U.PORTO

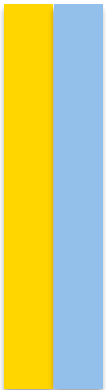
MESTRADO INTEGRADO
MEDICINA

Doenças Hematológicas e Preservação da Fertilidade Feminina

Sara Raquel Teixeira Pinto Cardeal

M

2022



ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Doenças Hematológicas e Preservação da Fertilidade Feminina

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina
Submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Estudante: Sara Raquel Teixeira Pinto Cardeal

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina
Endereço eletrónico: rimbilateixeira@gmail.com
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto
Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº228, 4050-313 Porto

Orientador: Dr. Emídio André do Vale Fernandes

Colaborador externo do Instituto de Ciências Biomédicas Abel
Salazar, Universidade do Porto
Médico Assistente Hospitalar de Ginecologia e Obstetrícia do Centro Materno-Infantil do Norte,
Centro Hospitalar Universitário do Porto

Coorientador: Professor Doutor Mário Manuel da Silva Leite Sousa

Professor Catedrático do Instituto de Ciências Biomédicas Abel
Salazar, Universidade do Porto
Médico especialista em Medicina Geral e Familiar com subespecialidade em Medicina da
Reprodução Laboratorial

Maio 2022

Doenças Hematológicas e Preservação da Fertilidade Feminina

A Estudante:



O Orientador:



O Coorientador:



Maio 2022

Dedicatórias

Ao meu marido Carlos Cardeal, por nunca ter desistido quando eu já tinha desistido, por ter lutado quando eu já não queria lutar, por ter sido a pedra basilar da concretização deste sonho. Sem o teu sacrifício, apoio e incentivo, nada seria possível.

À minha querida mãe, a estrela mais brilhante do céu, por ter estado sempre ao meu lado e no meu coração. Esta é por ti e para ti, amo-te sem fim.

Ao meu filho José Pedro, por me ter sacudido do ninho e obrigado a voar. Foste a luz que resgatou a gotinha de água da tempestade.

À minha filha Maria Raquel por me ter mostrado que os Milagres existem e que com Deus no coração tudo é possível.

Ao meu filho mais velho, Nuno e à minha melhor amiga, Lúcia, por serem a família que Deus me deu. Por terem estado sempre presentes em todos os momentos e por me terem dado a mão sempre que precisei. Por tudo que vivemos e partilhamos, sou eternamente Grata por vos ter na minha vida.

À minha querida Ana Costa por me ter mostrado que o caminho passava por Foco, Força e Fé e por ter estado incansavelmente ao meu lado.

Ao meu pai, por ter acreditado sempre no sonho.

À Vitória, companheira desta jornada, por termos lutado juntas e por todos os momentos bons e maus que vivemos. Foste o melhor que o ICBAS me deu.

Por último a Ti, meu Deus, sem Ti nada disto seria possível. Obrigada por me Teres mostrado que este era o tempo certo, por me Teres aberto todas as portas e por Teres estado incondicionalmente ao meu lado.

Agradecimentos

Ao Dr. Emídio Vale Fernandes, por me ter aconselhado a realizar uma revisão bibliográfica, por me ter permitido conciliar duas paixões, a Hematologia e a Medicina da Reprodução e pela revisão cuidadosa da dissertação, o meu muito obrigada.

Ao Professor Doutor Mário Sousa, por me ter feito apaixonar pela Medicina da Reprodução, por me desafiado a ser melhor, por toda a disponibilidade e orientação constantes e pela revisão cuidadosa da dissertação, o meu muito obrigada.

Resumo

Introdução: A infertilidade pode ser secundária a múltiplas condições de saúde. Neste contexto estão incluídas as doenças hematológicas malignas e benignas, desde que estejam associadas a tratamentos gonadotóxicos. Recentemente, com o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida, tornou-se possível preservar a fertilidade destas pacientes antes ou depois de iniciarem os tratamentos. Estes avanços estão relacionados com regimes de estimulação ovárica personalizados, otimização de meios de cultura e de técnicas de criopreservação, bem como de procedimentos cirúrgicos. Apesar de existirem muitas revisões sobre as metodologias de preservação da fertilidade em situações oncológicas, só algumas é que se focam, em particular, nas doenças hematológicas, não existindo nenhuma que apresente uma revisão detalhada sobre o sexo feminino.

Objetivos: Na presente dissertação, foram analisadas todas as possibilidades de preservação da fertilidade que podem ser oferecidas às mulheres com doenças hematológicas malignas e benignas. Esta revisão bibliográfica espera trazer ao público da área da Hematologia Clínica, da Ginecologia e da Medicina da Reprodução e às pacientes, informação válida e interessante de modo a melhorar a prática clínica, alertar e guiar os pacientes e os médicos na prevenção da infertilidade nas mulheres com patologias hematológicas.

Metodologia: Foram recolhidos dados através de uma revisão da literatura sobre as técnicas de preservação da fertilidade disponíveis para as mulheres com doenças hematológicas submetidas a terapias gonadotóxicas, através de uma procura detalhada nas bases de dados mais relevantes com a utilização de uma combinatória de palavras-chaves e termos MesH específicos, seguida de uma seleção extensiva dos artigos recolhidos.

Desenvolvimento: As opções atuais para preservar a fertilidade em mulheres com doenças hematológicas submetidas a tratamentos gonadatóxicos incluem a criopreservação de embriões, criopreservação de ovócitos maduros, criopreservação de tecido ovárico e maturação in vitro de ovócitos imaturos.

Conclusões: A existência de várias opções para preservar a fertilidade que se podem adaptar a cada caso em específico, torna necessário um nível superior de conhecimento e pratica clínica dos médicos, de modo a que as pacientes que vão ser submetidas a tratamentos potencialmente gonadotóxicos possam recorrer previamente ao processo de preservação da sua fertilidade

utilizando as técnicas mais recentes. Neste contexto em particular, é importante não negligenciar as mulheres com patologias hematológicas, uma vez que enfrentam desafios específicos.

Palavras chave: Doenças hematológicas, neoplasias hematológicas, preservação da fertilidade

Abstract

Background: Infertility can be secondary to multiple health conditions. In this context, certain hematological diseases, oncological and non-oncological, are included, as long as they are associated with gonodotoxic treatments. Recently, with the development of assisted reproduction techniques, it has become possible to preserve the fertility of these patients before starting treatment, and even after treatment. These advances are related to personalized ovarian stimulation regimens, improvement of culture media and cryopreservation techniques, as also of specific surgical procedures. Although there are several reviews on the methodologies for preserving fertility in oncological situations, few have focused on hematological diseases in particular, with none presenting a detailed inspection towards women.

Purpose: In the present work, we analyzed all the possibilities of preserving fertility that can be offered to women with hematological diseases, oncological and non-oncological. This review hopes to bring to the public in the area of Hematology, Gynecology and Reproduction and to patients, new, interesting and valid information that aims to improve clinical care, and to alert and guide patients and clinicians to prevent infertility in female patients with hematologic pathology.

Basic procedures: Data from Literature review on fertility preservation techniques available for women with hematological diseases targeted by gonodotoxic therapies was obtained through detailed search in the most relevant databases by using specific key words and MesH terms, followed by an extensive selection of the articles obtained.

Main findings: Current options for preserving fertility in women with hematologic diseases undergoing gonodotoxic treatments include cryopreservation of embryos, cryopreservation of mature oocytes, cryopreservation of ovarian tissue, and in vitro maturation of immature oocytes.

Principal conclusions: With a wide range of current options for fertility preservation that adapt to each case, a greater level of training and information is needed among clinicians, so that patients who will be subjected to potentially gonodotoxic treatments can previously resort to a process to preserve their fertility using the most recent techniques. In this context, it is important not to neglect hematological conditions, in particular.

Keywords: hematologic diseases, hematologic neoplasms, fertility preservation

Lista de abreviaturas

ABVD - Adriamicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina
ADN - Ácido desoxirribonucleico
aGnRH - Agonistas da GnRH
AMH - Hormona anti-Mulleriana
antGnRH - Antagonistas da GnRH
ARN- Ácido ribonucleico
ASCO - American Society of Clinical Oncology
ASRM - American Society for Reproductive Medicine
AVD - Adriamicina, vimblastina e dacarbazina
BEACOPP - Bleomicina, etoposido, adriamicina (doxorrubicina), ciclofosfamida, oncovin (vincristina), procarbazina e prednisona
BFM - Berlin-Frankfurt-Munster
CALGB - Cancer and Leukemia Group B
CEH - Células Estaminais Hematopoiéticas
CHOP - Ciclofosfamida, hidroxildaunorrubicina, oncovin (vincristina) e prednisona
COG - Children´s Oncology Group
COX2 - Ciclooxigenase 2
ESMO - European Society for Medical Oncology
FDA - Food and Drug Administration
FISH - Hibridização Fluorescente in Situ
FIV - Fecundação in Vitro
FSH - Hormona folículo-estimulante
GnRH - Hormona libertadora de gonadotrofinas
GV - Profase-I
Hb - Hemoglobina
HbF - Hemoglobina Fetal
HbH - Hemoglobina H
hCG- Gonadotrofina coriónica humana
HiDAC - Alta dose de citarabina
Hiper-CVAD - Ciclofosfamida hiperfraccionada, vincristina, adriamicina e dexametasona
HL- Hormona Luteinizante
HLA - Human Leukocyte Antigen
ICE- Ifosfamida, carboplatina e etoposido
ICSI - Intracytoplasmic Sperm Injection
IOP - Insuficiência Ovárica Prematura
IVM - Maturação In Vitro
LH - Linfoma de Hodgkin
LHC - Linfoma de Hodgkin clássico
LHPLN - Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular
LLA - Leucemia Linfoblástica Aguda
LLC - Leucemia Linfocítica Crónica
LMA - Leucemia Mieloide Aguda
LMC - Leucemia Mieloide Crónica
LNH - Linfoma Não Hodgkin
MDACC - MD Andersen Cancer Center
MI - Metafase-I
MII - Metafase-II
MM - Mieloma Múltiplo
NK- Natural Killer

OMS - Organização Mundial de Saúde
PCOS – Síndrome do Ovário Poliquístico
PCR - Polymerase Chain Reaction
PET- Tomografia por emissão de positrões
Ph+ - Cromossoma Philadelphia
PMA - Procriação Medicamente Assistida
QT - Quimioterapia
R-CHOP - Rituximab, ciclofosfamida, hidroxildaunorrubicina, oncovin (vincristina) e prednisona
RT - Radioterapia
SHEO - Síndrome De Hiperestimulação Ovárica
SNC - Sistema Nervoso Central
Stanford V- Metocloretamina, doxorrubicina, vincristina, vimblastina, bleomicina, etoposido e prednisona
TCEH - Transplante de células estaminais hematopoiéticas
TKI- Inibidor da Tirosina Quinase
TKI's - Inibidores da Tirosina Quinase
VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana
α - Alfa
β - Beta
δ - Delta
γ - Gamma

Índice

AGRADECIMENTOS ..... **I**

RESUMO ..... **II**

ABSTRACT ..... **IV**

LISTA DE ABREVIATURAS ..... **V**

LISTA DE TABELAS ..... **VIII**

INTRODUÇÃO **1**

OBJETIVOS **2**

METODOLOGIA E RESULTADOS **3**

DESENVOLVIMENTO **5**

Reserva Ovárica 5
Indicações para preservação da fertilidade nas doenças hematológicas 5
Terapêuticas gonadotóxicas e alterações ao nível da função reprodutora 6
Patologias Hematológicas Malignas 7
Linfoma de Hodgkin *7*
Linfoma Não Hodgkin *10*
Leucemias Agudas (Leucemia Linfoblástica Aguda e Leucemia Mieloide Aguda) *12*
Leucemia Mieloide Crónica *15*
Patologias hematológicas benignas 18
Anemia Falciforme *19*
Talassemias *22*
Técnicas de proteção da fertilidade 27
Ooforopexia *27*
Proteção gonadal *28*
Agentes supressores da função ovárica *28*
Tecnicas de preservação da fertilidade 29
Criopreservação de embriões *30*
Criopreservação de ovócitos maduros *30*
Criopreservação de tecido ovárico *31*
Maturação de ovócitos imaturos in vitro *33*
O futuro 34
Ovário artificial *34*
Células estaminais ováricas *35*

CONCLUSÃO **36**

POSFÁCIO **38**

APÊNDICE **39**

BIBLIOGRAFIA **47**

Lista de tabelas

Tabela I..... **39**
Tabela II..... 40
Tabela III..... 46

Introdução

A infertilidade é um problema considerado global, estimando-se que possa atingir cerca de 48 milhões de casais e 186 milhões de indivíduos.[1] Estima-se que a percentagem de casais inférteis em idade reprodutiva varia entre 10 a 15%. Destes, as causas de infertilidade feminina chegam a representar cerca de 50% dos casos.[1] A capacidade reprodutiva da mulher pode ser afetada por diversos fatores genéticos, biológicos, ambientais e terapêuticos. É neste contexto que surge o conceito de preservação da fertilidade feminina, definido como um conjunto de técnicas que possam permitir manter a capacidade reprodutiva em mulheres cujo potencial reprodutivo estará em risco.[2]

Os pacientes com patologias hematológicas benignas e malignas que necessitam de realizar transplante de células estaminais hematopoiéticas (TCEH), tratamentos com quimioterapia mieloablativa, radioterapia (RT) ou irradiação corporal total, enfrentam um desafio complexo no que concerne à preservação da fertilidade. As mulheres com neoplasias hematológicas podem não ser candidatas a técnicas de preservação da fertilidade padronizadas.[3] Felizmente, a maior parte dos tratamentos iniciais utilizados nas neoplasias hematológicas não são extremamente gonadotóxicos, fornecendo uma oportunidade importante de referenciar estas mulheres para preservação da fertilidade após entrarem em remissão.[3] Contudo, estas pacientes apresentam elevado risco de recaída e muitas terão que realizar TCEH, o que acarreta um risco extremamente elevado de infertilidade.[3] São múltiplas as técnicas já demonstradas eficientes na prática clínica para a preservação da fertilidade feminina em mulheres com doenças hematológicas, tais como a criopreservação de ovócitos maduros e de embriões, bem como de tecido ovárico.[4]

Objetivos

O principal objetivo da dissertação foi a realização de uma revisão bibliográfica sobre as doenças hematológicas e técnicas de preservação da fertilidade feminina. Deste modo, pretendeu-se efetuar a caracterização das doenças hematológicas que são alvo de terapêuticas gonadotóxicas que condicionam a realização de técnicas de preservação da fertilidade feminina, bem como a descrição das mesmas.

Como objetivo secundário, pretendeu-se desenvolver nos clínicos e nas pacientes, uma maior sensibilização de modo a que todas as pacientes do sexo feminino possa ter a opção de preservar a sua fertilidade.

Metodologia e Resultados

Para a realização da presente dissertação foi feita uma revisão bibliográfica baseada numa pesquisa que incluiu a combinação de palavras-chave em língua inglesa e termos MesH na base de dados eletrónica MEDLINE do motor de busca PubMed, bem como com palavras-chave em língua portuguesa nas revistas médicas: Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa, Acta Médica Portuguesa, Revista Portuguesa De Medicina Geral e Familiar, Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna e Revista Portuguesa de Oncologia.

Os critérios de inclusão dos artigos basearam-se na leitura e análise dos títulos e resumos primariamente, tendo sido selecionados artigos escritos na língua inglesa ou portuguesa, posteriores ao ano de 2004, referentes a doentes do sexo feminino, em idade fértil, com doenças hematológicas malignas e benignas submetidas a tratamentos gonadotóxicos e que fizessem referência a utilização de técnicas de preservação da fertilidade.

Entre 30 de Agosto e 30 de setembro de 2021 foi realizada pesquisa em inglês no site PubMed com recurso à combinação de palavras-chave e termos MesH: "fertility preservation", "hematologic neoplasms", "hematologic diseases", que originou 93 resultados, dos quais foram selecionados 34 artigos de acordo com os critérios definidos anteriormente. Foram excluídos 59 artigos por serem escritos noutras línguas, artigos duplicados, artigos sobre preservação da fertilidade masculina e abstracts.

