Hillier SG, Mason JI, Habit F, Brenner RM *et al.* Local levonorgestrel regulation of androgen receptor and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in human endometrium. *Hum Reprod* 2003; 18 (12): 2610- 2617.
17. Nilsson CG, Lahteenmaki P, Robertson DN and Luukkainen T. Plasma concentrations of levonorgestrel as a function of the release rate of levonorgestrel from medicated intra-uterine device. *Acta Endocrinol* 1980; 93 (3): 380-384.
18. Petta CA, Ferriani RA, Abrão MS, Hassan D, Rosa e Silva JC, Pdgaec S *et al.* Randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a depot GnRH analogue for the treatment of chronic pelvic pain in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2005; 20 (7):1993-8.
19. Bahamondes L, Petta CA, Fernandes A and Monteiro I. Use of the levonorgestrel-releasing intrauterine system in women with endometriosis, chronic pelvic pain and dysmenorrheal. *Contraception* 2007; 75 (6S): S134-9.

Table 1. The demographic characteristics, pulsatility index (PI) and resistance index (RI) of the 52 women before IUD insertion: median (percentiles 25 and 75).

	LNG-IUS (n=27)	TCu 380A (n=25)	<i>P</i> -value
Age (years)	30.00 (27-36)	30.00 (24.5-33)	0.16
BMI (kg/m ²)	22.22 (19.98-24.97)	23.30 (20.10-27.63)	0.43
PI	2.12 (1.85-3.04)	2.70 (1.95-3.61)	0.16*
RI	0.81 (0.76-0.90)	0.87 (0.83-0.93)	0.15*

Student-*t* test

Figure 1. Subendometrial power Doppler analysis comparison between groups: LNG-IUS users and TCu 380A users.



Chi-Square Test $P = 0.45$

Table 2. Comparison of % Δ (before and after IUD insertion) in the pulsatility index (PI), resistance index (RI) and endometrial thickness (ET) between LNG-IUS and TCu 380A users. Mean (SEM).

	LNG-IUS users (n=27)	TCu 380A users (n=25)	<i>P</i> -value
PI (% Δ)	0.65 (0.15)	-0.22 (0.21)	0.001
RI (% Δ)	0.05 (0.01)	0.003 (0.01)	0.046
ET (% Δ)	-3.15 (0.39)	1.88 (0.39)	<0.001

Wilcoxon-Mann-Whitney (WMW)

Table 3. Multiple logistic regression model. Dependent variable: % Δ PI (before and after IUD insertion) categorized in percentile 50. Independent variables: IUD type (LNG-IUS or TCu 380A), age (years) and parity (0, 1 or >2).

Independent variable	Odds ratio	95% CI for exp B	<i>P</i> -value
IUD (LNG-IUS or TCu 380A)	5.54	1.41 – 21.67	0.014
Age (years)	0.99	0.89 – 1.12	0.83
Parity	1	-	0.15
Parity (1)	4.63	0.88 – 24.42	0.071
Parity (>1)	1.37	0.27-7.03	0.71

Financial support: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Grupo de Pós-Graduação e Pesquisa (GPPG); Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) – Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, UFRGS.

7. ARTIGO 2

SUBENDOMETRIAL MICROVASCULARIZATION AND UTERINE ARTERY BLOOD FLOW IN IUD-INDUCED SIDE-EFFECT (LEVONORGESTREL- INTRAUTERINE SYSTEM AND COPPER-INTRAUTERINE DEVICE)

Mirela F. Jiménez, M.D.^a

Daniela Vettori, M.D.^a

Paulo A. P. Fagundes, M. D

Fernando M. de Freitas Ph.D.^b

João S. L. Cunha-Filho Ph.D.^{a, b}

^aPrograma de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, UFRGS, Brazil.

^bObstetrics and Gynecology Department, Faculdade de Medicina, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS, Brazil.

All authors have nothing to disclose.

Correspondence:

Prof. Dr. João Sabino Cunha-Filho

Rua Ramiro Barcellos, 2350 sala 1124

CEP: 90035-003 Porto Alegre-RS-Brazil

Fone: +55 51 21018.117

E-mail: sabino@via-rs.net

Submetido para publicação na *Contraception*, julho de 2007.

ABSTRACT

The aim of the study was to quantify the subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow in IUD-induced side-effects, using power Doppler analysis and pulsatility index (PI) and resistance index (RI) in the precise midluteal phase three months after IUD insertion (LNG-IUS or TCu 380A). We show that there is an increase subendometrial blood flow in patients with severe dysmenorrhea and/or bleeding, even controlling for IUD-type, age and parity. Moreover, the PI and RI were not different in those patients. The results provide new data on the bleeding patterns related to these IUD types that may be relevant during contraception use. This method could be used as a prognostic factor to better evaluate those patients at the risk of developing dysmenorrhea and/or bleeding after IUD insertion.

INTRODUCTION

The levonorgestrel-releasing intrauterine system (LNG-IUS) was developed for contraception and enables a dramatic reduction in menstrual bleeding¹. However, it induces some bleeding disturbances including unexpected breakthrough bleeding², and this is an important reason for discontinuation rates^{3, 4, 5, 6, 7}.