Ao longo da realização da dissertação tornou-se necessária a pesquisa de artigos mais direcionados para determinadas doenças hematológicas ou técnicas de preservação da fertilidade, de modo a ser complementada a informação anteriormente recolhida. Por conseguinte, foram adicionadas outras palavras-chave ou termos MesH à pesquisa anterior, tais como: "Acute Lymphoblastic Leukemia Fertility Preservation" (encontrados 20 resultados), "Acute Lymphoblastic Leukemia" (encontrados 27254 resultados), "Acute Myeloid Leukemia Fertility Preservation" (encontrados 16 resultados), "Acute Myeloid Leukemia" (encontrados 44883 resultados), "Hodgkin Lymphoma Fertility Preservation" (encontrados 144 resultados), "Hodgkin Lymphoma" (encontrados 32758 resultados), "Non-Hodgkin Lymphoma Fertility Preservation" (encontrados 62 resultados), "Non-Hodgkin Lymphoma" (encontrados 62148 resultados), "Cronic Myeloid Leukemia Fertility Preservation" (encontrados 19 resultados), "Cronic Myeloid Leukemia" (encontrados 19142 resultados), "Sickle Cell Disease Fertility Preservation" (encontrados 20 resultados), "Sickle Cell Disease" (encontrados 16153 resultados), "Thalassemia Fertility Preservation" (encontrados 12 resultados), "Thalassemia" (encontrados 14794 resultados), "Ovarian transposition" (encontrados 183 resultados), "GnRH Analogues" (4313 resultados), "in

vitro oocyte maturation" (5365 resultados), "Artificial Ovary" (1537 resultados). Desta pesquisa adicional foram selecionados 40 artigos.

De modo a complementar a pesquisa sobre as principais neoplasias hematológicas, foi realizada revisão literária na revista específica “Journal of the National Comprehensive Cancer Network”, com as palavras-chave acima citadas, tendo sido selecionados 5 artigos.

Foi também realizada pesquisa em português nas revistas científicas: Revista Portuguesa de Oncologia, Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa, Acta Médica Portuguesa, Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna e Revista Portuguesa De Medicina Geral e Familiar com as palavras-chave "Preservação da Fertilidade", "Neoplasias Hematológicas", "Talassemia" e "Anemia Falciforme", tendo sido recolhidos 5 artigos.

Adicionalmente, foram consultadas referências bibliográficas de alguns artigos, tendo sido incluídas 5 referências no trabalho final.

Tendo em mente a procura de dados epidemiológicos recentes sobre as neoplasias hematológicas, foi realizada uma pesquisa adicional na American Cancer Society.

No final da dissertação foram reunidas 90 referências bibliográficas, dos quais 88 artigos científicos, 1 livro médico disponível online e 1 website de dados estatísticos. De todas as referências bibliográficas recolhidas a mais antiga é referente ao ano de 2004.

Desenvolvimento

Reserva Ovárica

A fertilidade humana é limitada e dependente de diversos fatores genéticos, biológicos, ambientais e terapêuticos, sendo determinada, no sexo feminino, pela reserva folicular.[5] O termo "reserva ovárica" é tipicamente utilizado em referência à população de folículos primordiais.[6] Esta atinge o pico durante a vida fetal com cerca de 7 milhões de potenciais ovócitos. Porém, cerca de 85% são perdidos antes do nascimento (crescimento seguido de atrésia por falta de suporte hormonal), mantendo-se este declínio a cada ciclo ovulatório da vida reprodutiva da mulher, em que a maioria dos folículos primordiais sofre atresia (crescimento seguido de atrésia, sendo que apenas um será o folículo dominante) .[7] Em cerca de 90% da população, a idade média da menopausa situa-se entre os 45-55 anos de idade, sendo que quando surge antes dos 40 anos de idade sugere insuficiência ovárica prematura (IOP). A IOP atinge cerca de 0,9 a 1,3% das mulheres.[5] Todas as mulheres em risco de IOP são candidatas à realização de técnicas de preservação da fertilidade, sendo a idade limite para a sua aplicação não consensual na literatura atual, podendo variar entre os 35 e os 40 anos.[5]

Indicações para preservação da fertilidade nas doenças hematológicas

A preservação da fertilidade deve ser considerada e levada à discussão com todas as mulheres que possam vir a desenvolver IOP.[7] A patologia hemato-oncológica constitui uma das principais indicações para preservação da fertilidade devido essencialmente à iatrogenia das terapêuticas utilizadas.[7] As pacientes com neoplasias hematológicas requerem especial atenção no que concerne à preservação da fertilidade, porque:(a) as neoplasias hematológicas como a leucemia linfoblástica aguda e o linfoma de Hodgkin são mais frequentes em crianças e jovens adultos; (b) as pacientes com neoplasias hematológicas podem apresentar-se com condições médicas que impedem a realização de técnicas de preservação da fertilidade padronizadas; (c) algumas técnicas de preservação da fertilidade são contraindicadas em pacientes com neoplasias hematológicas; e (d) muitas vezes, quando sofrem recaídas, as pacientes com neoplasias hematológicas são submetidas a TCEH, que está associado universalmente a infertilidade.[3] No entanto, existem inúmeras patologias hematológicas benignas, como a anemia falciforme, a talassemia e a anemia aplásica, que também apresentam potencial para induzir IOP, no caso de ser necessária a realização de TCEH.[8,9] As principais patologias hematológicas que requerem a

necessidade de realização de técnicas de preservação da fertilidade estão representadas na tabela I em apêndice.

Terapêuticas gonadotóxicas e alterações ao nível da função reprodutora

O principal impacto das neoplasias hematológicas e das doenças hematológicas benignas sobre a fertilidade advém da gonadotoxicidade provocada por tratamentos como quimioterapia (QT) e RT, sendo que a realização destes tratamentos de modo isolado ou em combinação pode induzir IOP.[6,7,9,10]

Os efeitos gonadotóxicos podem derivar de um ou mais dos seguintes mecanismos: (a) gonadotoxicidade direta, quando há lesão direta dos ovários, (b) gonadotoxicidade indireta, quando as alterações interferem com o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas, essencialmente através do efeito na função endócrina, e (c) alterações ao nível da função uterina, que podem ser provocadas por irradiação pélvica ou por alguns tipos de cirurgia do aparelho reprodutor.[11]

Os ovários são bastante sensíveis a fármacos citotóxicos, especialmente a agentes alquilantes, que muito provavelmente provocam disfunção ovárica e IOP devido ao dano provocado nos ovócitos e nas células da granulosa.[6,7] A QT na mulher pode causar depleção direta da reserva folicular (predominantemente por agentes alquilantes), toxicidade celular por stress oxidativo (ciclofosfamida e antraciclinas) ou lesão vascular (doxorrubicina).[11] Os regimes de QT mais frequentemente utilizados no tratamento das doenças hematológicas estão sumarizados na tabela II em apêndice. Apesar dos regimes de QT para o tratamento das neoplasias hematológicas terem sido otimizados para minimizar os efeitos gonadotóxicos dos agentes alquilantes, é recomendado procurar aconselhamento no âmbito da preservação da fertilidade desde o diagnóstico.[4] Têm sido desenvolvidas algumas ferramentas para determinar o risco estimado de infertilidade, com base no tipo de neoplasia e nos esquemas terapêuticos mais frequentemente utilizados.[11] Considera-se risco elevado de insuficiência ovárica permanente quando a probabilidade é superior a 80%, intermédio quando entre 40 e 60% e baixo quando inferior a 20%.[4,11]

A RT é utilizada no tratamento de diversas neoplasias hematológicas e pode ser aplicada em campos que afetam os órgãos reprodutores. As gónadas são bastantes sensíveis à RT, cujos efeitos gonadotóxicos dependem da dose, do esquema de fracionamento e essencialmente do campo de irradiação.[11] Os ovócitos são muito sensíveis à radiação, estimando-se, inclusive, que doses inferiores a 2 Grays são suficientes para destruir 50% dos folículos primordiais. A exposição a RT pélvica superior a 5-10 Grays é tóxica para os ovócitos.[3,6,7] Na mulher, a RT pélvica, além do

risco de indução de IOP, também acarreta o risco de provocar lesão uterina e/ou tubar, podendo ter implicações no sucesso de técnicas de procriação medicamente assistida (PMA) e aumentando o risco obstétrico e neonatal de uma gravidez futura. O risco de lesão uterina é acrescido em mulheres mais jovens, pelo que, deve ser sempre realizada proteção dos órgãos reprodutores não atingidos pela doença oncológica.[11]

A probabilidade da mulher vir a desenvolver IOP após realização de RT ou QT, está, em última análise, correlacionada com a idade e a reserva ovárica, o que pode variar consideravelmente de mulher para mulher.[7,9]

Patologias Hematológicas Malignas

As neoplasias hematológicas não são raras nas mulheres e são responsáveis por cerca de 7-9% de novos casos e de mortes estimadas por cancro. As formas mais comuns de neoplasias hematológicas que afetam adolescentes e mulheres jovens, e por isso apresentam indicação para realização de técnicas de preservação de fertilidade são: leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não Hodgkin (LNH). Outros tipos de neoplasias hematológicas como a leucemia linfocítica crónica (LLC), a leucemia mieloide crónica (LMC) e o mieloma múltiplo (MM) ocorrem usualmente em mulheres mais velhas, depois da menopausa (> 50 anos), não constituindo, assim, uma preocupação no que diz respeito à preservação da fertilidade.[12] As pacientes com neoplasias hematológicas, por norma, apresentam-se com um quadro clínico inicial agudo de grande gravidade, a requererem intervenção urgente e intensiva, consistindo em vários ciclos de QT com a associação de vários citostáticos, nalguns casos podendo ter de ser completados por tratamentos de RT.[11] A agressividade e o atingimento dos órgãos reprodutores, em consequência dos tratamentos gonadotóxicos, é variável consoante o tipo de neoplasia hematológica, sendo: (a) máximo nas leucemias agudas e no LNH, (b) intermédio para o LH, e (c) menor para a LMC.[11]

No que concerne à preservação da fertilidade, cada neoplasia hematológica tem um conjunto único de considerações relacionadas com a própria doença, a idade da paciente e o potencial gonadotóxico dos protocolos de tratamento.[13]

Linfoma de Hodgkin

O LH é uma neoplasia maligna incomum que atinge os gânglios linfáticos e o sistema linfático. Tem uma distribuição etária bimodal, com pico de incidência nos adolescentes/jovens

adultos (15-30 anos), e outro após os 55 anos.[14] A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica o LH em dois tipos predominantes: (a) Linfoma de Hodgkin clássico (LHC) e (b) Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular (LHPLN). O LHC é dividido em 4 subtipos: esclerose nodular, celularidade mista, rico em linfócitos e depleção linfocitária. Em países ocidentais, o LHC representa 95% dos casos, enquanto o LHPLN só representa 5% dos casos.[14] Nas últimas décadas, devido ao progresso significativo na abordagem e tratamento do LH, as taxas de cura e de sobrevivência aos 5 anos são superiores a 80%.[13,14]

O tratamento inicial do LH é baseado nas características histológicas da doença (LHC ou LHPLN), estadio de apresentação (doença limitada ou avançada), presença/ausência de fatores clínicos de mau prognóstico, presença/ ausência de sintomas sistémicos, presença/ ausência de doença volumosa definida por massa com diâmetro superior a 10 centímetros.[15] O estadiamento do LH é essencial para a escolha da terapêutica inicial mais adequada, sendo baseado na classificação de Ann Arbor modificada por Cotswolds em 1988 e tendo em conta: (a) localização da linfoadenopatia, (b) número e tamanho dos gânglios linfáticos afetados, (c) atingimento extra nodal contiguo ou devido a disseminação sistémica e (d) presença/ausência de sintomas constitucionais (sintomas B). Recentemente a tomografia por emissão de positrões (PET) emergiu como uma ferramenta de extrema importância na otimização do estadiamento do LH.[15]

O objetivo do tratamento dos doentes com LH é a cura, evitando complicações a longo prazo. A utilização de fatores de prognóstico na identificação dos pacientes que apresentam risco elevado de recaída é essencial para determinar a intensidade e duração do tratamento. Os fatores de prognóstico variam consoante o estadiamento do LH. Nos estadios de doença limitada (estadio I e II da classificação modificada de Ann Harbor) os fatores clínicos associados a pior prognóstico incluem: (a) presença de massa mediastinal volumosa, (b) aumento da velocidade de sedimentação, (c) atingimento ganglionar múltiplo, (d) envolvimento extra-ganglionar, (e) esplenomegalia significativa e (f) idade superior a 50 anos. Em contrapartida, o International Prognostic Factors Project desenvolveu para a doença avançada (estadio III e IV da classificação modificada de Ann Harbor), um score de prognóstico internacional composto por sete fatores que incluem: (a) idade superior a 45 anos, (b) doença em estadio IV, (c) sexo masculino, (d) leucocitose (leucócitos >15,000/µl), (e) linfopenia (linfócitos <600/µl), (f) nível de albumina inferior a 4,0 g/dl e (h) hemoglobina <10,5g/dl. Cada fator de prognóstico é cotado com um ponto e deste modo os doentes categorizados consoante a taxa de ausência de progressão da doença em 5 anos.[15]

O tratamento de primeira linha utilizado na doença limitada inclui QT com protocolo ABVD (adriamicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina) ou AVD (adriamicina, vimblastina e dacarbazina) seguida de RT localizada com dose de 20 ou 30 grays. O tratamento na doença avançada passa pelos protocolos ABVD, Stanford V (metocloretamina, doxorrubicina, vincristina,

vimblastina, bleomicina, etoposido e prednisona) e BEACOPP (bleomicina, etoposido, doxorrubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazina e prednisona) escalado, ou seja, com aumento progressivo da dose.[14,15,16] Nos casos em que após realização do protocolo de QT há evidência de doença residual é recomendada a RT.[14,15]

Nos pacientes com recaídas ou com doença resistente ou refratária o tratamento de eleição consiste em QT de resgaste baseada nos protocolos ICE (ifosfamida, carboplatina e etoposido) ou em protocolos com gemcitabina, seguida de transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas (CEH). Nos doentes não elegíveis para transplante autólogo de CEH ou aqueles com recidiva da doença após realização de transplante autólogo de CEH, o tratamento passa pela terapêutica dirigida com brentuximab vedotoxina ou nivolumab ou pembrolizumab.[15]

Os protocolos de tratamento de primeira linha para os estadios de doença localizada, como os ABVD ou AVD, não contêm agentes alquilantes, logo apresentam risco de IOP inferior a 10%. Pelo contrário, os protocolos como o BEACOPP ou outras terapêuticas recomendadas na doença avançada, doença refratária ou nas recaídas, contêm agentes alquilantes, estando associados a um risco aumentado (>50%) de IOP. O transplante autólogo de CEH está associado a um risco de IOP de 70-100%, devido à realização de protocolos de condicionamento altamente gonadotóxicos, com altas doses de QT associada ou não a irradiação corporal total.[13,17]

A discussão sobre o impacto do tratamento na fertilidade deve ser realizada no momento do diagnóstico e durante o curso da doença, de modo a reconhecer e intervir rapidamente se houver declínio da fertilidade.[16] Os níveis séricos da hormona anti-mulleriana (AMH) e da hormona folículo-estimulante (FSH) devem ser avaliados antes do início do tratamento de primeira linha com ABVD ou AVD.[16] É razoável não realizar técnicas de preservação da fertilidade invasivas em mulheres submetidas a tratamento de primeira linha com protocolos como o ABVD ou AVD e possivelmente com o Stanford V, dado o baixo risco de desenvolverem IOP.[16] A preservação da fertilidade deve ser recomendada às doentes com LH após falência da terapêutica com o protocolo ABVD ou Stanford V, dado que a maioria mantém a função ovárica após tratamento primário. Se a terapêutica de primeira linha falhar e for necessária a realização de tratamento de resgate, os níveis séricos de AMH e de FSH devem ser novamente determinados.[16] Se houver recidiva da doença mais de 6 meses após a realização da terapêutica de primeira linha e a AMH estiver dentro dos valores de referência para a faixa etária e a FSH for inferior a 10 mIU/ml, deve ser recomendada a realização de criopreservação de embriões ou de ovócitos.[16] A criopreservação de embriões ou de ovócitos também deve ser recomendada às mulheres que iniciam protocolos com agentes alquilantes como o BEACOPP, se o início da QT puder ser protelado.[16] Se houver recidiva da doença menos de 6 meses após a realização da terapêutica de primeira linha, a paciente tiver menos de 35 anos de idade, a

AMH estiver dentro dos valores de referência para a faixa etária e a FSH for inferior a 10 mIU/ml, deve ser recomendada a criopreservação de tecido ovárico.