Moreover, the most important copper intrauterine device related side-effects are uterine bleeding and/or menstrual pain. Fifteen per cent of copper-IUD experienced an increase menstrual blood loss. In fact, LNG-IUS and copper-IUD side-effects often directly affect compliance and consequently the continuation rates of both methods^{3, 4, 5, 6, 7}.

The local endometrial effect was studied in several endometrial biopsies from LNG-IUS users and there was a significant change in endometrial vascularization, as demonstrated by a decrease in the mean vascular density and the increase in mean vessel area⁸, suggesting an endometrial effect. The mechanism involved in breakthrough bleeding remains unclear⁹.

A better understanding of the uterine and endometrial vascularization in IUD-induced side-effect is clearly of paramount importance in terms of both physiological and pathophysiological changes and may permit assessment for future therapeutic treatments.

Copper intrauterine devices do not induce any major changes in the resistance of the uterine artery blood flow^{9, 10}; however, in patients with increase menstrual pain after the IUD insertion, there seems to be a decrease in the uterine artery pulsatility index (PI)^{10, 12}.

Using power Doppler analysis we clearly demonstrated an increase in subendometrial vascularization in patients with major side-effects (dysmenorrhea and/or bleeding), as demonstrated by multiple logistic regression model¹¹. To exclude a possible effect of menstrual cycle day from the results, all patients were

examined daily by US, and follicular development was observed to confirm ovulation. It is important to emphasize that the multiple logistic regression model demonstrated that, even controlling for age and parity, subendometrial vascularization was the only variable associated with dysmenorrhea and/or bleeding.

Nowadays, there are few published studies comparing haemodynamic effects in patients with IUD related side-effect in LNG-IUS and copper IUD. In addition, the vast majority did not properly control one of the most important confounding biases: the phase of the menstrual cycle in which the ultrasound examination was done.

The aim of the study was to use power Doppler analysis, resistance and pulsatility index to quantify the subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow in patients with IUD-induced side-effects (LNG-IUS and TCu 380A).

MATERIALS AND METHODS

Design:

Clinical trial (quasi-experimental).

Patients/Methodology:

We prospectively enrolled 63 consecutive patients who want to use IUD (LNG-IUS or TCu 380A) at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil. We evaluated the subendometrial blood flow using power Doppler energy (PDE), uterine artery blood flow using pulsatility (PI) and resistance index (RI) right before IUD insertion in the precise midluteal phase and three months later.

The inclusion criteria were: regularly menstruating women (menstrual cycle varying between 24-35 days); and normal serum TSH, FSH and prolactin levels (as measured on day 3) and less than 40 years old. Contraceptive pills or any kind of hormonal medication had not been taken for at least 3 months prior to the study and any intrauterine device had necessarily been removed at least 3 months

earlier. Patients were not allowed to use non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) within 24 h prior to any examination.

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

All patients were daily examined with ultrasound (US) after the eighth day of the cycle, and follicular development was observed to confirm ovulation; they were then examined in the midluteal phase, 6-9 days after ovulation, to obtain the PDE measurement, PI, RI and ET by US scans. Three months after the IUD insertion (LNG-IUS or TCu 380A), still during the midluteal phase (6-9 days after ovulation, confirmed by US), all subjects repeated the same study protocol as previously described. The study was approved by the Ethical Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, IRB equivalent (# 02-127) and informed consent was obtained from all patients. The authors do not have any conflict of interest.

The sonographic equipment used in the examination consisted of a SONOACE 9900 (Medison SA – Korea). The PDE, PI and RI were performed on a transvaginal route. The settings for Power Doppler sonography were standardized for the highest sensitivity in the absence of apparent noise using a high-pass filter at 50 Hz, pulsed repetition frequency at 750 Hz, and moderate long persistence. The lowest possible measurable velocity was below 5 cm/s. The same investigator, using the same equipment and parameters, performed the sonography assessments so as to eliminate any interobserver variation. All exams were carried out between 8 and 10 a.m. in order to avoid interference of the circadian rhythm¹³.

Power Doppler energy was classified into 5 categories according to the subendometrial signal area percentage: I (<10%), II (10-25%), III (25-50%), IV (50-75%) and V (>75%)¹⁴.

For further analysis of the IUD-induced side-effects group, we divided PDE results into two groups: the first contained those patients with minor subendometrial vascularization (PDE classification I and II), and the second include those with major subendometrial vascularization (PDE classification III, IV and V). We used the PI and RI difference before and after because we do not have the definition of the normal PI and RI. The PI and RI difference (before and after IUD insertion) were analyzed using the delta percentage ($\Delta\%$) using the following formula: $\frac{\{(PI \text{ or RI value after LNG-IUS insertion}) - (PI \text{ or RI before LNG-IUS insertion})\}}{(PI \text{ or RI before LNG-IUS insertion})} \times 100$. It is important to evaluate the LNG-IUS and TCU 380A effect in uterine vascularization comparing the differences of two exams in the same patient (before and after IUD insertion). The PI and RI difference before and after were divided in two groups using percentile 50: those with low or high flow impedance.

Dysmenorrhea and excessive bleeding were considered if it was severe enough for treatment, looking for gynecology emergency or considering IUD removal.

Statistics:

The Student-*t* test was used for comparing age and BMI. The Fisher's exact test was used for categorical data. We used multiple logistic regression model to statistically adjust for potential confounding bias (IUD type, age and parity). *P*-value < 0.05 was considered statistically significant. The power calculation before this study protocol required the inclusion of 19 patients for a $Pr=80\%$, considering PI and RI as the primary endpoints.

RESULTS

In total, 63 patients were included in our prospective study. Eleven patients were excluded: two had large ovarian cyst before IUD insertion, one had uterine

miomatosis, one had polycystic ovarian syndrome and seven were anovulatory in two control cycles before IUD insertion. There were 27 patients in Group A (LNG-IUS) and 25 patients in Group B (TCu 380A).

The mean (standard deviation) of age (years) and body mass index (BMI) (kg/m^2) were not different between the Group A and B (table1). Copper intrauterine devices users do not have amenorrhea or ovarian cyst. Seven of the 52 patients either felt that the amount of menstrual bleeding had increased, or had severe menstrual pain after the IUD insertion (5 with pain, and 2 with bleeding and 2 with both). The IUD was removed from two patients who experienced side-effects: one due to excessive menstrual bleeding, and the other due to severe pain. Seven patients were anovulatory in LNG-IUS group and none in TCu 380A group. There were significant differences in severe dysmenorrhea and/or excessive bleeding in TCu 380A users ($P = 0.004$). The amenorrhea rate was greater in the LNG-IUS users ($P = 0.01$). The difference was not significant between the groups in frequency of unscheduled breakthrough bleeding, device-related removals and ovarian cysts ($P = 0.19$, $P = 0.23$ and $P = 0.49$, respectively) (Table 1).

There was an increase in subendometrial blood flow in patients with severe dysmenorrhea and/ or bleeding in univariate analysis ($P = 0.026$). In addition, we used a multiple logistic regression model to examine some potential confounding bias. IUD-induced side-effects were (dysmenorrhea and/or bleeding) the dependent variable, and power Doppler analysis (minor and major subendometrial vascularization), IUD (LNG-IUS or TCu 380A), age (years), and parity (0, 1 or >1) the independent variables. There was an increase subendometrial blood flow in patients with severe dysmenorrhea and/ or bleeding, even after control for IUD-type, age and parity ($P = 0.018$) (Table 2).

With univariate analysis, patients with dysmenorrhea and/ or bleeding (the dependent variable) were not associated with the change in PI or RI categorized in

percentile 50 (the independent variable) ($P = 0.24$ and $P = 0.10$, respectively). The PI or RI were not different in patients with dysmenorrhea and/or bleeding even after controlling for IUD type (multiple logistic regression model) ($P = 0.82$ and $P = 0.26$, respectively).

DISCUSSION AND CONCLUSION

The purpose of our study was to elucidate the uterine hemodynamic effects in patients with IUD-induced side-effects. We studied LNG-IUS and copper IUD endometrial effect during the precise midluteal phase and we clearly demonstrated that there is a significant increase in subendometrial blood flow in patients who presented IUD-related side-effects (severe dysmenorrhea and/or bleeding).

Furthermore, by using multiple logistic regression model we demonstrated that subendometrial vascularization was increased in patients with IUD-induced side-effects, even after controlling for IUD type (LNG-IUS or TCu 380A), age and parity. Moreover, the uterine artery blood flow was not different in those patients who presented IUD-induced side-effects (dysmenorrhea and/or excessive bleeding), as evidenced by PI and RI even controlling for IUD-type.

Color Doppler studies¹⁵ have showed an increase in blood flow resistance in the uterus of patients with primary dysmenorrhea. Moreover, others studies show that there is no change in the uterine artery PI during midluteal phase after the insertion of a copper-intrauterine device^{10, 11, 16}, but there was a decrease in PI after an IUD insertion in patients with increase menstrual pain, suggesting an increase blood flow to the uterus in those patients^{9, 16}. During menses (first or second cycle days) there was a significant increase in uterine artery blood flow in patients who presented copper-IUD side-effects, as indicated by the decreased PI and RI¹².

In agreement with those studies, we have demonstrated in previous papers¹¹ that patients with copper-IUD related side-effects (dysmenorrhea or menorrhagia) show an increase in subendometrial vascularization in power Doppler analysis,

suggesting that power Doppler analysis could identify some vascular abnormalities in midluteal phase in those patients. It would seem that IUD related side-effects are more associated with an increase blood flow to the uterus and this could be evidenced by power Doppler analysis using a very simple and reproducible classification¹⁴.

However, some studies suggest that there are no differences in PI before and after the LNG-IUS insertion¹⁸; on the other hand, others¹⁹ demonstrated an increase in PI during the midluteal phase and also appear to be dependent on the circulating levonorgestrel concentration after a three-month use.

Comparing two groups of IUD users (LNG-IUS and TCU 380A) the Doppler flow study did not reveal any significant changes in the uterine artery, whereas there was a marked reduction in subendometrial blood flow (spiral artery) in LNG-IUS users²⁰.