Nas mulheres com LH agressivo em que não é recomendado o atraso do início da QT, a criopreservação de tecido ovárico e posterior reimplante já demonstrou ser eficiente e segura.[13] Em 2004, Donnez e colaboradores reportou a primeira gravidez conseguida após transplante ortotópico numa mulher com LH em estadio 4, que foi submetida antes do início da QT a colheita de fragmentos do córtex ovárico e posterior criopreservação do tecido ovárico.[18] Esta técnica de preservação da fertilidade, apesar dos benefícios comprovados, apresenta o risco de introdução de células neoplásicas através do tecido ovárico reimplantado, o que pode resultar numa recidiva da doença.[16,17] Apesar deste risco, não há relatos na literatura de recidiva de LH após criopreservação e reimplante de tecido ovárico.[13,17] No LH, a idade é um fator de risco independente para IOP, ou seja, quanto mais jovem a paciente, menor o risco de IOP. No entanto, o dano ocorrido na reserva ovárica pode só se tornar evidente anos mais tarde em mulheres ainda em idade reprodutiva.[13]

Linfoma Não Hodgkin

O LNH é o tipo mais frequente de linfoma, representando 90% dos linfomas. O LNH pode ocorrer em qualquer idade, sendo uma das neoplasias mais frequente em crianças, adolescentes e jovens adultos. Contudo o risco de ter LNH aumenta com a idade, sendo que mais de metade dos pacientes tem mais de 65 anos ao diagnóstico.[19]

O LNH está associado a taxas de sobrevivência aos 5 anos de 50 a 60%.[20] O LNH engloba um espectro alargado de neoplasias com variados subtipos, cada um com diferente epidemiologia, etiologia, diferentes caraterísticas clínicas, genéticas, imunofenotípicas e com resposta variável à terapêutica. Cerca de 85-90% dos LNH têm origem em células B, sendo que 5% dos LNH têm origem em células T ou células Natural Killer (NK).

A OMS, na revisão de 2016, classificou os LNH em mais de 50 tipos diferentes, consoante a célula de origem, características histológicas, morfológicas, imunofenotípicas, genéticas, moleculares e clínicas.[21,22] Para não especialistas, usualmente os linfomas são classificados consoante o grau: baixo grau ou indolente e alto grau ou agressivo. Esta divisão abrangente consoante o grau do linfoma muitas vezes determina a abordagem, a evolução da doença e o prognóstico. O LNH indolente mais frequente é o linfoma folicular. O LNH agressivo mais frequente é o linfoma difuso de grandes células B.[22]

O principal fator de risco para o desenvolvimento de LNH é a imunossupressão. Os pacientes com Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) têm elevado risco de desenvolver LNH de

alto grau. Os doentes que realizaram transplante de órgãos, TCEH, com doenças autoimunes, com imunodeficiências congénitas ou adquiridas também apresentam risco elevado de desenvolver LNH. A infeção também constitui fator de risco para o desenvolvimento de alguns LNH, quer por inibição do sistema imune, quer por outros mecanismos, como a indução de resposta inflamatória crónica.[23]

O tratamento do LNH é muito variável e vai depender de vários fatores como: (a) tipo histológico do LNH, (b) estadio do LNH, (c) grau do LNH, (d) idade da paciente, e (e) comorbilidades.[4] Normalmente, o tratamento do LNH é baseado em regimes de QT, como o CHOP (ciclofosfamida, hidroxildaunorrubicina, oncovin (vincristina), prednisona) ou o Hiper-CVAD (ciclofosfamida hiperfraccionada, vincristina, adriamicina e dexametasona), RT, imunoterapia e TCEH.[4,13] A RT é o tratamento de eleição nos estádios de doença limitada, em contrapartida, nos estádios avançados a terapêutica assenta em protocolos de QT, imunoquimioterapia, terapias alvo e em casos selecionados RT.

O risco de IOP vai variar consoante o regime de QT utilizado, sendo que o CHOP está associado a taxas de IOP de 5% e o Hiper-CVAD está associado a taxas de IOP de 14%.[17,20] A imunoquimioterapia R-CHOP está associada a menor efeito gonadotóxico e é frequentemente utilizada no tratamento do linfoma difuso de grandes células B, sendo composta pela associação do anticorpo monoclonal rituximab ao esquema de QT CHOP.[4]

A criopreservação de ovócitos ou de embriões pode ser uma das técnicas de preservação da fertilidade realizada em mulheres com LNH, mas, frequentemente, nos linfomas agressivos o início do tratamento gonadotóxico é urgente, não podendo ser protelado de modo a se proceder a estimulação hormonal e punção folicular.[20] Na maioria dos pacientes com LNH, a criopreservação de tecido ovárico é a técnica de preservação da fertilidade recomendada como primeira linha nas situações em que os tratamentos não podem ser adiados.[20] Segundo Salama e colaboradores o risco de introdução de células neoplásicas através da reimplantação do tecido ovárico previamente criopreservado é moderado no LNH, devendo ser realizados testes (análise histológica e imuno-histoquímica, se houver marcadores moleculares de doença, também podem ser utilizados para pesquisa de doença residual mínima no tecido ovárico) para excluir a presença de células malignas e evitar recidiva da doença após transplante do tecido ovárico.[12]

Leucemias Agudas (Leucemia Linfoblástica Aguda e Leucemia Mieloide Aguda)

A LLA é uma doença hematológica heterogénea caracterizada pela proliferação de células linfoides imaturas na medula óssea, sangue periférico e outros órgãos.[24] A idade média de diagnóstico da LLA é de 17 anos de idade, sendo que 53% dos casos são diagnosticados antes dos 20 anos. Em contraste, somente 29,6% dos casos são diagnosticados aos 45 anos e 13,7% dos casos aos 65 anos.[24] A LLA representa 80% das leucemias agudas que ocorrem em idade infantil, sendo a forma mais comum de leucemia durante a infância. Contudo, só representa 20% das leucemias que ocorrem em idade adulta.[24]

Os fatores de risco para desenvolver LLA incluem: (a) >70 anos, (b) exposição a QT ou RT, e (c) doenças genéticas, particularmente a síndrome de Down. Apesar de ser muito raro, outras doenças genéticas podem ser categorizadas como fator de risco para LLA, tais como: a síndrome Li-Fraumeni, Neurofibromatose, Síndrome de Klinefelter, Anemia de Fanconi, Síndrome de Shwachman-Diamond, Síndrome de Bloom e a Ataxia-telangiectasia.[24]

As taxas de cura e de sobrevivência dos pacientes com LLA aumentaram dramaticamente nas últimas décadas, predominantemente em crianças. As taxas de sobrevivência aos 5 anos em crianças/adolescentes e jovens adultos são, respetivamente de 89% e 61%. Contudo, as taxas de sobrevivência aos 5 anos em adultos permanecem entre 20 a 40%, sendo ainda mais baixas em idosos (20%).[24] A diferença entre as taxas de sobrevivência de crianças/adolescentes, jovens adultos e adultos deve-se a fatores como: (a) heterogeneidade biológica da doença, (b) fatores do hospedeiro (psicológicos e psicossociais), (c) abordagem terapêutica, (d) experiência da equipa envolvida no tratamento, e (e) idade do paciente.[25]

O tratamento da LLA constitui um dos programas mais complexos e intensivos da hemato-oncologia. É composto por 4 fases: terapia de indução de remissão, terapia pós remissão de consolidação/intensificação, terapia de manutenção da remissão e profilaxia do sistema nervoso central.[26] Apesar do protocolo específico, escolha dos fármacos, dose dos fármacos e duração do tratamento poderem diferir entre adolescentes/jovens adultos e adultos e os diferentes subtipos de LLA, os princípios basilares do tratamento são similares.[26] Os regimes de tratamento mais frequentes da LLA incluem modificações ou variações do regime de QT multiagente desenvolvido originalmente pelo grupo Berlin-Frankfurt-Munster (BFM) para doentes pediátricos e o regime Hiper-CVAD desenvolvido pelo MD Andersen Cancer Center (MDACC).[26] O protocolo de indução é tipicamente composto por uma combinação de vincristina, antraciclinas (doxorrubicina ou daunorrubicina), glucocorticóides (dexametasona ou prednisona), e/ou L-asparaginase e/ou ciclofosfamida.[26] O protocolo de indução BFM é baseado em quatro fármacos, incluindo a combinação de vincristina, uma antraciclina, um glucocorticoide e L- asparaginase.[25,26] Alguns

estudos desenvolvidos pelo Cancer and Leukemia Group B (CALGB) utilizam no tratamento da LLA um regime baseado em cinco fármacos, composto pela adição de ciclofosfamida ao protocolo BMF.[26] O regime Hiper-CVAD compreende 8 ciclos totais (4A+4B) de tratamento com o regime A (Hiper-CVAD) e com o regime B (dose alta de metotrexato e citarabina).[26] A terapia de indução vai diferir consoante o doente seja portador da translocação (9;22) resultando na presença de um cromossoma Philadelphia (Ph+). Apesar de ser pouco frequente em idade pediátrica, se estiver presente a translocação Philadelphia+, é benéfico adicionar um inibidor da tirosina quinase (TKI), como o imatinib ou o dasatinib ao protocolo de indução. Num estudo prospetivo realizado pelo Children´s Oncology Group (COG) em que noventa e uma crianças com LLA, positiva para o cromossoma Philadelphia, com idades compreendidas entre 1 e os 21 anos de idade, foram tratadas com QT intensiva em associação com o imatinib, aquelas a que foi adicionado o imatinib desde a fase de indução até à fase de manutenção, obtiveram uma taxa de sobrevivência aos 5 anos de 70%.[27]

Logo que é atingida a remissão da doença, é necessária a realização de terapia de consolidação para evitar que ocorra recaída. A intensidade da terapia de consolidação vai variar consoante o risco antecipado de recaída e os riscos inerentes ao tratamento.[26] A terapêutica de consolidação é composta por um regime de QT ou TCEH. Nos pacientes com risco moderado de recaída a QT é preferida como terapia de consolidação, enquanto que o TCEH é a escolha de eleição em pacientes com risco elevado de recaída ou que já sofreram recaída e conseguiram alcançar a segunda remissão da doença.[25] A QT de consolidação normalmente é realizada durante 4 a 8 meses e pode envolver múltiplos fármacos semelhantes aos que são utilizados durante a fase de indução, como a citarabina, metotrexato, 6-mercaptopurina, ciclofosfamida, vincristina, glucocorticóides e L-asparaginase.[26] A terapia de manutenção é utilizada como prevenção de recaída após a terapia de indução e de consolidação. A maioria dos regimes de manutenção são baseados em esquemas de 6-mercaptopurina diária, metotrexato semanal associados a períodos de vincristina e glucocorticóides durante 2 ou 3 anos.[26] A profilaxia do sistema nervoso central (SNC) tem como objetivo impedir o atingimento do SNC por células leucémicas. Pode incluir irradiação craniana, QT intratecal (metotrexato, citarabina, glucocorticoides) e/ou QT sistémica (dose alta de metotrexato, dose intermédia/alta de citarabina e L-asparaginase). A profilaxia do SNC deve ser iniciada durante a fase de indução e deve ser mantida durante as restantes fases do tratamento, nomeadamente durante a consolidação e a manutenção.[26]

A LMA é uma neoplasia hematológica heterogénea e corresponde à forma mais frequente de leucemia aguda nos adultos. É caracterizada por uma expansão clonal de blastos mieloides no sangue periférico, medula óssea e outros tecidos. Na LMA, a idade média de diagnóstico é entre os 68 e os 71 anos de idade, sendo que 54% dos casos são diagnosticados em maiores de 65 anos.[28] A

taxa de sobrevivência aos 5 anos da LMA é de 24% no geral e de 60% em crianças com menos de 15 anos.[13] Historicamente, a LMA era classificada de acordo com a morfologia das células e imunofenotipagem, mas desde a terceira edição da Classificação da OMS para tumores de tecidos hematopoiéticos e linfoides, que as alterações genéticas e moleculares fazem parte do algoritmo de diagnóstico. Na revisão da classificação de 2017 da OMS, a LMA foi classificada em 6 categorias: (a) LMA com anormalidades genéticas recorrentes, (b) neoplasias mieloides associadas ao tratamento, (c) LMA associada a alterações mielodisplásicas, (d) LMA sem outra especificação, (e) sarcoma mieloide, e (f) proliferações mieloides relacionadas com a síndrome de Down.[29]

O tratamento da LMA é composto por uma fase inicial com terapêutica de indução (remissão) e terapêutica de pós-remissão (consolidação e manutenção).[28] A terapêutica de indução consiste em QT intensiva com o objetivo de haver remissão morfológica completa da doença. Tipicamente, é realizado um ciclo de indução composto pela combinação de citarabina com antraciclinas (daunorrubicina ou idarrubicina) em regimes de 7+3 dias.[30,31] Em casos selecionados, pode ser adicionado um terceiro fármaco como a midostaurina na LMA com mutação FLT3 ou o gemtuzumab ozogamicina na LMA com CD33+. Alguns pacientes podem necessitar de dois ciclos de indução para obter remissão morfológica completa. O segundo ciclo de indução pode ser composto pelo mesmo protocolo (7+3 dias) com citarabina em doses elevadas.[31] A recaída da LMA pode ser expectável em quase todos os doentes que entraram em remissão após terapêutica de indução, caso não seja realizada terapêutica pós-remissão. O objetivo da terapêutica pós-remissão é eliminar a doença residual mínima e obter a cura.[31] A terapêutica de pós-remissão pode incluir duas fases: terapia de consolidação e terapia de manutenção, que se distinguem pelo timing de administração e pela intensidade do tratamento. A terapêutica de consolidação corresponde a um tratamento intensivo realizado pouco após obtenção da remissão morfológica da doença.[31] A terapêutica de consolidação usualmente é composta por um ou mais ciclos de QT, normalmente com altas doses de citarabina (protocolo HiDAC) ou TCEH.[31] A escolha da terapêutica ótima de consolidação é determinada pelo tipo de LMA, estratificação do risco baseada em características genéticas e moleculares e a condição médica do doente. A terapia de manutenção durante meses ou anos com doses não mielossupressivas de QT, só tem lugar na leucemia promielocítica de alto risco, não tendo benefício demonstrado nos outros tipos de LMA.[32]

Nas doentes com leucemias agudas, frequentemente, na altura do diagnóstico ocorre adiamento da realização de técnicas de preservação da fertilidade até a doente estar estabilizada ou em remissão da doença.[3,11, 33] As pacientes podem apresentar-se com um quadro inicial de hiperleucocitose, trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada, infeção ou risco de disseminação da doença que não permitam a realização de procedimentos invasivos de preservação da fertilidade.[3,11] Apesar das mulheres com leucemia aguda poderem entrar em

remissão molecular completa e atingirem a cura, existe por um grande período de tempo, habitualmente considera-se 5 anos, uma probabilidade significativa de recaída da doença, mais acrescida nos 2 primeiros anos de remissão.[11] O tratamento das recaídas obriga, quase sempre, a QT intensiva de resgate com altas doses e/ou realização de TCEH, com impacto significativo sobre a fertilidade. Por estes motivos, deve ser ponderado em todas as mulheres em remissão completa de LLA ou LMA não promielocítica, pelo menos seis meses depois do término dos tratamentos, a realização de técnicas de preservação da fertilidade como a criopreservação de ovócitos ou de embriões.[11]

A criopreservação de tecido ovárico, apesar de ser uma técnica bastante promissora, é contraindicada nas mulheres com leucemias agudas por causa do risco extremamente elevado de reintrodução de células leucémicas ou de doença residual mínima aquando da reimplantação do tecido ovárico.[12,34] Em alternativa, devem ser utilizadas outras técnicas de preservação da fertilidade, como a criopreservação ovócitos.[34]

Porém, segundo Blumenfeld, colher tecido ovárico após a doente entrar em remissão, depois da realização de um ou dois ciclos de QT, demonstrou diminuir o risco de contaminação com células leucémicas, sem diminuir significativamente o número de folículos primordiais do tecido ovárico, sendo deste modo preferencial a realização de colheita de tecido ovárico nas mulheres que entraram em remissão molecular da doença.[35] Para avaliar o risco de reintrodução de células malignas e a doença residual mínima podem ser realizados diversos testes no tecido ovárico, incluindo exame histológico, cultura in vitro, imuno-histoquímica, hibridização fluorescente in situ (FISH), polymerase chain reaction (PCR), citometria de fluxo multicolor e xenotransplante de uma porção de tecido ovárico em ratos imunocomprometidos.[12] Em 2017, foi reportada a primeira gravidez e parto numa mulher de 19 anos sobrevivente de LMA, após realização de transplante ortotópico de tecido ovárico criopreservado e subsequente avaliação para possível contaminação com células leucémicas antes da reimplantação.[36] Contudo, apesar deste resultado ser bastante notável, é inconclusivo para todas as pacientes com leucemias agudas, porque evidencia ser caso-dependente, logo só pode ser extrapolado para outras pacientes com leucemia aguda, com extrema precaução.[12]

Leucemia Mieloide Crónica

A LMC representa 15% das leucemias do adulto. A idade média de diagnóstico é de 67 anos. Contudo, a LMC pode ocorrer em qualquer faixa etária. A LMC é definida pela presença do cromossoma Ph+ num individuo com uma neoplasia mieloproliferativa.[37] O Ph+ é o produto de uma

translocação recíproca entre os cromossomas 9 e 22, a t(9;22) (q34; q11.2), que conduz à fusão sequencial do gene da região do grupo de quebra (BCR) no cromossoma 22q11.2 com o gene ABL localizado no cromossoma 9q34. O gene de fusão BCR-ABL1 resultante codifica uma proteína de fusão, a BCR/ABL1, com atividade de tirosina quinase constitutivamente ativa. Esta tirosina quinase implicada no desenvolvimento da doença, é o alvo primário da terapêutica da LMC com inibidores da tirosina quinase (TKI's).[38]

Na ausência de tratamento, a história natural de evolução da LMC é caracterizada por três diferentes fases: crónica, acelerada e blástica, sendo que nos países desenvolvidos a LMC, usualmente, é diagnosticada na fase crónica.[37] Se não tratada, a doença na fase crónica pode eventualmente progredir para uma fase acelerada, ou blástica, em média 3 a 5 anos após o diagnóstico.