The reason for some controversial results on PI and RI in LNG-IUS users may be the lack of precision in accessing the midluteal phase in the majority of papers^{10, 15, 16, 19, 21} and the different times of IUD use^{16, 20} as the local progestative effect of the LNG-IUS on the endometrium is already manifested within a period of 3 months and more after insertion²², and there are differences in endometrium when comparing the use in the first three months with the use by longtime users²³. In order to exclude these possible biases, we carefully designed a study using the precise midluteal phase using daily ultrasound record and setting up the use duration at three months. We used the PI and RI difference (before and after IUD insertion) as we do not have normal values definition for PI and RI measurements in IUD users.

Considering that we did not find any major side-effects (dysmenorrhea or menorrhagia) in LNG-IUS users, our results are in accordance with our previous

paper¹¹: one of the most important physiopathological aspects of IUD-side-effects is its subendometrial vascularization.

In conclusion, subendometrial vascularization was increased in patients with IUD-induced side-effects, controlling for IUD-type (LNG-IUS or TCu 380A), age and parity. This method could be used as a prognostic factor to better evaluate those patients at the risk of developing dysmenorrhea and/or excessive bleeding after IUD insertion.

Financial support: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Grupo de Pós-Graduação e Pesquisa (GPPG); Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) - Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, UFRGS.

Table 1. Side-effects: comparison between LNG-IUS and TCu 380A. The age and BMI results are expressed mean (SD).

	LNG-IUS (group A)	TCu 380A (group B)	<i>P</i> -value
Age (years)	31 (5.62)	29 (5.73)	0.16 ^a
BMI (Kg/m ²)	23 (4.24)	24 (4.57)	0.43 ^a
Menorrhagia and/or dysmenorrhea	0	7	0.004 ^b
Unscheduled breakthrough bleeding	5	1	0.19 ^b
Amenorrhea	7	0	0.01 ^b
Device-related removals	0	2	0.23 ^b
Ovarian cysts	2	0	0.49 ^b
Number of patients	27	25	

^aStudent-*t* test

^bFisher's Exact Test

Table 2. Multiple logistic regression model. Dependent variable: Menorrhagia and/or dysmenorrhea. Independent variables: Power Doppler categorized, IUD type (LNG-IUS or TCU 380A), age (years) and parity (0, 1 or >2).

Independent variable	Odd ratio	95% CI for exp B	P-value
Power Doppler categorized	22.38	1.69 – 296.07	0.018
IUD (LNG-IUS or TCU 380A)	0.03	0.001 – 0.63	0.024
Age (years)	1.00	0.83 – 1.21	0.96
Parity	1	-	0.34
Parity (1)	1.97	0.16 – 24.89	0.60
Parity (>1)	0.24	0.01 - 6.33	0.40

REFERENCES

1. Andersson K, Odland V and Rybo G. Levonorgestrel-releasing and copper-releasing (Nova T) IUDs during five years of use: a randomized comparative trial. *Contraception* 1994; 49: 56-72
2. Rönnerdag M and Odland V. Health effects of long-term use of the intrauterine levonorgestrel-intrauterine-releasing system. A follow-up study over 12 years of continuous use. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 716-21.
3. French RS, Cowan FM, Mansour D et al. Levonorgestrel releasing (20 microgram/day) intrauterine systems (Mirena) compared with other methods of reversible contraceptives. *BJOG* 2000; 107: 1218-1225.
4. Díaz J, Faúndes A, Díaz M and Marchi N. Evaluation of the clinical performance of a levonorgestrel-releasing IUD, up to seven years of use, in Campinas, Brazil. *Contraception* 1993; 47 (2): 169-75.
5. Sivin I, Mahgoub, McCarthy T, Mishell D R, Shoupe D, Faúndes A et al. Long-term contraception with the levonorgestrel 20 mcg/day (LNg 20) and copper T 380Ag intrauterine devices: a five-year randomized study *Contraception* 1990; 42 (4): 361-78.
6. Estanislau do Amaral MC, Hardy E, Hebling E M and Faúndes A. Menstruation and amenorrhea: opinion of Brazilian women. *Contraception* 2005; 72 (2): 157-61.
7. French RS, Cowan FM and Mansour D. Levonorgestrel releasing (20 microgram/day) intrauterine systems (Mirena) compared with other methods of reversible contraceptives. *BJOG* 2000; 107: 1218-1225.
8. Jondet M, Letellier B and Verdys M. Endometrial vascularization in levonorgestrel intrauterine device users; computerized microvessel measurement study. *Contraception* 2005; 71: 60-64.