A fase crónica da LMC é caracterizada pela existência de menos de 5% de blastos na medula óssea. Esta fase tem normalmente a duração de muitos anos e 85% dos doentes encontram-se nesta fase na altura do diagnóstico.[37]

A fase acelerada da LMC é definida pela classificação revista de 2016 da OMS pela presença de um ou mais critérios, baseados em parâmetros hematológicos, morfológicos, citogenéticos e evidência de resistência à terapêutica com TKI's, tais como: (a) 10 a 19% de blastos na medula óssea ou sangue periférico; (b) mais de 20% de basófilos no sangue periférico; (c) trombocitopenia persistente ($<100 \times 10^9$/L) não relacionada com a terapêutica; (d) trombocitose ($>100 \times 10^9$/L) que não responde ao tratamento; (e) esplenomegalia persistente ou em evolução, que não responde à terapia; (f) leucocitose persistente ou em evolução ($>10 \times 10^9$/L), que não responde à terapia; (g) alterações cromossómicas clonais de novo nas células Ph+, que ocorrem durante a terapia; e (h) resistência hematológica ao primeiro tratamento com TKI's ou resistência hematológica, citogenética, molecular a terapêutica com dois TKI's sequenciais ou ocorrência de duas ou mais mutações no BCR-ABL1 durante a terapêutica com TKI's.[38]

Segundo a classificação revista de 2016 da OMS, a fase blástica é definida pela presença de um ou mais dos seguintes critérios: mais de 20% de blastos na medula óssea ou no sangue periférico e proliferação blástica extra-medular.[38]

O tratamento da fase crónica da LMC assenta na terapêutica com TKI's como o imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib e radotinib ou transplante alogénico de CEH.[39] A escolha do TKI para o tratamento inicial da LMC é baseada no score de prognóstico da LMC, efeitos secundários dos TKI's, comorbilidades associadas e preço dos TKI's.[39] O imatinib é um TKI de primeira geração, bem tolerado pela doente a curto e longo prazo e mais económico que os TKI's de segunda geração.[39] Os TKI's de segunda geração são a terapêutica de eleição para as doentes que desenvolvem

resistência ou intolerância ao imatinib, sendo que 40 a 50% das doentes que desenvolvem resistência ao imatinib alcançam resposta citogenética com o nilotinib, dasatinib ou bosutinib. Em comparação com o imatinib, os TKI's de segunda geração, como o dasatinib, nolotinib e bosutinib, são mais potentes, alcançando resposta molecular e citogenética mais rápida e sustentada na fase inicial do tratamento, mas sem evidência demonstrada de diferença na taxa de sobrevivência aos 5 anos.[39] Se a doente desenvolver intolerância ou resistência a um determinado TKI de segunda geração, deve ser alterado para outro TKI de segunda geração. O ponatinib é um TKI de terceira geração, potente e com atividade contra todas as mutações testadas do domínio tirosina quinase do gene BCR-ABL1. Entre pacientes que previamente foram tratadas com dois ou mais TKI's, 60 % obtiveram resposta citogenética major com o ponatinib em 2 a 8 meses, sendo deste modo, a opção terapêutica preferível neste contexto.[39]

O transplante alogénico de CEH foi durante muitos anos a base do tratamento da LMC, constituindo a melhor opção para obtenção de remissão da doença a longo prazo e uma possível cura.[39] Contudo, desde a introdução dos TKI's de primeira, segunda e terceira geração, é raro o transplante alogénico de CEH ser indicado como terapêutica inicial da LMC. A European LeukemiaNet recomenda que o transplante alogénico de CEH deve ser reservado para os pacientes que desenvolvem resistência aos TKI's de segunda geração e especialmente ao ponatinib, TKI de terceira geração.[39] Outros fatores de extrema importância que também devem ser tidos em conta aquando da decisão da realização de transplante alogénico de CEH, são: (a) características da paciente (idade, e comorbilidades), (b) tipo de dador e sua disponibilidade (irmão Human Leukocyte Antigen (HLA) compatível, dador não aparentado HLA compatível, cordão umbilical ou haploidêntico), e (c) estadio da doença (fase crónica, acelerada, blástica) .[39]

Os TKI's devem ser continuados indefinidamente, desde que sejam tolerados pela doente e que os objetivos terapêuticos sejam atingidos. No entanto, a descontinuação do tratamento com TKI's é uma opção passível de ser realizada em alguns pacientes e um objetivo para muitos. Alguns princípios básicos devem ser considerados antes de ser tentada a descontinuação do tratamento, sendo destes o mais importante a paciente entrar em remissão molecular profunda (MR4.5) durante pelo menos dois anos.[39] As taxas de manutenção de remissão sem tratamento são similares, independentemente do TKI utilizado para obter uma resposta molecular profunda sustentada. Contudo, a probabilidade de atingir uma resposta molecular profunda é superior com um TKI de segunda geração em comparação com o imatinib.[39]

Cerca de 25% dos doentes com LMC tem idade inferior a 50 anos, sendo nesta faixa etária que surge a necessidade de realização de técnicas de preservação da fertilidade.[3,4] Os TKI's têm baixa gonadotoxicidade, mas, no entanto, Zamah e colaboradores reportaram o primeiro caso de uma mulher com LMC, submetida a estimulação ovárica sob terapêutica com imatinib, que

demonstrou resposta ovárica severamente comprometida e potencial efeito deletério no desenvolvimento folicular e posterior normalização da resposta ovárica, aquando da interrupção do tratamento com o TKI.[40] Os TKI's são fármacos de categoria D, da classificação de risco dos medicamentos para uso na gravidez da Food and Drug Administration (FDA) e, por isso, apresentam evidência positiva de risco fetal humano.[3] Estudos em modelos animais evidenciaram potenciais malformações fetais associadas ao uso de TKI's durante a gravidez, como exoftamia, craniossinostoses, hidrópsia fetal e malformações renais.[39] Dados os efeitos teratogénicos dos TKI's, a gravidez nas pacientes com LMC necessita de cuidados específicos e os TKI's devem ser descontinuados.[4] A preservação da fertilidade deve ser levada à discussão nas mulheres com LMC que não obtiveram remissão da doença com o tratamento com TKI's e que vão ter que realizar transplante alogénico de CEH.[4,11] As técnicas de preservação da fertilidade, como a criopreservação de ovócitos ou de embriões, devem ser realizadas em mulheres com LMC quando estão em remissão molecular sustentada e após interrupção temporária de tratamento com TKIs de pelo menos 3 meses, embora podendo-se considerar, no intervalo, manutenção terapêutica com interferão alfa.[11] Embora não existam restrições temporais para o momento de ocorrência de gravidez, considera-se mais adequado esperar por remissão molecular sustentada, pelo facto de ser necessária a suspensão do tratamento com TKIs (apesar de ser possível realização de tratamento de manutenção com interferão alfa durante a gestação, idealmente apenas no segundo e terceiro trimestres) .[11]

A criopreservação de tecido ovárico nas mulheres com LMC, tal como nas leucemias agudas, acarreta o risco de contaminação ovárica com doença residual mínima.[41,42] Abir e colaboradores reportaram o caso de uma criança com 12 anos com LMC em que foi realizada criopreservação de tecido ovárico, antes de ser submetida a transplante alogénico de CEH. A paciente, aquando em idade adulta, de modo restaurar a fertilidade, requereu reimplante do tecido ovárico criopreservado. O tecido ovárico foi avaliado para possível contaminação e apesar da ausência de alterações anatomopatológicas e imuno-histoquímicas, o teste de PCR demonstrou evidência de transcritos de fusão BCR-ABL1 no tecido ovárico. Dado o elevado risco da existência de doença residual mínima no tecido ovárico das doentes com LMC, o reimplante de tecido ovárico criopreservado deve ser realizado de modo cauteloso e só após realização de técnicas anatomopatológicas, imuno-histoquímicas e moleculares.[42]

Patologias hematológicas benignas

A preservação da fertilidade deve igualmente ser abordada em mulheres portadoras de patologias hematológicas benignas que acarretam risco de IOP. Os regimes de QT de

condicionamento associados ao TCEH são uma opção terapêutica, não só para as doenças hematológicas malignas, mas também para as doenças hematológicas benignas associadas a disfunção multiorgânica grave, como a talassemia, anemia falciforme, anemia aplásica, anemia de Fanconi ou síndromes mieloproliferativas. Os regimes de condicionamento para realização de TCEH incluem esquemas de QT com agentes alquilantes, como a ciclofosfamida, em doses elevadas e irradiação corporal total, o que conduz a que cerca de 80% das mulheres desenvolvam IOP.[8] Os tratamentos crónicos das doenças hematológicas benignas também acarretam o risco de IOP. As principais causas de IOP, bem como as estratégias de preservação da fertilidade utilizadas nas mulheres com doenças hematológicas benignas estão sumarizadas na tabela III em apêndice.

Anemia Falciforme

A Doença Falciforme engloba uma variedade de hemoglobinopatias hereditárias caracterizadas pela presença de uma variante da hemoglobina (Hb), a HbS, que surge devido à ocorrência de mutações no gene HBB, que é responsável por codificar as cadeias de β-globina da hemoglobina.[43] As Doenças Falciformes distinguem-se pela ampla variabilidade da severidade do quadro clínico e da esperança média de vida.[43] As Doenças Falciformes de elevada severidade clínica, englobam a anemia falciforme e a hemoglobinopatia S/β^0-talassemia. As de severidade clínica moderada, incluem a hemoglobinopatia SC e hemoglobinopatia S/β^+-talassemia. As benignas ou assintomáticas resumem-se ao portador do traço falciforme.[44]

O fenótipo mais frequente e mais severo das Doenças Falciformes é a anemia falciforme, que corresponde à forma homozigótica (HbSS).[45] Ocorre devido a uma mutação pontual missense no gene HBB, que determina uma alteração no sexto codão do ácido ribonucleico (ARN) mensageiro, com a consequente substituição do aminoácido ácido glutâmico pelo aminoácido valina na posição 6 da cadeia de β-globina da hemoglobina.[46] A presença da HbS condiciona alterações da estabilidade e solubilidade dos eritrócitos, o que, em situações de baixa oxigenação, conduz à polimerização da sua estrutura com consequente deformação em forma de foice, passando a designar-se por células falciformes. A anemia falciforme caracteriza-se por anemia e hemólise crónicas, com agudizações graves como, por exemplo, crises vaso-oclusivas e/ou anemia aguda e aumento da suscetibilidade a infeções sistémicas. O quadro clínico inaugural da doença pode ser fatal, como consequência de acidente cerebrovascular, sequestro esplénico ou sépsis.[47]

As formas heterozigóticas compostas da Doença Falciforme, como as hemoglobinopatias SC e S/β-talassemia, diferem na sua gravidade clínica, sendo muito variável o seu espectro sintomático.[44] A hemoglobinopatia SC é caracterizada por apresentar a mesma mutação da anemia

falciforme (HbS) combinada com outra mutação, também ao nível do gene HBB, que é responsável pela troca do aminoácido ácido glutâmico pelo aminoácido lisina também no codão 6 do ARN mensageiro (HbC).[48] Na hemoglobinopatia S/β-talassemia, pode ser constatada a associação entre uma alteração qualitativa das cadeias de β-globina, com consequente formação da HbS, e uma alteração quantitativa das mesmas, com a redução da sua síntese (hemoglobinopatia S/β^{+}-talassemia) ou até ausência da mesma (hemoglobinopatia S/β^{0}-talassemia). Estas hemoglobinopatias partilham com a anemia falciforme, a fisiopatologia e as manifestações clínicas, contudo com alguma variabilidade entre si.[46]

O portador do traço falciforme, heterozigoto para a hemoglobina S (HbAS), herda apenas a mutação de um dos progenitores e não é considerado doente. É frequentemente assintomático, e, por ser portador do traço falciforme, tem proteção contra a infeção pelo *Plasmodium falciparum*.[44]

A terapia modificadora da Doença Falciforme engloba, essencialmente, a hidroxiureia, transfusões de concentrados eritrocitários regulares e, mais recentemente, a L-glutamina, terapêutica aprovada em 2017 pela FDA. Adicionalmente, podem ser utilizados opióides, como a morfina, ou anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) no controlo da dor aguda ou crónica.[45] Apesar destas terapêuticas serem necessárias para diminuir a morbilidade e a mortalidade das doenças falciformes, têm impacto negativo sobre a fertilidade. Atualmente, as únicas terapêuticas curativas são o transplante alogénico de CEH e a terapia genética.[45,49]

As mulheres com anemia falciforme podem desenvolver IOP devido ao dano no tecido ovárico que ocorre por isquemia e pela ação de mediadores inflamatórios durante as crises vaso-oclusivas e também pelos tratamentos de citorredução com hidroxiureia, transfusões recorrentes de sangue, e pelo transplante alogénico de CEH.[8,45] A hidroxiureia é o tratamento padrão a longo prazo administrado a pacientes com anemia falciforme, utilizado para reduzir a frequência de episódios vaso-oclusivos, síndrome torácica aguda e a necessidade de realizar transfusões regulares.[45] Um estudo realizado por Elchuri e colaboradores em 56 meninas com anemia falciforme, com idades compreendidas entre os 10 e os 19 anos, demonstrou que 24% tinham níveis baixos (abaixo do percentil 5) de AMH.[50] Infelizmente, não há estudos sobre o impacto da hidroxiureia na reserva ovárica em mulheres com mais de 21 anos de idade.[45] O tratamento a longo prazo com hidroxiureia, associado a múltiplas transfusões de sangue, pode ter um efeito cumulativo deletério na reserva ovárica e incrementar o risco de insuficiência ovárica. Embora a terapêutica prolongada com hidroxiureia, geralmente não exija a realização de técnicas de preservação da fertilidade, recomenda-se aconselhamento adequado sobre fertilidade, bem como o uso de um método contracetivo eficiente durante os tratamentos para evitar a potencial teratogenicidade do fármaco.[8]

As mulheres a realizar transfusões recorrentes de sangue têm risco de desenvolver hemocromatose por sobrecarga de ferro, provocando stress oxidativo nos ovários e no SNC (hipotálamo, hipófise) o que condiciona o surgimento de disfunção do eixo hipotálamo-hipófise, hipogonadismo hipogonadotrófico e IOP.[8] Um estudo realizado por Hagag e colaboradores demonstrou que adolescentes com anemia falciforme e níveis elevados de ferritina e ferro sérico, têm níveis significativamente mais baixos de FSH, hormona luteinizante (HL) e de estrogénios quando comparados com o grupo controlo (adolescentes da mesma faixa etária, também com anemia falciforme, mas com níveis normais de ferro sérico e de ferritina).[51] As taxas de infertilidade em mulheres com anemia falciforme a realizar terapia de quelação de ferro para a hemocromatose relacionada com as transfusões recorrentes de sangue, ainda não foram estudadas, sendo, portanto, necessários estudos adicionais.[45]

Os opióides são a base do tratamento dos episódios agudos vaso-oclusivos, que constituem a causa primária de internamento na anemia falciforme. Uma grande proporção de mulheres desenvolve dor crónica, secundária à anemia falciforme e permanece sobre terapêutica com opióides a longo prazo. Os opióides suprimem o eixo hipotálamo-hipófise-gónadas, por inibição da libertação da Hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), levando a diminuição dos níveis de HL e interrupção da ovulação.[45]

Num estudo realizado por Gaytán e colaboradores, os AINEs demonstraram inibir a ovulação em mamíferos, devido à inibição da ciclooxigenase 2 (COX2), com consequente diminuição dos níveis de prostaglandinas. A inibição da COX2 tem efeitos sobre a ovulação, fertilização e implantação, acarretando infertilidade por disfunção ovulatória nas mulheres.[52] Os AINEs são frequentemente utilizados nas mulheres com anemia falciforme para controlo da dor aguda e crónica, contudo o seu impacto sobre a fertilidade raramente foi estudado.[45]

Em 2017, a FDA aprovou a utilização da L-glutamina no tratamento da anemia falciforme em adultos e crianças com mais de 5 anos, de modo a diminuir a morbilidade da doença. Contudo, a segurança da sua utilização durante a gravidez ainda não foi estabelecida.[45]

O transplante alogénico de CEH é um dos tratamentos curativos para a anemia falciforme, encontrando-se os regimes de condicionamento mieloablativos com agentes alquilantes gonadotóxicos, bem como a irradiação corporal total, associados a elevado risco de IOP (>80%).[49,53] Deve ser, portanto, levada à discussão a realização de técnicas de preservação da fertilidade a todas as mulheres com anemia falciforme que vão realizar TCEH.[45]

No entanto, as mulheres com anemia falciforme que são submetidas a técnicas de preservação da fertilidade, correm o risco de sérias complicações peri-procedimento, relacionadas com a doença e potencialmente ameaçadoras da vida.[53] Num estudo realizado por Pecker e colaboradores, sete mulheres com anemia falciforme submeteram-se a técnicas de preservação da

fertilidade, como a criopreservação de ovócitos, embriões ou tecido ovárico. Três destas sete mulheres sofreram complicações severas relacionadas com a anemia falciforme, incluindo: síndrome torácica aguda, crise vaso-oclusiva dolorosa que obrigou a interrupção do ciclo de estimulação e crise dolorosa severa após colheita laparoscópica de tecido ovárico.[53] Deste modo, é de extrema importância minimizar os potenciais riscos associados às técnicas de preservação da fertilidade, devendo ser recomendada: (a) realização de transfusão de concentrado eritrocitário peri-procedimento; (b) espirometria pós-anestesia para prevenir síndrome torácica aguda; (c) iniciar tromboprofilaxia, antes da estimulação ovárica ou manter anticoagulação de base, já que, quer a anemia falciforme quer a estimulação ovárica, incrementam o risco de tromboembolismo venoso; (d) hidratação endovenosa de modo a evitar a hemoconcentração; (e) controlo adequado da dor peri e pós-procedimento; e (f) minimizar o risco de síndrome de hiperestimulação ovárica, utilizando protocolos de estimulação ovárica adequados.[53,54]

Um dos tratamentos da anemia falciforme potencialmente curativo, é a terapia genética. No entanto, ainda não foram publicados estudos sobre o impacto da terapia genética na fertilidade feminina, mas pode ser presumido que a fertilidade possa ser comprometida com terapias genéticas que utilizam agentes alquilantes nos seus regimes de condicionamento.[45]

Talassemias

As síndromes talassémicas são um grupo de patologias hereditárias caracterizadas pela síntese reduzida ou ausência das cadeias de globina da hemoglobina.[55,56] A alfa (α) talassemia resulta da diminuição (α^+) ou ausência (α^0) da síntese da cadeia de α-globina, em contrapartida, a beta (β) talassemia resulta da diminuição (β^+) ou ausência (β^0) da síntese da cadeia de β-globina. Também foram descritas síndromes talassémicas raras, que atingem a produção das cadeias delta (δ) ou gamma (γ) globina, mas não constituem entidades clínicas significativas.[55]

A cadeia de α-globina é codificada por 4 genes distintos (HBA1 e HBA2) α-globina (α/αα), dois em cada cópia do cromossoma 16 (16p13.3).[57] As síndromes α-talassémicas são causadas por deleção ou, menos frequentemente, por mutações pontuais, que afetam a expressão de um ou mais genes da α-globina, sendo subclassificadas de acordo com o número de genes α-globina que sofrem deleção ou mutação pontual. Na α-talassemia o fenótipo aumenta de severidade com o número de genes HBA não funcionais.

A α^+-talassemia surge quando há deleção de 1 gene, a α^0- talassemia quando há deleção de 2 genes no mesmo cromossoma, a Doença da Hemoglobina H (HbH) quando há deleção de 3 genes e a Hidrópsia Fetal de Bart quando há deleção dos 4 genes.[47,55,57] Clinicamente a deleção de um

gene HBA (αα/α-), dá origem ao portador silencioso da α-talassemia, também designada por α^+-talassemia. Estes doentes são frequentemente assintomáticos, podendo apresentar ou não ligeira anemia, com hipocromia e microcitose.[55]

A talassemia minor, também designada por traço talassémico, é caracterizada por duas deleções dos genes HBA. As duas deleções podem ocorrer na forma trans (α^+ talassemia homozigótica, α-/α-) ou na forma cis (α^0-talassemia, αα/--). A forma trans ocorre mais frequentemente na população africana, em contrapartida, a forma cis é mais frequente na população asiática.[55] O fenótipo clínico é semelhante em ambos os genótipos (forma cis e trans) e é caracterizado por anemia ligeira microcítica e hipocrómica, sem hemólise.[55]

A Doença da HbH ou α-talassemia intermédia é caracterizada pela deleção de 3 genes HBA (α-/--) e normalmente está associada a anemia microcítica e hipocrómica com hemólise ligeira a moderada, que normalmente requer tratamento ocasional com transfusão de concentrado eritrocitário. A base da hemólise é a acumulação excessiva de cadeias de β-globina, devido à síntese reduzida de cadeias de α-globina, que se associam formando tetrâmeros compostos por cadeias de β-globina, designados por hemoglobina H. A hemoglobina H é relativamente instável e precipita à medida que os eritrócitos envelhecem, formando corpos de inclusão que danificam os eritrócitos, encurtando a sua semivida.[55]

A deleção dos 4 genes HBA (--/--) é normalmente fatal no fim da gestação ou durante o parto, sendo esta condição designada por Hidrópsia Fetal de Bart ou α-talassemia major. A Hemoglobina de Bart é um tetrâmero instável, composto por cadeias de γ-globina, com alta afinidade para o oxigénio e por conseguinte incapaz de, sob condições fisiológicas, libertar o oxigénio para os tecidos. Deste modo, devido à ausência de síntese de cadeias α-globina, o feto não produz Hemoglobina Fetal (HbF) nem HbA, o que provoca hipoxia severa e consequente hidrópsia fetal.[55]

A β-talassemia é causada pela síntese reduzida ou ausente de cadeia de β-globina, dando origem a um desequilíbrio entre a produção de cadeias de β-globina e subsequente excesso de cadeias de α-globina.[56] A severidade da expressão da doença está correlacionada com o excesso de cadeias de α-globina, que se agregam e precipitam nos precursores dos eritrócitos, levando a eritropoiese ineficaz por dano mecânico e oxidativo.[58]

A base molecular das β-talassemias é bastante heterogénea, estando descritas mais de 200 mutações.[56] Geralmente, as mutações que estão na base da β-talassemia são mutações pontuais que afetam só um nucleótido ou um número reduzido de nucleótidos num dos dois genes HHB, em cada cromossoma 11.[55] Consoante a redução da síntese de cadeias β-globina, as mutações da β-talassemia são classificadas em 3 grupos: (a) β^0-talassemia, com mutação (β^0/) em que não ocorre síntese de cadeias de β-globina; (b) β^+-talassemia, com mutação (β^+/) em que ocorre uma redução

severa da síntese de cadeias de β-globina; e (c) β^{++} talassemia, com mutação (β^{++}/), também designada por mutação silenciosa, em que ocorre uma redução ligeira da síntese de cadeias de β-globina.[59]

Os portadores silenciosos de β-talassemia são heterozigóticos para a mutação β^{++} (β^{++}/β^{N}) e têm os níveis de HbA2 e de eritrócitos muito próximos dos valores de referência, só podendo ser identificados por diagnóstico molecular.[59]

O traço talassémico, também denominado por β-talassemia minor, afeta indivíduos que herdaram um único alelo β^{+} (β^{+}/β^{N}) ou β^{0} (β^{0}/β^{N}). Os portadores do traço talassémico são assintomáticos, mas apresentam microcitose, hipocromia e níveis aumentados de HbA2.[59]

A β-talassemia intermédia é uma condição clínica cujo espectro de gravidade varia entre a β-talassemia minor e a β-talassemia major, englobando um conjunto de fenótipos que vão desde a anemia ligeira até à anemia grave, que ou não necessita de transfusões de sangue, ou necessita de transfusões ocasionais ou recorrentes.[60] O hemograma apresenta valores de Hb entre 7 – 10 g/dl. Geralmente, as manifestações clínicas da β-talassemia intermédia têm início em idade mais avançada, normalmente em maiores de 2 anos de idade e incluem além da anemia, hiperbilirrubinémia e hepatoesplenomegalia.[59,60] A talassemia intermédia, além de variabilidade clínica, apresenta variabilidade molecular. A vasta maioria dos indivíduos com β-talassemia intermédia são geralmente homozigóticos para β^{+} (β^{+}/β^{+}) ou heterozigóticos compostos para β^{+} e β^{0} (β^{+}/β^{0}). Os indivíduos que são heterozigóticos para mutações dominantes de β talassemia (β^{D}/β^{N}), homozigóticos para β^{0} (β^{0}/β^{0}), co-herdeiros de α-talassemia ou heterozigóticos para β^{+} ou β^{0} (β^{+}/β^{N} ou β^{0}/β^{N}) e co-herdeiros de triplicação α, também demonstram um fenótipo de β-talassemia intermédia. Porém, a correlação genótipo-fenótipo da β-talassemia intermédia é tão complexa que a patogénese de alguns doentes continua indefinida, não podendo ser explicada pelos mecanismos atualmente conhecidos.[59]

A β-talassemia major, também designada por Anemia de Cooley, é a forma mais severa de β-talassemia.[56,59] Ao nascimento, os indivíduos são quase sempre assintomáticos, devido à presença de HbF, manifestando-se sintomaticamente a doença a partir dos seis meses de idade.[56] Os indivíduos afetados apresentam-se normalmente com anemia severa, com valores de Hb<6g/dl, necessitando de transfusões de sangue recorrentes para sobreviver, bem como de terapêutica de quelação do ferro. Além da anemia severa, podem apresentar sintomas associados, tais como: palidez, icterícia, irritabilidade, dificuldade na alimentação, atraso no crescimento, deformidades ósseas (fácies talassémico), aumento do perímetro abdominal por esplenomegalia ou hepatomegalia e episódios recorrentes de infeção.[61] As crianças com doença não tratada ou parcialmente tratada, morrem na primeira ou segunda década de vida. A maioria dos casos de β-

talassemia major são homozigóticos para β^0 (β^0/β^0) e uma pequena minoria é composta por heterozigóticos para β^+ e β^0 (β^+/β^0) .[59]

Como referido anteriormente, as talassemias têm um elevado espetro de severidade clínica, o que permite classificar clinicamente os pacientes com talassemia em três grupos distintos: talassemia minor, intermédia ou major.[61] Esta classificação clínica foi revista em 2012 pela Thalassemia International Federation, que propôs a alteração desta terminologia para talassemia dependente de transfusões versus talassemia não dependente de transfusões.[61] A categorização de um paciente numa destas classes requer avaliação clínica cuidadosa e a utilização de parâmetros clínicos e hematológicos, particularmente os níveis de Hb. Os doentes com talassemia dependente de transfusões, são aqueles que necessitam de transfusões recorrentes para sobreviver. Fazem parte desta categoria os doentes com β talassemia major, com doença HbH não delecional severa, Hb E/β-talassemia severa e os sobreviventes de Hidrópsia Fetal de Bart.[61] Os doentes com talassemia não dependente de transfusões, são aqueles que mantêm espontaneamente níveis de Hb> 7 g/dl e, por conseguinte, não necessitam de transfusões recorrentes para sobreviver, mas podem necessitar de transfusões ocasionais em períodos de stress fisiológico, como a gravidez, infeções ou procedimentos cirúrgicos.[62] Fazem parte desta categoria os doentes com β-talassemia intermédia, com doença HbH e com Hb E/β-talassemia.[61]

Como anteriormente referido, o tratamento das talassemias dependentes de transfusões, assenta em transfusões recorrentes para manter valores de Hb entre 9 e 10 g/dl. Os objetivos da terapêutica transfusional passam pela correção da anemia, supressão da eritropoiese e inibição da absorção gastrointestinal de ferro, o que ocorre recorrentemente em pacientes transfundidos, como consequência do aumento de uma eritropoiese ineficaz.[58] Contudo, as transfusões crónicas acarretam sobrecarga de ferro, que se deposita nos órgãos viscerais, predominantemente no coração, fígado e glândulas endócrinas, acarretando complicações cardíacas, endocrinopatias e eventualmente dano multiorgânico.[56,62] Deste modo, é necessário efetuar a monitorização dos depósitos de ferro e utilizar terapêutica de quelação do ferro. Existem disponíveis três quelantes de ferro: a desferroxamina, o deferasirox e a deferriprona.[58] Atualmente, o deferasirox é o agente quelante de ferro de primeira linha.[56] A endocrinopatia associada à sobrecarga de ferro mais frequente é o hipogonadismo hipogonadotrófico, causado pelo dano induzido pelo ferro no eixo hipotálamo-hipófise, com consequente atraso no desenvolvimento pubertário e sexual.[60] Nas talassemias sintomáticas, invariavelmente ocorre esplenomegalia, que muitas vezes é responsável pelo agravamento da anemia e que ocasionalmente provoca neutropenia e trombocitopenia. Os doentes frequentemente desenvolvem um quadro de hipercoagulabilidade, em que não são incomuns eventos tromboembólicos arteriais e venosos, especialmente após esplenectomia. Por causa deste risco acrescido de tromboembolismo arterial ou venoso, associado ainda ao risco de

infeção, a esplenectomia só deve ser considerada em algumas circunstâncias.[56,58] A osteopenia e osteoporose também são frequentes nas formas graves de talassemia.[56]

O único tratamento curativo nas formas graves de talassemia, como por exemplo a β-talassemia major, é o transplante alogénico de CEH.[62] O primeiro transplante alogénico de CEH de um dador HLA compatível, realizado a um paciente com talassemia, ocorreu em 1982. Desde então foram relatados mais de 3000 transplantes com sucesso. A sobrevivência global para os doentes com doença não avançada é de 89 a 97%, mas, em contrapartida, a sobrevivência global para os pacientes com doença avançada é de 80 a 87%.[60] Em alguns pacientes com sobrecarga de ferro prévia, mesmo após a realização de transplante com sucesso, pode ser necessária a realização de flebotomias para prevenir o risco de excesso de ferro residual, que pode provocar fibrose hepática e complicações endócrinas, como atraso de crescimento e/ou hipogonadismo. Estas complicações endócrinas podem ser secundárias ao excesso de ferro, decorrente das transfusões recorrentes, ou podem ser consequência do regime de condicionamento com agentes alquilantes, realizado previamente ao transplante alogénico de CEH.[60] As terapêuticas futuras da talassemia, passam pelos agentes indutores da HbF e pela terapia genética, com fármacos que têm como alvo a correção da eritropoiese ineficaz.[62]

Apesar das mulheres com talassemia bem controlada e dependente de transfusões poderem ser férteis e entrarem espontaneamente na puberdade, a maioria destas pacientes são inférteis devido ao hipogonadismo hipogonadotrófico, secundário à hemossiderose transfusional.[63] O hipogonadismo hipogonadotrófico manifesta-se por atraso pubertário, e amenorreia primária ou secundária. A hipófise é bastante sensível à sobrecarga de ferro, acarretando diminuição do seu volume e limitação da sua função hormonal, com consequente diminuição da secreção pulsátil de FSH e HL, com subsequente diminuição da síntese de hormonas sexuais e de produção de gâmetas.[63] A sobrecarga de ferro, além de provocar os efeitos diretos acima citados sobre a fertilidade, pensa-se também estar associada a efeitos indiretos sobre a mesma, nomeadamente pela indução de stress oxidativo, o qual causa disfunção nos ovócitos e no fluído folicular.[63] Consequentemente, o início de terapia de quelação apropriada, desde jovem idade, é fundamental para a manutenção da secreção hormonal regular e da fertilidade.