9. Jensen JT. Contraceptive and therapeutic effects of the levonorgestrel intrauterine system: an over view. *Obstet Gynecol Surv* 2005; 60 (9): 604-612.
10. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of a Copper-intrauterine Device on the Uterine Artery Blood Flow in Regularly Menstruating Women. *Hum Reprod* 1998; 13(7): 1841-1845.
11. Jiménez MF, Passos EP, Fagundes PAP, Freitas FM, Arbo E and Cunha-Filho JSL. Effect of the copper-intrauterine device (TCu 380A) on subendometrial microvascularization and uterine artery blood flow. *Fertil and Steril* 2006; 86 (6): 1780-2.
12. Frajndlich R, von Eye Corleta H and Franz N. Color Doppler sonographic study of the uterine artery in patients using intrauterine contraceptive device. *J Ultrasound Med* 2000; 19: 577-579.
13. Zaidi J, Collins W, Campbell S, Pittrof R. and Tan SL. Blood flow changes in the intraovarian arteries during the periovulatory period: relationship to the time of day. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7 (2): 135-40.
14. Jiménez MF, Passos EP, Fagundes PAP, Magalhães JA., Palma-Dias R and Cunha-Filho JSL. Subendometrial power Doppler quantification: a new classification proposal. *Reproductive BioMedicine On line* 2005; 11(2): 232-235.
15. Pirhonen J and Pulkkinen M The effect of nimesulide and naproxen on the uterine and ovary arterial blood flow velocity. A Doppler study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74 (7): 549-53.
16. Souza MA and Geber S. Doppler color flow analysis of the uterine arteries before and after intrauterine devices insertion: a prospective study. *J Ultrasound Med* 2006; 25 (2): 153-157.

17. Momtaz M, Zayed M and Rashid K. Doppler study of the uterine artery in patients using an intrauterine contraceptive device. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1994; 4: 231-4.
18. Pakarinen P, Luukkainen T, Laine H and Lahteenmaki P. The effect of local intrauterine levonorgestrel administration on endometrial thickness and uterine blood circulation. *Hum Reprod* 1995; 10: 2390-2394.
19. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of a Levonorgestrel-releasing Intrauterine System on Uterine Artery Blood Flow, Hormone Concentrations and Ovarian Cyst Formation in Fertile Women. *Hum Reprod* 1998; 13 (12): 3379-3383.
20. Zalel Y, Shulman A, Lidor A, Mashiach S and Gamzu R. The local progestational effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system: a sonographic and Doppler flow study. *Hum Reprod* 2002; 17 (11): 2878-2880.
21. Järvelä I, Tekay A and Jouppila P. The Effects of Diclofenac on Uterine Artery Blood Flow Resistance During Menstruation in Patientes With and Without a Copper Intrauterine Devices. *Hum Reprod* 1998; 13 (9): 2480-2483.
22. Zalel Y, Gamzu R, Shulman A, Achiron R, Schiff G and Lidor A. The progestative effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system-when does it manifest? *Contraception* 2003; 67: 473-476.
23. Burton KA, Henderson TA, Hillier SG, Mason JI, Habit F, Brenner RM et al. Local levonorgestrel regulation of androgen receptor and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in human endometrium. *Hum Reprod* 2003; 18 (12): 2610- 2617.

8. CONCLUSÕES

Não houve diferença significativa na vascularização sub-endometrial avaliada através do *power* Doppler entre as usuárias de DIU com levonorgestrel e com cobre.

Houve aumento nos índices de pulsatilidade e resistência das artérias uterinas nas usuárias de DIU com levonorgestrel, quando comparadas às usuárias de DIU com cobre. Na análise com o modelo de regressão logística múltiplo demonstramos que, mesmo controlando para idade e paridade, houve um aumento significativo na resistência ao fluxo vascular das artérias uterinas nas usuárias de DIU com levonorgestrel.

Por outro lado, houve redução na espessura endometrial nas pacientes com DIU com levonorgestrel.

A vascularização sub-endometrial aumentou nas pacientes que apresentaram dismenorréia e/ou sangramento associados ao uso de DIU, mesmo controlando para o tipo de DIU, idade e paridade, usando o modelo de regressão logística múltiplo.

As pacientes que apresentaram para-efeitos com o uso do DIU não tiveram alterações nos IP e IR das artérias uterinas, mesmo controlando para o tipo de DIU, na regressão logística múltipla.

HIPÓTESES

Aceitamos a hipótese nula 1 ($H_0 1$), pois não existe diferença na vascularização sub-endometrial entre usuárias de DIU com levonorgestrel e DIU com cobre.

Rejeitamos a hipótese nula 2 ($H_0 2$), pois existe redução de fluxo nas artérias uterinas e na espessura endometrial nas usuárias de DIU levonorgestrel.

Rejeitamos a hipótese nula 3 ($H_0 3$), pois existe aumento na vascularização sub-endometrial em pacientes que apresentam para-efeitos induzidos pelo DIU.

Aceitamos a hipótese nula 4 ($H_0 4$), pois não existe diferença na vascularização das artérias uterinas em pacientes que apresentarem para-efeitos induzidos pelo DIU com levonorgestrel e com cobre.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da avaliação da vascularização sub-endometrial com a técnica de *power* Doppler permite identificar aumento de fluxo sanguíneo nas pacientes que apresentaram para-efeitos induzidos pelo DIU, independente do tipo de DIU usado (com cobre ou com levonorgestrel). As pacientes que não apresentaram para-efeitos não tiveram modificação na vascularização sub-endometrial após três meses de uso, sendo elas usuárias de DIU com cobre ou DIU com levonorgestrel.

As usuárias de DIU com levonorgestrel, por outro lado, apresentam aumento significativo nos IR e IP, provavelmente relacionado aos níveis séricos de progesterona liberados nos primeiros meses de uso.

O uso de maior precisão na definição da fase lútea média, de tempo fixo para a reavaliação, do uso da diferença antes e depois nos IR e IP permitiu identificar estas modificações.

O estudo não foi randomizado, mas realizamos a análise de variáveis conhecidas que seriam potenciais fatores de confusão, como idade, paridade e IMC e observamos que não houve diferença entre os dois grupos. Utilizamos também o modelo de regressão logística múltiplo para controle das possíveis variáveis de confusão e os resultados não se alteraram.

10. PERSPECTIVAS

A partir destes resultados podemos estender o estudo da fisiologia uterina e endometrial realizando novas pesquisas com *power* Doppler e Dopplervelocimetria colorida em outras fases do ciclo menstrual, tais como, folicular precoce, folicular média e peri-ovulatória. Estudos da micro-circulação endometrial e das artérias uterinas deverão ser realizados em outras populações específicas como as de adolescentes, puérperas e pacientes no climatério e correlacionar os resultados com os níveis séricos de levonorgestrel ao longo dos anos de uso do DIU.

Novas tecnologias, como a angiografia 3-D, também tem sido estudada, para obter dados quantitativos da vascularização endometrial e poderão ser estudadas em usuárias de DIU com cobre e levonorgestrel.

Marcadores bioquímicos endometriais, como as citoquinas, integrinas, IGF, fatores angiogênicos, entre outros, devem ser mais investigados em usuárias de DIU com cobre e levonorgestrel, pois os seus mecanismos de ação não estão, ainda, completamente esclarecidos e poderão ser correlacionados com os achados de vascularização uterina e endometrial.

11. ANEXOS

ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

ANEXO 2: FICHA DE COLETA DE DADOS DAS PACIENTES

ANEXO 3: FICHA DE COLETA DE DADOS DA VASCULARIZAÇÃO

ANEXO 4: ESCORE DE HIGHAM (ESCALA VISUAL)

ANEXO 5: ÍNDICES DE PULSATILIDADE E DE RESISTÊNCIA

ANEXO 6: *POWER DOPPLER*

ANEXO 7: BULAS DOS DISPOSITIVOS UTILIZADOS NA PESQUISA

ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Eu, _____

Recebi todas as informações de forma clara e objetiva para participar do projeto de pesquisa “Avaliação da vascularização sub-endometrial e dos índices de resistência e pulsatilidade avaliados pela dopplervelocimetria em mulheres com dispositivo intra-uterino (DIU)”. Sei que, durante o estudo, realizarei exames de ecografia. Fui orientada a solicitar ao meu parceiro o uso de preservativo masculino. Caso ele se recuse a usar, ou for de minha preferência, a usar preservativo feminino.

Como benefício, estarei utilizando um método anticonceptivo (para não engravidar) eficaz e seguro. Como risco, poderei ter aumento nas cólicas menstruais ou no sangramento (se usar DIU com cobre) ou até ficar sem menstruar (se usar DIU com hormônio levonorgestrel). Embora seja raro poderá ocorrer perfuração uterina ou infecção pélvica. Poderá ocorrer expulsão do DIU, que eu poderei não perceber. O risco de falha (risco de engravidar) é de 1,9%, visto em estudos com 12 anos de seguimento de usuárias de DIU.

Fui orientada a procurar o ambulatório de ginecologia na zona 6 do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), na 3ª ou 5ª feira pela manhã em caso de dúvidas, alterações ou simplesmente pelo desejo de retirar o DIU. Fui orientada a procurar a Emergência Ginecológica do HCPA, caso apresente dor forte, febre, sangramento abundante, sinais ou diagnóstico de gestação.

O meu tratamento não será diferente porque estou participando deste estudo e, em qualquer momento, poderei solicitar mais informações à equipe médica e, quando eu quiser, poderei sair desta pesquisa sem prejuízo ao meu tratamento futuro nos locais onde sou atendida.

Assinatura da paciente: _____

Assinatura do investigador: _____

Nome do investigador: Mirela Foresti Jiménez.

Telefone do Hospital de Clínicas (Serviço de Ginecologia) para dúvidas: 3316-8117

Telefone do investigador: 96780427 (Dra. Mirela Foresti Jiménez)

Projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pós-Graduação e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre como número: 02-127.