Dado o elevado risco de infertilidade e IOP, as técnicas de preservação de fertilidade, como a criopreservação de ovócitos ou de tecido ovárico, devem ser recomendadas a todas as mulheres com talassemia dependente de transfusões, que vão ser submetidas a transplante alogénico de CEH, dado o elevado risco de gonadotoxicidade dos regimes de condicionamento.[64] Contudo, ainda não está completamente esclarecido se a realização de técnicas de preservação da fertilidade também está recomendada nas mulheres com talassemia dependente de transfusões, que não vão ser submetidas a transplante alogénico de CEH, dado não ser devidamente conhecido o efeito a

longo termo da diminuição da função hipotálamo-hipófise-gonadas provocado pela sobrecarga de ferro sobre os ovários e folículos primordiais.[64] Um estudo realizado por Singer e colaboradores, avaliou a patofisiologia do impacto da sobrecarga de ferro sobre a fertilidade em 26 mulheres com talassemia major. A baixa secreção de gonadotrofinas resultou numa redução do volume ovárico e da contagem de folículos antrais, encontrando-se, contudo, normais os níveis de AMH, um marcador sensível da reserva ovárica. A AMH surge, assim, como um biomarcador sensível na avaliação da capacidade reprodutiva nas mulheres com talassemia, tendo sido demonstrado neste estudo que a fertilidade se manteve preservada nestas mulheres com idades inferiores a 30-35 anos. Deste modo, a AMH deve ser utilizada em futuros estudos que visam melhorar o impacto da terapêutica de quelação do ferro sobre a fertilidade.[65]

Técnicas de proteção da fertilidade

As técnicas de proteção da fertilidade são realizadas durante os tratamentos gonadotóxicos e têm como objetivo impedir que estes causem dano nos órgãos reprodutores e que provoquem diminuição do potencial reprodutivo. A ooforopexia e a proteção gonadal são técnicas realizadas quando é necessário recorrer a RT pélvica.[11] A supressão da função ovárica com análogos da GnRH é utilizada, concomitantemente à QT.

Ooforopexia

A ooforopexia, ou transposição ovárica, é uma técnica cirúrgica para proteção da fertilidade, aplicada previamente à realização de RT pélvica, diminuindo a exposição ovárica à radiação ionizante e, consequentemente, o risco de IOP em cerca de 50% das mulheres.[5] Na ooforopexia, os ovários podem ser transpostos medialmente, posteriormente ao útero, ou lateralmente em direção à parede abdominal.[12]

A ooforopexia pode ser realizada por laparoscopia, mini-laparotomia, ou por cirurgia robótica. A técnica cirúrgica com mais sucesso é a ooforopexia lateral laparoscópica.[12] No caso de ser realizada irradiação cranioespinhal, o ovário deve ser deslocado do seu local anatómico e fixado lateralmente, o mais distante possível da coluna vertebral.[13] No caso de ser realizada irradiação pélvica, o ovário deve ser mobilizado para fora da cavidade pélvica, o que pode requerer a secção do ligamento útero-ovárico e da Trompa de Falópio. O ovário deve, então, ser mobilizado o mais alto possível, na parede abdominal e fixado à goteira parietocólica.[13]

A taxa de sucesso desta técnica varia de 16% a 90%.[13] De acordo com as guidelines da American Society of Clinical Oncology (ASCO), o sucesso da ooforopexia na proteção da fertilidade é questionável e variável de acordo com a dose, tipo, local de irradiação, idade da paciente e realização concomitante de QT.[12] Os casos de insucesso são motivados pela perda folicular e isquemia decorrente da técnica cirúrgica ou por efeitos indiretos da RT na vascularização ovárica.[66] Um dos motivos de insucesso desta técnica, para além dos já referidos, é o risco da migração dos ovários para a sua posição anatómica original durante a RT. Para além disso, a ooforopexia não protege os ovários da gonadotoxicidade induzida pela QT, não devendo, por isso, ser realizada em pacientes a realizar tratamentos concomitantes de QT.[12]

Proteção gonadal

Nas pacientes que necessitam de RT abdominal ou pélvica, a proteção gonadal com material blindado é o procedimento de eleição para diminuir a exposição à radiação dos órgãos reprodutores e proteger a função reprodutora.[11] De modo similar à ooforopexia, a proteção gonadal, não protege os ovários da gonadotoxicidade induzida pela QT, tendo papel limitado quando é administrada QT em simultâneo.[12] Na prática clínica a ooforopexia e a proteção gonadal com material blindado, tem pouco relevo no tratamento das neoplasias hematológicas, já que a maioria dos protocolos não incluem RT à pélvis sem QT concomitante.[12]

Agentes supressores da função ovárica

Os agentes supressores da função ovárica são designados por análogos da GnRH (tanto agonistas como antagonistas) e podem ter efeito protetor sobre os ovários.[67] O mecanismo de ação primário dos análogos da GnRH passa pela supressão dos níveis de gonadotrofinas, FSH e LH, de modo a simular um estado hormonal pré-púbere e subsequentemente prevenir a maturação de folículos primordiais, deste modo reduzindo o número de folículos primordiais expostos à QT.[67]

Os análogos da GnRH são péptidos sintéticos semelhantes quimicamente à GnRH, que se ligam aos receptores da GnRH e modificam a produção de gonadotrofinas.[68] Existem dois tipos de análogos da GnRH: os agonistas da GnRH (aGnRH) e os antagonistas da GnRH (antGnRH). Os aGnRH têm uma semivida longa (não se degradam rapidamente) e têm grande afinidade para os receptores da GnRH, o que resulta na diminuição da produção de gonadotrofinas.[68] Os antGnRH têm uma curta duração de ação e reduzem a produção de gonadotrofinas por competição pelos receptores da GnRH.[68] Os mecanismos de ação destes fármacos não são inteiramente conhecidos,

tendo, contudo, sido propostas diversas teorias sobre o seu modo de atuação, entre as quais se salientam: (a) supressão da secreção de gonadotrofinas e subsequente maturação de folículos primordiais, deste modo diminuindo o número de folículos primordiais expostos aos agentes quimioterapêuticos, (b) diminuição da perfusão útero-ovárica, que leva à diminuição da exposição dos ovários aos agentes quimioterapêuticos (c) regulação positiva de uma molécula intragonadal antiapoptótica, a esfingosina-1-fosfato, (d) ativação direta dos receptores da GnRH-I e GnRH-II nas gónadas; e (e) proteção da secreção de células estaminais indiferenciadas da linha germinativa.[68,69]

Numerosas revisões sistemáticas, ensaios clínicos e meta-análises, demonstraram existir uma correlação entre o uso de análogos da GnRH, antes e durante a realização de QT, e baixas taxas de IOP, em mulheres jovens com cancro.[67,68,69] No entanto, há discrepância de opinião sobre o benefício da utilização de análogos da GnRH, constituindo um tema controverso e bastante debatível na literatura. Segundo um estudo realizado por Elgindy e colaboradores, o tratamento com análogos da GnRH concomitantes à QT com ciclofosfamida, não têm efeito protetor sobre a função ovárica.[70] De acordo com as recomendações da ASCO, da American Society for Reproductive Medicine (ASRM) e da European Society for Medical Oncology (ESMO) os análogos da GnRH ou outros métodos de supressão hormonal, como os contraceptivos orais, não devem ser recomendados como técnicas de preservação da fertilidade.[12,71] A ASCO recomenda que os análogos da GnRH não devem ser utilizados em substituição de técnicas de preservação da fertilidade reconhecidas.[71] A Sociedade Portuguesa de Oncologia afirma que não há evidência suficiente para recomendar a utilização de análogos da GnRH em detrimento de outras técnicas de preservação do potencial reprodutivo, podendo ser considerada a sua utilização pontual em casos específicos ou em situações de emergência.[11] Nas mulheres com neoplasias hematológicas, a eficácia dos análogos da GnRH na prevenção de IOP induzida por QT, ainda é controversa, sendo necessária a realização de mais estudos.[4,12] Segundo Demeestere e colaboradores, os aGnRH não são eficientes na prevenção de IOP induzida pela QT em jovens pacientes com linfoma, não devendo por isso ser recomendados como técnica de preservação da fertilidade neste grupo de doentes.[72]

Técnicas de preservação da fertilidade

A criopreservação de embriões e a criopreservação de ovócitos em metafase-II, são os únicos métodos de preservação da fertilidade comprovados e aprovados pela maioria das sociedades médico-científicas.[73] A sua utilização é já corrente em vários centros, com resultados excelentes.[74] A escolha da técnica de preservação de fertilidade a aplicar a determinada mulher

depende da idade do ovário, da etiologia da IOP, do tipo de tratamento indicado, do tempo que medeia até ao início desse tratamento, da presença/ausência de companheiro ou dador, da probabilidade de metastização ovárica e, por último, da decisão da mulher.[73]

Criopreservação de embriões

A criopreservação de embriões é uma técnica realizada há mais de 30 anos.[7] A preservação da fertilidade através da criopreservação de embriões é composta por uma fase inicial de estimulação hormonal, seguida de punção folicular para recolha de ovócitos e posterior inseminação por fecundação in vitro (FIV) ou por microinjeção de espermatozoides (ICSI) .[75] Os embriões obtidos são de seguida criopreservados através da técnica da vitrificação (congelamento ultrarrápido) e armazenados em azoto líquido. Quando o casal assim o determinar, os embriões são descongelados e transferidos para a cavidade uterina.[11] A vitrificação tem sido preferida nos processos de criopreservação, em detrimento da congelação lenta, por minimizar a lesão celular provocada pela formação de cristais de água durante o processo. Esta técnica tem taxas de sucesso semelhantes à transferência de embriões a fresco.[5] Contudo, a criopreservação de embriões requer um parceiro ou um dador de espermatozoides, o que pode levar a um dilema ético ou legal sobre o armazenamento dos embriões caso a doente faleça.[7]

Criopreservação de ovócitos maduros

A criopreservação de ovócitos em metafase-II tornou-se, nos últimos anos, a abordagem padrão para a preservação da fertilidade em mulheres com patologias não oncológicas, com patologias malignas cujo tratamento pode ser adiado com segurança por um período curto de tempo (pelo menos 10/12 dias) e na maternidade adiada por motivos pessoais e sociais.[7,9,76] De modo similar à criopreservação de embriões, a criopreservação de ovócitos compreende uma fase inicial de estimulação ovárica com gonadotrofinas, seguida de punção folicular e criopreservação dos ovócitos pela técnica da vitrificação.[11] A técnica de vitrificação veio aumentar consideravelmente a sobrevivência dos ovócitos, as taxas de fecundação e a proporção de embriões de elevada qualidade, face à técnica de congelação lenta anteriormente utilizada.[11]

A estimulação ovárica acarreta um aumento suprafisiológico dos níveis circulantes de estrogénios, o que impõem alguma cautela no caso de cancro da mama hormono-sensível (com expressão de recetores hormonais > 1%).[11] Em termos clássicos, a hiperestimulação controlada do ovário usa um protocolo convencional com antGnRH ou um protocolo curto flare-up com aGnRH,

dependentes do período menstrual.[66,75] Desenvolvimentos recentes, com uso de protocolos random-start permitem, no entanto, iniciar a estimulação ovárica em qualquer fase do ciclo menstrual, tendo-se revelado uma estratégia útil quando há constrangimentos temporais causados pela necessidade em iniciar rapidamente um tratamento gonadotóxico.[11]

Aquando da estimulação ovárica, o risco de síndrome de hiperestimulação ovárica (SHEO) deve ser considerado.[77], dado o elevado impacto numa mulher com neoplasia, já que a sua ocorrência, implica o adiamento dos tratamentos gonadotóxicos.[78] Deste modo, devem ser utilizadas estratégias de estimulação controlada do ovário apropriadas para reduzir o risco SHEO nas pacientes com neoplasias, que podem passar pela utilização de protocolos com antGnRH, associado a aGnRH, cuja função é desencadear a maturação final dos ovócitos. A estimulação ovárica além dos riscos anteriormente referidos, também pode estar associada a eventos tromboembólicos.[78]

A criopreservação de ovócitos deve idealmente ser realizada antes de ocorrer exposição à terapêutica gonadotóxica. Porém, tal nem sempre é possível, devido à condição médica da doente, o que é particularmente relevante nas neoplasias hematológicas.[11,78] Não há estudos realizados em seres humanos que tenham avaliado a qualidade dos ovócitos e embriões obtidos após realização de QT, sendo, no entanto, conhecidas alterações no ácido desoxirribonucleico (ADN) e dano oxidativo nas células somáticas e germinativas induzido pela QT.[78]

Ao contrário da criopreservação de embriões que implica a existência de um parceiro ou de um dador de espermatozoides, a criopreservação de ovócitos mantém a autonomia reprodutiva da mulher e evita os dilemas éticos e legais no que concerne ao armazenamento de embriões.[7,9,11]

Criopreservação de tecido ovárico

A criopreservação de tecido ovárico é a única opção disponível de preservação da fertilidade em mulheres pré-púberes e em mulheres que não podem adiar os tratamentos gonadotóxicos.[7,9,74,79] É a única técnica de preservação da fertilidade que não exige estimulação ovárica nem punção folicular, não provocando, por isso, qualquer adiamento do tratamento da doença oncológica.[11,71] Diversos autores, defendem uma implementação clínica da criopreservação de tecido ovárico consoante a aplicação de critérios de seleção restritos, tais como idade inferior a 35 anos, esperança média de vida superior a 5 anos e probabilidade superior a 50% de vir a desenvolver IOP.[74]

A técnica de criopreservação de tecido ovárico implica a colheita de biopsias do córtex do ovário ou a totalidade do órgão por laparoscopia. No laboratório, a medula do ovário é removida,

e a região cortical fragmentada, seguindo-se a vitrificação das amostras e posterior transplante após cura ou remissão da doença.[11] Existem duas técnicas disponíveis para transplante do tecido ovárico após criopreservação: (a) o transplante na cavidade pélvica, na medula ovárica restante ou numa bolsa peritoneal (transplante ortotópico); e (b) o transplante fora da cavidade pélvica, no antebraço ou na parede abdominal ou no músculo reto do abdómen (transplante heterotópico).