Data: ___/___/_____

ANEXO 2: FICHA DE COLETA DE DADOS DAS PACIENTES

Registro: _____ Telefone: _____ Celular: _____

Endereço: _____

Idade: _____ Data de nascimento: _____ Peso: _____ Altura: _____

Solteira: _____ casada: _____ união estável: _____ duração da relação: _____

Menarca: _____ IRS: _____ GESTA: _____ PARA: _____

(PN: _____ Cesárea: _____) Aborto: _____ (esp.: _____prov.: _____)

Uso de preservativo feminino: _____ Preservativo masculino: _____

Anticoncepção prévia: _____ qual: _____ tempo de uso: _____

Intervalo entre os ciclos: _____ duração do fluxo: _____

Presença de dismenorréia: _____ intensidade: _____

Fluxo (escore de HIGHAM) (ver anexo 2): _____

História pessoal:

Alergia		Vasculopatia	
Alergia ao cobre		Tabagismo	
HAS		Cardiopatia	
DM		Drogas	
LES		Outras doenças	
DIP		CA ginecológico	
Epilepsia			

EXAMES COMPLEMENTARES ANTES DA COLOCAÇÃO DO DIU:

EXAME	DATA	RESULTADO
Hematócrito		
Hemoglobina		
TSH		
FSH		
Prolactina		
VDRL		
Ecografia pélvica transvaginal		Data da ovulação
CP de colo uterino		

Data da Inserção do DIU: _____ Tipo de DIU: _____ Histerometria: _____

SEGUIMENTO (3 MESES):

Data: _____

Peso: _____ Altura: _____

Intervalo entre os ciclos: _____ duração do fluxo: _____

Presença de dismenorréia: _____ intensidade: _____

Fluxo (escore de HIGHAM) (ver anexo 4): _____

Uso de preservativo: _____

EXAMES	DATA	RESULTADO
Ecografia pélvica transvaginal		Data da ovulação
Power Doppler, IR e IP		Ver anexo 3
Hematócrito		
Hemoglobina		

COMPLICAÇÕES/INTERCORRÊNCIAS

Gestação intra-uterina	
Gestação ectópica	
Expulsão	
Perfuração	
Dor/intensidade/tratamento	
Doença inflamatória pélvica	
Consulta em emergência ginecológica por dor ou sangramento	
Desejo de retirar o DIU/motivo	
Retirada do DIU/motivo	

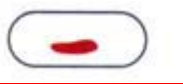





ANEXO 3: FICHA DE COLETA DE DADOS DA VASCULARIZAÇÃO

AVALIAÇÃO DA VASCULARIZAÇÃO UTERINA E SUB-ENDOMETRIAL EM USUÁRIAS DE DIU

NOME: _____
PESO: _____ ALTURA: _____

EXAME INICAL	TRÊS MESES DEPOIS DA INSERÇÃO
	TIPO DE DIU: <input type="checkbox"/> MIRENA® <input type="checkbox"/> TCu 380A®
DATA: _____ DUM: _____ DATA DA OVULAÇÃO: _____ ESPESSURA ENDOMETRIAL: _____	DATA: _____ DUM: _____ DATA DA OVULAÇÃO: _____ ESPESSURA ENDOMETRIAL: _____
POWER DOPPLER: <input type="checkbox"/> <10% <input type="checkbox"/> 10-25% <input type="checkbox"/> 25-50% <input type="checkbox"/> 50-75% <input type="checkbox"/> >75%	POWER DOPPLER: <input type="checkbox"/> <10% <input type="checkbox"/> 10-25% <input type="checkbox"/> 25-50% <input type="checkbox"/> 50-75% <input type="checkbox"/> >75%
ARTÉRIAS UTERINAS: IRD: _____ IRE: _____ IPD: _____ IPE: _____	ARTÉRIAS UTERINAS: IRD: _____ IRE: _____ IPD: _____ IPE: _____

ANEXO 4: ESCORE DE HIGHAM (ESCALA VISUAL)

Registro:		DN:								
Data:		Dias de menstruação								
Absorvente ou tampão		1	2	3	4	5	6	7	8	Pontos
	1 ponto									
										
	5 pontos									
										
	20 pontos									
										
Presença de coágulos										
Transbordamento										
									Total de pontos	

- Durante a menstruação, anotar no dia correspondente, a que corresponde ao grau de impregnação de sangue do absorvente ou tampão.
- Um escore superior a 100 pontos corresponde a um sangramento superior a 80 ml (definição de menorragia).