Existem três abordagens para a realização do transplante ortotópico, que devem ser aplicadas consoante a existência ou ausência de ovários e a quantidade de tecido ovárico disponível para reimplante.[9,74]

Se pelo menos um ovário estiver presente, deve ser realizada primariamente descorticação do ovário por laparoscopia. De seguida com o auxílio de uma tesoura é removido uma porção de 1 a 2 cm de córtex do ovário, de modo a criar acesso à medula ovárica e à sua rede vascular. Com o recurso a princípios e a técnicas de microcirurgia, o tecido ovárico é, então, reimplantado na medula ovárica e fixado com Interceed.[7,9,74]

Se os dois ovários estiverem ausentes, pode ser criada uma bolsa peritoneal em dois tempos cirúrgicos para promover a angiogénese antes do reimplante de tecido ovárico, ou num tempo cirúrgico. A bolsa peritoneal é então criada através de uma incisão na face anterior do ligamento largo do útero, numa área com exposição da rede vascular. Os fragmentos de tecido ovárico são posteriormente reimplantados nesta bolsa peritoneal e fixados com Interceed e cola de fibrina.[9,74]

Se estiver presente um ou ambos os ovários, pode-se recorrer à técnica combinada em que se procede à reimplantação ortotópica em dois sítios diferentes em simultâneo, ao ovário descorticado presente e numa bolsa peritoneal. Nesta técnica cirúrgica, é necessário haver cuidado com a quantidade de tecido ovárico utilizada, devendo ser antecipada a necessidade de ser realizado posterior reimplante. Deste modo, é recomendado só utilizar para reimplante um terço do tecido ovárico criopreservado.[9,74]

No transplante ortotópico, após o reimplante do tecido ovário na cavidade pélvica, a função ovárica é restaurada em 95% dos casos.[7,9] A duração média da função ovárica após transplante ortotópico é de 4 a 5 anos, mas pode persistir durante 7 anos, consoante a densidade folicular, idade à data da colheita e qualidade do tecido enxertado.[7,9]

A primeira gravidez conseguida após transplante ortotópico ocorreu em 2004.[18] Os dados mais recentes envolvendo vários países Europeus apontam para mais de 360 transplantes e mais de que 130 recém-nascidos, com uma taxa de gravidez de 29-33% e uma taxa de recém-nascidos de 23-35%, evidenciando excelentes resultados.[10,78,80,81,82] O primeiro transplante ortotópico realizado em Portugal ocorreu em janeiro de 2015 na Unidade de Medicina da Reprodução do

Centro Hospitalar Universitário de São João, dez anos após criopreservação de tecido ovárico de uma mulher com 18 anos, endometrioma esquerdo e agenesia ovárica direita.[83]

O transplante ortotópico demonstrou ser entre todas as técnicas cirúrgicas disponíveis para reimplantação do tecido ovárico, a mais eficaz na restauração da função endócrina e da fertilidade.[10] Por sua vez, o transplante heterotópico ainda permanece questionável e só está relatada na literatura uma gravidez obtida através desta técnica.[7]

Para incrementar o sucesso do transplante de tecido ovárico devem ser otimizados aspetos como a perda precoce de folículos por hipoxia após a reimplantação, podendo ser estimulada a vascularização dos enxertos de tecido ovárico com fatores angiogénicos e antiapoptóticos, ou através de neovascularização estimulada por células estaminais adiposas.[7,9]

Contudo existe um risco muito elevado nesta técnica de preservação da fertilidade, que consiste na presença de células neoplásicas no tecido ovárico reimplantado, o que pode resultar numa recidiva da doença oncológica. Este risco parece ser mais elevado nas doentes com neoplasias hematológicas, especialmente com leucemia aguda.[33] Em mulheres com leucemia aguda são necessárias outras técnicas de preservação da fertilidade, tais como a criopreservação de ovócitos (maduros ou imaturos) e embriões.[7]

Maturação de ovócitos imaturos in vitro

A maturação in vitro (IVM) de ovócitos é uma técnica antiga, cujos atuais desenvolvimentos nos meios de cultura permitem obter taxas elevadas de ovócitos maduros em metafase-II (MII) a partir de ovócitos imaturos recolhidos na fase da profase-I (GV) ou da metafase-I (MI) da meiose.[84] Esta técnica tem muito sucesso nos casos com síndrome do ovário poliquístico (PCOS).[85] Em oncofertilidade, esta técnica apresenta como vantagens: (a) permitir conservar um elevado número de ovócitos, (b) poder ser aplicada em crianças e jovens pré-púberes ou em mulheres cujo tratamento não pode ser adiado, já que não requer estimulação hormonal prévia, e (c) não haver risco de reintrodução de células neoplásicas.[5] Esta técnica consiste na colheita de ovócitos imaturos, sem recurso a estimulação ovárica, logo sem risco de elevação dos estrogénios plasmáticos, para subsequente IVM antes ou depois da vitrificação.[11] Trata-se de uma alternativa cuja eficácia é difícil de definir, já que não existe uma ampla utilização e apresenta diversas dificuldades, como por exemplo a exigência de um meio de cultura dinâmico de suporte aos diferentes estadios de desenvolvimento folicular e células da granulosa.[7,9] A vitrificação pode ser efetuada no estadio GV, ou os ovócitos GV recolhidos podem ser submetidos a cultura para IVM, de modo a atingirem o estadio maduro de MII antes de serem criopreservados (podendo estes MII

ser fecundados com subsequente criopreservação de embriões no caso da existência de parceiro ou de preferência por espermatozoides de dador), sendo que este último estadio tem revelado maiores taxas de sucesso.[84]

A aspiração de folículos por via transvaginal tem uma taxa de IVM de sucesso que ronda os 80% nas mulheres com PCOS, contudo, não é possível a sua realização nas crianças e jovens pré-púberes e nas mulheres sem atividade sexual, e, também, não está indicada nos casos em que existe risco de disseminação neoplásica devido à punção ovárica transvaginal. Nestes casos, os ovócitos imaturos são aspirados dos ovários ou do tecido ovárico recolhido para criopreservação.[84] A taxa média de maturação a MII é de aproximadamente 30-60%, sendo os resultados melhores perante ligeira estimulação com FSH e/ou gonadotrofina coriónica humana (hCG)[84] e piores nas crianças mais novas e nas mulheres com mais de 25 anos.[86]

O futuro

Segundo vários autores, o futuro da preservação da fertilidade reside em técnicas ainda em estudo, como o ovário artificial e a diferenciação de células estaminais ováricas.[7,9]

Ovário artificial

Como referido anteriormente, as mulheres com leucemia têm risco elevado de introdução de células neoplásicas aquando do reimplante de tecido ovárico criopreservado.[74] Uma opção promissora é o ovário artificial transplantável. O isolamento de folículos primordiais elimina o risco de transmissão de células malignas e, posteriormente, a sua transferência para um molde, permite a criação de um ovário artificial.[74] Um estudo realizado por Soares e colaboradores, demonstrou avanços recentes, com sucesso na técnica de isolamento de folículos primordiais, como a sua lavagem durante 3 vezes de modo a eliminar células leucémicas.[87] Num estudo realizado por Paulini e colaboradores, foi demonstrado que a fibrina é um material promissor para a criação de um ovário artificial, dado que foi observada a evolução de folículos pré-antrais para folículos antrais, após sua transferência para um molde de fibrina em ratos imunodeprimidos.[88] Num estudo realizado por Laronda e colaboradores, foi criado um protótipo de ovário impresso em três dimensões, em que ocorreu restauração da função endócrina e reprodutora num rato submetido a ooforectomia.[89]

Células estaminais ováricas

A descoberta de células estaminais no ovário, colocou em causa a teoria de que as células germinativas não são produzidas após o nascimento nos ovários dos mamíferos.[9] No entanto, a diferenciação in vitro de células estaminais ováricas pode ser uma questão problemática, se interferir no imprinting genómico e nos mecanismos epigenéticos, necessários para o desenvolvimento de ovócitos totalmente competentes.[90] Num estudo realizado por Morahaku e colaboradores, foi reproduzido pela primeira vez, com sucesso, o processo completo de ovogénese in vitro de um mamífero.[90]

Conclusão

Certas doenças hematológicas benignas ou malignas são mais frequentes nas crianças/adolescentes e jovens adultos. Dado o desenvolvimento de novos tratamentos responsáveis pelo incremento das taxas de sobrevivência global e face ao risco de gonadotoxicidade associado a estes tratamentos, torna-se premente levar à discussão com estas mulheres a realização de técnicas de preservação da fertilidade.

As mulheres com certas doenças hematológicas benignas ou malignas desenvolvem infertilidade após realização de tratamentos gonadotóxicos, como quimioterapia com agentes alquilantes e/ou irradiação corporal total. As recaídas são frequentes nas neoplasias hematológicas, e a terapêutica destas, bem como o tratamento curativo de certas doenças hematológicas benignas, passa pela realização de transplante de células estaminais hematopoiéticas, que está associado universalmente a infertilidade. No entanto, torna-se quase completamente evitável que tal aconteça, dada a existência de diversas técnicas de preservação da fertilidade, que devem ser realizadas previamente aos tratamentos gonadotóxicos, e em certos casos podendo mesmo ser efetuadas após quimioterapia.

Na presente dissertação foram discutidas todas as opções disponíveis de preservação da fertilidade para as mulheres com doenças hematológicas. Porém, são inúmeros os desafios clínicos que estão associados às técnicas de preservação da fertilidade em mulheres com doenças hematológicas que acarretam risco de infertilidade.

Em muitas pacientes, o início urgente dos tratamentos gonadotóxicos é inevitável, tornando impossível a realização de algumas técnicas de preservação da fertilidade, como a criopreservação de ovócitos ou embriões, dado ser necessária a existência de disponibilidade temporal (pelo menos 10 a 12 dias) para proceder à estimulação ovárica e posterior criopreservação de ovócitos ou embriões. Nestes casos, bem como nas crianças e jovens pré-púberes e nas mulheres sem atividade sexual, impõe-se a criopreservação de tecido ovárico.

As pacientes com neoplasias hematológicas podem apresentar-se com condições médicas associadas, como hiperleucocitose, trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada e infeção que impedem a realização de técnicas de preservação da fertilidade padronizadas, bem como a realização de procedimentos invasivos, como por exemplo punção ovárica para colheita de ovócitos. Nestes casos as técnicas de preservação da fertilidade devem ser adiadas e só realizadas após a doente estar estabilizada e em remissão molecular completa.

Como referido anteriormente, certas doenças hematológicas benignas ou malignas são mais frequentes nas crianças e adolescentes que ainda não entraram na puberdade, pelo que as

técnicas de preservação da fertilidade, tais como a criopreservação de ovócitos ou embriões, que necessitam de estimulação ovárica prévia e recolha de ovócitos, não podem ser realizadas, devido a inatividade do eixo hipotálamo-hipófise-gonadas, surgindo como alternativa a maturação de ovócitos imaturos in vitro ou a criopreservação de tecido ovárico. No entanto a criopreservação de tecido ovárico com posterior transplante ortotópico deve ser realizado com extrema precaução, devido ao risco de contaminação do tecido ovárico com células neoplásicas hematológicas, particularmente nas leucemias agudas. Sendo deste modo, bastante importante, o desenvolvimento de técnicas anatomopatológicas, imuno-histoquímicas e moleculares que permitam avaliar o risco de contaminação ovárica com doença residual mínima. A obtenção de ovócitos imaturos a partir do tecido ovárico removido para criopreservação, é uma alternativa, já que é possível a descontaminação de células neoplásicas durante o processo de maturação in vitro.

Os Hematologistas e os especialistas em Medicina da Reprodução, uma vez sensibilizados para o problema acarretado por certas doenças hematológicas benignas ou malignas, devem articular uma abordagem conjunta e multidisciplinar para se decidir com a paciente qual a melhor opção disponível, de um modo personalizado.

Posfácio

História de uma gota de água

«Era uma vez uma pequena gota de água. Brilhava como uma estrela, era pura como o ar. Um dia, havia de voar.

Mas algo inesperado aconteceu, um sentimento de saudade começou a crescer e o brilho da pequena gota começou a desaparecer. A saudade expandiu-se e levou a gota para a tempestade. A tempestade, de lamúrias e sentimentos, é onde nenhuma gota pura e inocente devia estar, onde nenhuma gota devia estar, nenhuma gota devia entrar, mas a pequena gota, que brilhava como uma estrela, não sabia dos perigos que podia enfrentar. Em pouco tempo, a gota viu o seu brilho escurecer como o luar. A pequena gotinha, adorada por todos, viu a fama fugir do seu olhar, e todos por quem era amada, a desaparecer com o seu brilhar.

Mas no meio do céu cinzento de sofrimento, apareceu uma luz a brilhar. Uma luz que transmitia uma esperança há muito tempo não sentida. A gota depositou-se sobre a luz e a esperança transformou-se em brilhar.»

José Pedro Cardeal

Apêndice

Tabela I - Patologias hematológicas malignas e benignas que requerem realização de técnicas de preservação da fertilidade, devido à tratamentos gonadotóxicos.

INDICAÇÃO PARA PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE
Patologias Hematológicas Malignas
▪ **Leucemia Mieloide Aguda** ▪ **Leucemia Linfoblástica Aguda** ▪ **Leucemia Mieloide Crónica** ▪ **Linfoma de Hodgkin** ▪ **Linfoma Não-Hodgkin**
Patologias Hematológicas Benignas
▪ **Anemia falciforme** ▪ **Talassemia** ▪ **Anemia aplásica** ▪ **Anemia de Fanconi**

Adaptado de Donnez et al.,2013

Tabela II - Risco de IOP associado à gonadotoxicidade dos regimes de poliquimioterapia utilizados nas neoplasias hematológicas.

Gonadotoxicidade dos regimes de poliquimioterapia
Risco alto (>80%) – Bussulfano – BEACOPP (bleomicina, etoposido, doxorrubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazina e prednisona) idade>30 anos – COPP/MOPP (ciclofosfamida, vincristina, procarbazina, prednisona) – Clorambucil – Ciclofosfamida
Risco moderado (40%-60%) – BEACOPP (idade<30 anos)
Risco baixo (<20%) – ABVD (doxorrubicina, bleomicina, vimblastina, dacarbazina) – CHOP (ciclofosfamida, hidroxildaunorrubicina, vincristina, prednisona) – CVP (ciclofosfamida, vincristina, prednisona) – Antraciclinas ou citarabina
Muito baixo risco – ABVD (doxorrubicina,bleomicina, vimblastina, dacarbazina) idade< 32 anos – Metotrexato
Risco desconhecido – Inibidores da tirosina quinase (imatinib) – Oxaliplatina

Adaptado de Azim et al.,2020

Tabela III - Especificidades sobre as indicações para preservação da fertilidade em doenças hematológicas benignas.

Especificidades sobre as indicações para preservação da fertilidade em doenças não oncológicas				
	Patologias	**Causas e Risco de IOP**	**Estratégias de preservação da fertilidade**	**Especificidades e limitações associadas**
Doenças Hematológicas	Talassemia Anemia Falciforme Anemia de Fanconi Anemia aplásica	**Baixo risco:** ▪ Hidroxiureia ▪ Múltiplas transfusões de sangue **Alto risco:** ▪ Regime de condicionamento para transplante de células estaminais hematopoiéticas (agentes alquilantes/irradiação corporal total	**Baixo risco:** ▪ Aconselhamento sobre fertilidade e seguimento **Alto risco:** ▪ Criopreservação de ovócitos ou embriões (quando é possível realizar em adolescentes e em adultos) ▪ Criopreservação de tecido ovárico (pacientes pré-púberes e púberes)	Risco de complicações trombóticas ou hemorrágicas Aconselhamento genético **Risco obstétrico:** ▪ Hipertensão pulmonar ▪ Doença renal crónica ▪ Aloimunização ▪ Disfunção uterina

Adaptado de Condorelli et al.,2019

Bibliografia

1. Rutstein SO, Iqbal HS. Infecundity, Infertility, and Childlessness in Developing Countries. Demographic and Health Surveys (DHS) Comparative Reports No. 9. Calverton, Maryland, USA: ORC Macro and the World Health Organization. 2004. pp 74. URL: https://dhsprogram.com/publications/publication-cr9-comparative-reports.cfm

2. Medrano J, Andrés M, García S, et al. Basic and clinical aproaches for fertility preservation and restoration in cancer patients. Trends Biotechnol. 2018;36(2);199-215. doi: 10.1016/j.tibtech.2017.10.010

3. Loren AW, Senapati S. Fertility preservation in patients with hematologic malignancies and recipients of hematopoietic cell transplants. *Blood*. 2019;134(9):746-760. doi: 10.1182/blood.2018846790.

4. Azim Jr HA, Demeestere I, Peccatori FA. Fertility Challenges and Solutions in Women with Cancer. 1st Edition. Springer International Publishing. 2020. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-030-24086-8

5. Silva F, Pinelo S, Felgueira E. Preservação da fertilidade feminina – novos desafios. Acta Obstet Ginecol Port. 2015; 9(2):154-157. URL: http://www.fspog.com/fotos/editor2/09_2015_2-ar_14-00078.pdf

6. Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women. Nat Rev Endocrinol. 2013; 9:735–749. doi:10.1038/nrendo.2013.205.

7. Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women. N Engl J Med. 2017; 317(17):1657-401. doi:10.1056/NEJMra1614676.

8. Condorelli M, Demeestere I. Challenges of fertility preservation in non-oncological diseases. Acta Obstet Gynecol Scand. 2019; 98(5):638-646. doi: 10.1111/aogs.13577.