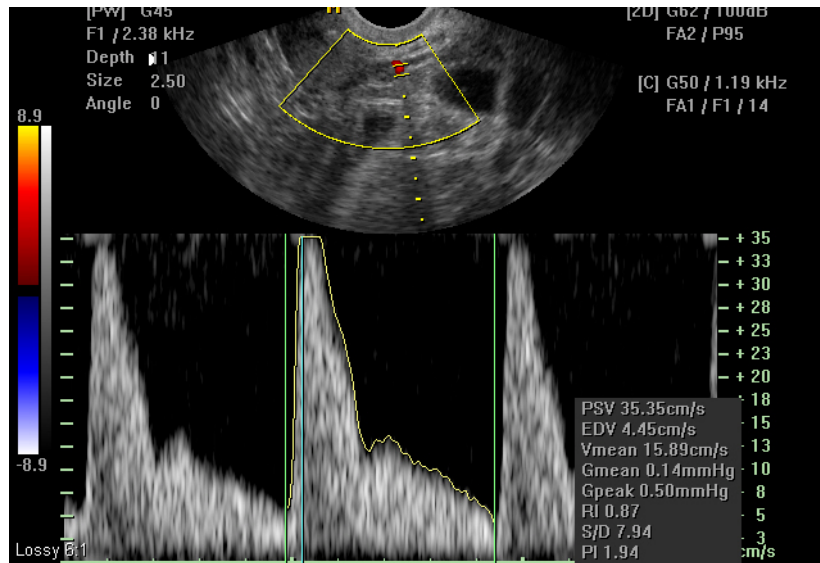
ANEXO 5: ÍNDICES DE PULSATILIDADE E DE RESISTÊNCIA

$$IP = (S-D) \div Vm$$

$$IR = (S-D) \div S$$

IP = 1,94

IR = 0,87



IP: índice de pulsatilidade

IR: índice de resistência

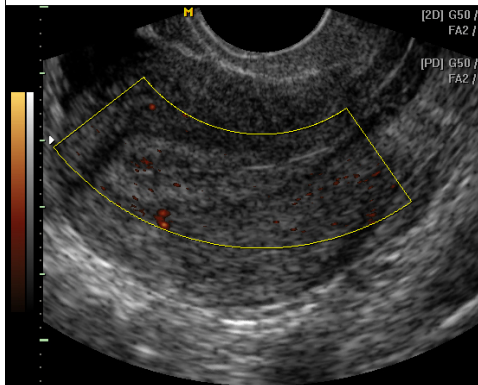
S: sístole

D: diástole

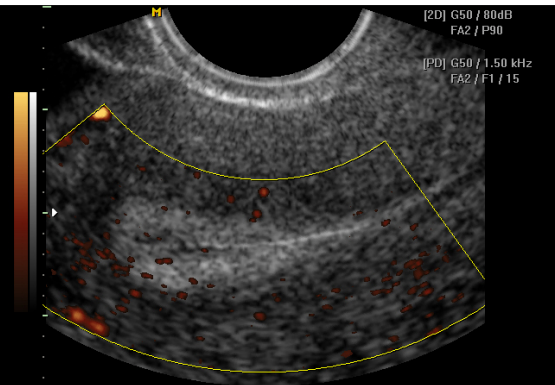
Vm: velocidade média

ANEXO 6: POWER DOPPLER

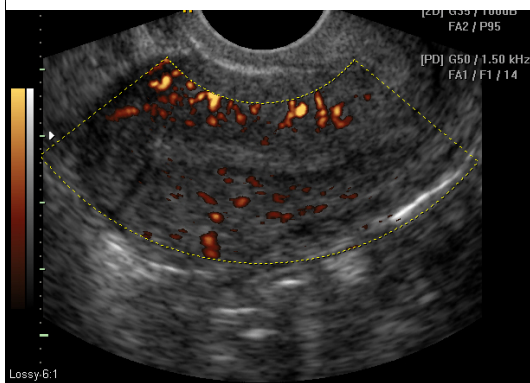
Power Doppler categoria I



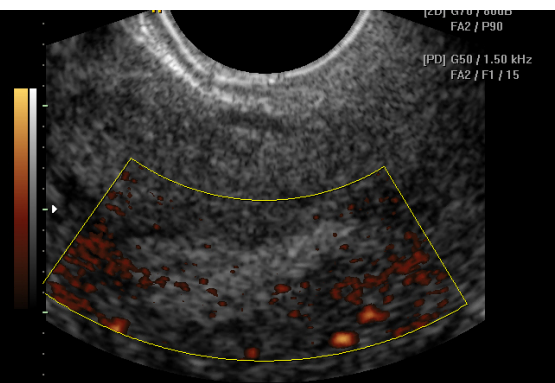
Power Doppler categoria II



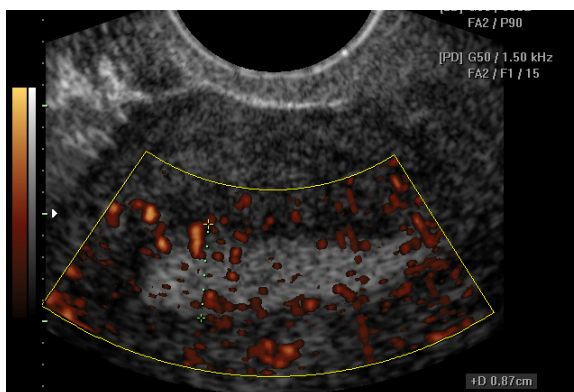
Power Doppler categoria III



Power Doppler categoria IV



Power Doppler categoria V



ANEXO 7: BULAS DOS DISPOSITIVOS UTILIZADOS NA PESQUISA

BULA DO DIU COM LEVONORGESTREL

BULA DO DIU COM COBRE

J61e Jiménez, Mirela Foresti

Efeito do dispositivo intra-uterino com levonorgestrel e com cobre na vascularização sub-endometrial e no fluxo das artérias uterinas/ Mirela Foresti Jiménez. -- 2007.

94 f. ; 30 cm.

Tese de doutorado (Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

Orientação: Prof. Dr. João Sabino Lahorgue Cunha Filho.

1. Contracepção-Dispositivo intra-uterino- power Doppler-menorragia-dismenorréia-vascularização uterina-vascularização sub-endometrial. I. Título.

CDU 618.174/.179:613.888(043.3)
613.888;618.174/.179(043.3)

Catálogo elaborado por Izabel A. Merlo, CRB 10/329.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)