9. Dolmans, MM, Donnez J. Fertility preservation in women for medical and social reasons: Oocytes vs ovarian tissue. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2020; 70:63-80. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.06.011.

10. Dolmans MM, von Wolff M, Poirot C, et al. Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading European centers. Fertil Steril. 2021;115(5): 1102–1115. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.03.008.

11. Santos A, Teixeira A, Sousa G, et al. Revista Portuguesa de Oncologia. Recomendações para a preservação do potencial reprodutivo no doente oncológico. 2016;2(1):5-24. URL:https://www.spmr.pt/files/Recomendacoes_para_a_preservacao_do_potencial_reprodutivo_no_doente_oncologico.pdf

12. Salama M, Anazodo A, Woodruff TK. Preserving fertility in female patients with hematological malignancies: a multidisciplinary oncofertility approach. Ann Oncol. 2019;30(11):1760-1775. doi:10.1093/annonc/mdz284

13. Jadoul P, Kim SS; ISFP Practice Committee. Fertility considerations in young women with hematological malignancies. J Assist Reprod Genet. 2012;29(6):479-87. doi: 10.1007/s10815-012-9792-0.

14. Hoppe RT, Advani RH, Ai WZ, et al. Hodgkin Lymphoma, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw.2020; 18(6), 755-781. doi: 10.6004/jnccn.2020.0026.

15. Ansell SM. Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment. Mayo Clin Proc. 2015; 90(11):1574-83. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.07.005

16. Hutchcraft ML, McCracken K, Whiteside S, et al. Current Fertility Preservation Options for Female Patients With Hodgkin Lymphoma. Obstetrical & Gynecological Survey. 2020; 75(11):683-691. doi:10.1097/ogx.0000000000000835.

17. Patel B, Rossi B. Preserving fertility in young patients with lymphoma: an overview. Blood Lymphat Cancer. 2015; 5:1-15. doi: 10.2147/BLCTT.S47236.

18. Donnez J, Dolmans MM, Jadoul P, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet. 2004;364(9443):1405-10. doi: 10.1016/S0140-6736(04)17222-X.

19. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2022. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2022. URL: https://www.cancer.org/cancer/non-hodgkin-lymphoma/about/key-statistics.html. Consultado pela última vez a 2022/05/2

20. Schmidt KT, Andersen CY; ISFP Practice Committee. Recommendations for fertility preservation in patients with lymphomas. J Assist Reprod Genet. 2012;29(6):473-7. doi: 10.1007/s10815-012-9787-x.

21. Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, Cavalli F. Non-Hodgkin lymphoma. Lancet. 2017;390(10091):298-310. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32407-2.

22. Bowzyk Al-Naeeb A, Ajithkumar T, Behan S, Hodson DJ. Non-Hodgkin lymphoma. BMJ. 2018; 362:k3204. doi: 10.1136/bmj.k3204.

23. Shankland KR, Armitage JO, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. Lancet. 2012; 380(9844):848-57. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60605-9

24. Brown PA, Shah B, Advani A, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, J Natl Compr Canc Netw. 2021; 19(9), 1079-1109. doi:10.6004/jnccn.2021.0042

25. Curran E, Stock W. How I treat acute lymphoblastic leukemia in older adolescents and young adults. Blood. 2015; 125(24):3702-10. doi: 10.1182/blood-2014-11-551481.

26. Shah B, Abboud R, Advani A, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 1.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Natl Compr Canc Netw. 2022. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/all.pdf Consultado pela última vez em 2022/5/4

27. Schultz KR, Carroll A, Heerema NA, et al. Long-term follow-up of imatinib in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Children's Oncology Group Study AALL0031. Leukemia. 2014;28(7):1467–1471. doi:10.1038/leu.2014.30

28. Pollyea DA, Bixby D, Perl A, et al. NCCN Guidelines Insights: Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2021: Featured Updates to the NCCN Guidelines. J Natl Compr Canc Netw. 2021;19(1):16-27. doi:10.6004/jnccn.2021.0002

29. Hwang SM. Classification of acute myeloid leukemia. Blood Res. 2020;55(S1): S1-S4. doi:10.5045/br.2020.S001

30. Liu H. Emerging agents and regimens for AML. J Hematol Oncol. 2021; 14(1):49. doi: 10.1186/s13045-021-01062-w.

31. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017; 129(4):424-447. doi: 10.1182/blood-2016-08-733196.

32. Molica M, Breccia M, Foa R, Jabbour E, Kadia TM. Maintenance therapy in AML: The past, the present and the future. Am J Hematol. 2019; 94(11):1254-1265. doi: 10.1002/ajh.25620

33. Loren AW. Fertility issues in patients with hematologic malignancies. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2015; 2015:138-45. doi: 10.1182/asheducation-2015.1.138.

34. ISFP Practice Committee, Kim SS, Donnez J, et al. Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and breast cancer. J Assist Reprod Genet. 2012;29(6):465-8. doi: 10.1007/s10815-012-9786-y.

35. Blumenfeld Z. Fertility Preservation in Leukemia. The Oncologist. 2018; 23(6):645-646. doi: 10.1634/theoncologist.2017-0635.

36. Shapira M, Raanani H, Barshack I, et al. First delivery in a leukemia survivor after transplantation of cryopreserved ovarian tissue, evaluated for leukemia cells contamination. Fertil Steril. 2018; 109(1):48-53. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.09.001.

37. Deininger MW, Shah NP, Altman JK, et al. Chronic Myeloid Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2020; 18(10): 1385-1415. doi:10.6004/jnccn.2020.004

38. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016; 127(20):2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.

39. Cortes J, Pavlovsky C, Saußele S. Chronic myeloid leukaemia. Lancet. 2021; 398(10314):1914-1926. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01204-6.

40. Zamah AM, Mauro MJ, Druker BJ, et al. Will imatinib compromise reproductive capacity? The Oncologist. 2011;16(10):1422-7. doi: 10.1634/theoncologist.2011-0137.

41. Meirow D, Hardan I, Dor J, et al. Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients. Hum Reprod. 2008; 23(5):1007-13. doi: 10.1093/humrep/den055.

42. Abir R, Aviram A, Feinmesser M, et al. Ovarian minimal residual disease in chronic myeloid leukaemia. Reprod Biomed Online. 2014; 28(2):255-60. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.10.011

43. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, et al. Sickle cell disease. Nat Rev Dis Primers. 2018; 4:18010. doi: 10.1038/nrdp.2018.10.

44. Rodrigues P, Maltez F, Machado J, Proença R. Traço drepanocítico com nevrite óptica bilateral? — um quadro clínico raro. Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna. 2004; 11(1):17–22 URL: https://www.spmi.pt/revista/vol11/vol11_n1_2004_17_22.pdf

45. Ghafuri DL, Stimpson SJ, Day ME, James A, DeBaun MR, Sharma D. Fertility challenges for women with sickle cell disease. Expert Rev Hematol. 2017; 10(10):891-901. doi:10.1080/17474086.2017.1367279

46. Williams TN, Thein SL. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2018; 19:113-147. doi: 10.1146/annurev-genom-083117-021320.

47. Costa, S. N., Madeira, S., Sobral, M. A., & Delgadinho, G. (2016). Hemoglobinopatias em Portugal e a intervenção do médico de família. Revista Portuguesa De Medicina Geral E Familiar, 32(6), 416–24. URL: https://www.rpmgf.pt/ojs/index.php/rpmgf/article/view/1196

48. Pecker LH, Schaefer BA, Luchtman-Jones L. Knowledge insufficient: the management of haemoglobin SC disease. Br J Haematol. 2017 Feb;176(4):515-526. doi: 10.1111/bjh.14444

49. Leonard A, Tisdale JF. Stem cell transplantation in sickle cell disease: therapeutic potential and challenges faced. Expert Rev Hematol. 2018;11(7):547-565. doi:10.1080/17474086.2018.1486703

50. Elchuri SV, Williamson RS, Clark Brown R, et al. The effects of hydroxyurea and bone marrow transplant on Anti-Müllerian hormone (AMH) levels in females with sickle cell anemia. Blood Cells Mol Dis. 2015;55(1):56-61. doi: 10.1016/j.bcmd.2015.03.012.

51. Hagag AA, El-Farargy MS, Elrefaey S, Abo El-enein AM. Study of gonadal hormones in Egyptian female children with sickle cell anemia in correlation with iron overload: Single center study. Hematol Oncol Stem Cell Ther. 2016; 9(1):1-7. doi: 10.1016/j.hemonc.2015.11.005.

52. Gaytán M, Morales C, Bellido C, Sánchez-Criado JE, Gaytán F. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and ovulation: lessons from morphology. Histol Histopathol. 2006;21(5):541-56. doi:10.14670/HH-21.541

53. Pecker LH, Maher JY, Law JY, Beach MC, Lanzkron S, Christianson MS. Risks associated with fertility preservation for women with sickle cell anemia. Fertil Steril. 2018 ;110(4):720-731. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.016

54. Dovey S, Krishnamurti L, Sanfilippo J, et al. Oocyte cryopreservation in a patient with sickle cell disease prior to hematopoietic stem cell transplantation: first report. J Assist Reprod Genet. 2012;29(3):265-269. doi:10.1007/s10815-011-9698-2

55. Forget BG, Bunn HF. Classification of the disorders of hemoglobin. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3(2): a011684. doi: 10.1101/cshperspect.a011684.

56. Muncie HL Jr, Campbell J. Alpha and beta thalassemia. Am Fam Physician. 2009; 80(4):339-344.

57. Farashi S, Harteveld CL. Molecular basis of α-thalassemia. Blood Cells Mol Dis. 2018; 70:43-53. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.09.004

58. Origa R. β-Thalassemia. Genet Med. 2017; 19(6):609-619. doi:10.1038/gim.2016.173

59. Shang X, Xu X. Update in the genetics of thalassemia: What clinicians need to know. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017; 39:3-15. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.10.012

60. Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How I treat thalassemia. Blood. 2011;118(13):3479-3488. doi:10.1182/blood-2010-08-300335

61. Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. Hematol Oncol Clin North Am. 2018;32(2):193-211. doi: 10.1016/j.hoc.2017.11.006

62. Cappellini MD, Motta I. New therapeutic targets in transfusion-dependent and -independent thalassemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2017;2017(1):278-283. doi:10.1182/asheducation-2017.1.278

63. Castaldi MA, Cobellis L. Thalassemia and infertility. Hum Fertil (Camb). 2016;19(2):90-96. doi:10.1080/14647273.2016.1190869

64. Mamsen LS, Kristensen SG, Pors SE, et al. Consequences of β-Thalassemia or Sickle Cell Disease for Ovarian Follicle Number and Morphology in Girls Who Had Ovarian Tissue Cryopreserved. Front Endocrinol (Lausanne). 2021; 11:593718. doi:10.3389/fendo.2020.593718

65. Singer ST, Vichinsky EP, Gildengorin G, van Disseldorp J, Rosen M, Cedars MI. Reproductive capacity in iron overloaded women with thalassemia major. Blood. 2011;118(10):2878-2881. doi:10.1182/blood-2011-06-360271

66. Freitas C, Brazão K, Farinha Â, Vieira J, Ferreira M. Preservação da fertilidade na mulher com doença oncológica. Acta Med Port. 2011;24 Suppl 4:881-8. URL: https://actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/viewFile/1582/1165

67. Chen H, Xiao L, Li J, Cui L, Huang W. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in premenopausal women. Cochrane Database Syst Rev. 2019;3(3):CD008018. doi: 10.1002/14651858.CD008018.pub3

68. Chen H, Li J, Cui T, Hu L. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy induced premature ovarian failure in premenopausal women. Cochrane Database Syst Rev. 2011;(11):CD008018. doi: 10.1002/14651858.CD008018.pub2

69. Blumenfeld Z. How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embrya, oocytes, or ovaries. Oncologist. 2007; 12(9):1044-54. doi: 10.1634/theoncologist.12-9-1044.

70. Elgindy EA, El-Haieg DO, Khorshid OM, et al. Gonadatrophin suppression to prevent chemotherapy-induced ovarian damage: a randomized controlled trial. Obstet Gynecol. 2013;121(1):78-86. doi:10.1097/aog.0b013e31827374e2

71. Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, et al. Fertility Preservation in Patients with Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. J Clin Oncol. 2018; 36(19):1994-2001. doi: 10.1200/JCO.2018.78.1914.

72. Demeestere I, Brice P, Peccatori FA, et al. No Evidence for the Benefit of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist in Preserving Ovarian Function and Fertility in Lymphoma Survivors Treated with Chemotherapy: Final Long-Term Report of a Prospective Randomized Trial. J Clin Oncol. 2016;34(22):2568-2574. doi:10.1200/JCO.2015.65.8864

73. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, et al. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. J Clin Oncol. 2013; 31(19):2500-10. doi: 10.1200/JCO.2013.49.2678.

74. Dolmans MM, Manavella DD. Recent advances in fertility preservation. J Obstet Gynaecol Res. 2018;45(2):266-279. doi: 10.1111/jog.13818.

75. Pinto F, Oliveira C, Cardoso MF, et al. Impact of GnRH ovarian stimulation protocols on intracytoplasmic sperm injection outcomes. Reprod Biol Endocrinol. 2009; 7:5. doi: 10.1186/1477-7827-7-5.

76. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: where are we now? Hum Reprod Update. 2016; 22(4):440-9. doi: 10.1093/humupd/dmw007.

77. Sousa M, Cunha M, Teixeira da Silva J, et al. Ovarian hyperstimulation syndrome: a clinical report on 4894 consecutive ART treatment cycles. Reprod Biol Endocrinol. 2015; 13:66. doi: 10.1186/s12958-015-0067-3.

78. Penzias A, Bendikson K, Falcone T, et al. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. Fertil Steril. 2019;112(6):1022–1033. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.09.013.

79. Donnez J, Dolmans MM. Preservation of fertility in females with haematological malignancy. Br J Haematol. 2011; 154(2):175-84. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08723.x.

80. Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG, Bay-Bjørn AM, Ernst E, Yding Andersen C. Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort. J Assist Reprod Genet. 2018;35(4):561-570. doi: 10.1007/s10815-018-1144-2.

81. Lotz L, Dittrich R, Hoffmann I, Beckmann MW. Ovarian Tissue Transplantation: Experience from Germany and worldwide efficacy. Clin Med Insights Reprod Health. 2019; 13, 117955811986735. doi: 10.1177/1179558119867357.

82. Lee S, Ozkavukcu S, Ku SY. Current and future perspectives for improving ovarian tissue cryopreservation and transplantation outcomes for cancer patients. Reprod Sci. 2021;28(6), 1746–1758. doi: 10.1007/s43032-021-00517-2.

83. Póvoa A, Xavier P, Calejo L, et al. First transplantation of cryopreserved ovarian tissue in Portugal, stored for 10 years: an unexpected indication. Reprod Biomed Online. 2016;32(3):334-6. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.12.002

84. Shirasawa H, Terada Y. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation and research material. Reprod Med Biol. 2017;16(3):258-267. doi: 10.1002/rmb2.12042.

85. Cunha A, Póvoa AM. Infertility management in women with polycystic ovary syndrome: a review. Porto Biomed J. 2021; 6(1):e116. doi: 10.1097/j.pbj.0000000000000116.

86. Karavani G, Wasserzug-Pash P, Mordechai-Daniel T, Bauman D, Klutstein M, Imbar T. Age-Dependent in vitro Maturation Efficacy of Human Oocytes - Is There an Optimal Age? Front Cell Dev Biol. 2021; 9:667682. doi: 10.3389/fcell.2021.667682.

87. Soares M, Saussoy P, Maskens M, et al. Eliminating malignant cells from cryopreserved ovarian tissue is possible in leukaemia patients. Br J Haematol. 2017;178(2):231-239. doi:10.1111/bjh.14657

88. Paulini F, Vilela JM, Chiti MC, et al. Survival and growth of human preantral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicle isolation and short-term xenografting. Reprod Biomed Online. 2016;33(3):425-432. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.05.003.

89. Laronda MM, Rutz AL, Xiao S, et al. A bioprosthetic ovary created using 3D printed microporous scaffolds restores ovarian function in sterilized mice. Nat Commun. 2017; 8:15261. doi: 10.1038/ncomms15261.

90. Morohaku K, Tanimoto R, Sasaki K, et al. Complete in vitro generation of fertile oocytes from mouse primordial germ cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016; 113(32):9021-6. doi: 10.1073/pnas.1603817113.