

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE
MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DO MESTRADO INTEGRADO DE
MEDICINA

FALÊNCIA OVÁRICA PREMATURA

Ana Carolina Cadório Simões

Email: carolinacadorio@gmail.com

“Juntos, voamos sobre as montanhas e planamos ao sabor dos ventos e altitudes”

Richard Bach

ÍNDICE

Abreviaturas	5
Resumo.....	7
Abstract	8
I. Introdução	9
II. Material e Métodos.....	11
III. Desenvolvimento.....	12
Falência Ovária Prematura e Epidemiologia	12
Etiologia	12
1.FOP Primária	13
1.1. Causas Genéticas.....	13
1.2. Causas Autoimunes	27
2.FOP Secundária	31
2.1. Causas Iatrogénicas	31
2.2. Causas Virusais.....	34
2.3. Toxinas ambientais e outros	35
Apresentação Clínica da FOP	37
Consequências da FOP	38
1.Inferilidade.....	38
2.Osteoporose.....	38
3.Doenças cardiovasculares.....	39
Diagnóstico	39
1.Anamnese.....	40
2.Exame clínico	40
3.Exames Complementares de Diagnóstico.....	41

3.1. Etiologia genética.....	44
3.2. Etiologia autoimune.....	44
3.3. Etiologia de FOP secundária	45
Tratamento.....	47
1. Terapia Hormonal (TH).....	47
1.1. Alternativas à TH	48
2. Osteoporose.....	49
3. Infertilidade.....	50
3.1. Criopreservação	51
4. Tratamento da FOP autoimune.....	52
5. Aconselhamento e apoio emocional	52
Profilaxia da FOP	53
1. Radioterapia	53
2. Quimioterapia	54
Tratamentos Futuros para Reversão da Falência Ovárica	55
1. Uso de células estaminais.....	55
1.1. Células Estaminais Endometriais Humanas	55
1.2. Células humanas do líquido amniótico	56
1.3. Células estaminais mesenquimatosas derivadas da pele.....	57
1.4. Células da medula óssea.....	57
2. Uso de Adenovírus com expressão de FSHR	57
IV. Conclusão.....	59
V. Agradecimentos	62
Referências.....	63

ABREVIATURAS

FOP – Falência Ovária Prematura

POF – *Premature Ovarian Failure*

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

TGF β - *transforming growth factor β*

FSH - *Follicle-stimulating hormone*/Hormona folículo-estimulante

FSHR - recetor de FSH

LH - *lutheinizating hormone*/hormona luteinizante

LHR - recetor de LH

BPES - blefarofimose-ptose-epicanto invertido

FMR1 - Fragile X Mental Retardation

E₂ - Estradiol

INHA - inibina α

ESR1 - Recetor de estrogénio α

SNPs - *single-nucleotide polymorphisms*

NR5A1 - *nuclear recetor sufamily5, groupA, member1*

SF1 - fator esteroideogénico 1

GALT - galactose-1-fosfato uridil transferase

PEACDE - Poliendocrinopatia autoimune-candidíase-distrofia ectodérmica

LES - Lupus Eritematoso Sistémico

ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

Citocromo P450 scc - *cytochrome P450 side chain cleavage enzyme*

IgG - imunoglobulina G

ASIA - Síndrome Autoimune/Inflamatório induzido por adjuvantes

HPV - vírus do papiloma humano

DL50 - dose letal média

Gy - gray

SOPQ - síndrome do ovário poliquístico

DOL - *drilling* dos ovários por laparoscopia

CFA - contagem de folículos antrais

HAM - hormona antimuleriana

DVC - Diepóxido 4-vinilciclohexeno

FISH - *Fluorescence in situ hybridization*

anti-TPO - anticorpos antitiroperoxidase

TH - terapia hormonal

WHI - *Women's Health Initiative*

CEEH - Células estaminais endometriais humanas

CEMH - células estaminais mesenquimatosas humanas

CHLA - células humanas do líquido amniótico

MHC II - complexo imunohistoquímico *major* classe II

MHC I - complexo imunohistoquímico *major* classe I

CEMP - células estaminais mesenquimatosas derivadas da pele

GnRH_a - análogos de GnRH

MSRE - Moduladores seletivos dos recetores de estrogénio

Ad- hFSHR - adenovírus com expressão *full length* do gene humano FSHR

PMA - procriação medicamente assistida

ASCO - *American Society of Clinical Oncology*

ESMO - *European Society for Medical Oncology*

RESUMO

A Falência Ovárica Prematura (FOP) afeta 1% da população feminina mundial, tendo maior prevalência na raça caucasiana (1%) e africana (1,4%). A patologia consiste num hipogonadismo hipergonadotrófico associado a amenorreia e hipoestrogenismo em mulheres com idade inferior a 40 anos.

Nesta revisão da literatura médica internacional, pesquisada na base de dados *PubMed e Index online*, aborda-se a FOP e os avanços mais recentes nesta área, desde novas propostas etiológicas, em específico, novos genes candidatos, testes diagnósticos mais precisos e novas formas de tratamento que perspetivam, no futuro, a reversão da própria doença.

Considerando as causas de FOP, 74-90% permanecem desconhecidas, sendo este um grande obstáculo para um diagnóstico precoce e um tratamento mais dirigido e eficaz. A FOP pode ser primária (causas genéticas, autoimunes) e secundária (causas iatrogénicas e infecciosas). Acredita-se que a etiologia genética representa mais de 40% das causas, no entanto até ao momento foram propostos vários genes candidatos mas nenhum tem uma prevalência que justifique a sua identificação no diagnóstico etiológico. O diagnóstico é estabelecido quando temos uma tríade de amenorreia, FSH >30 mUI/ml (em duas medições consecutivas, intervaladas por, pelo menos, 1 mês) e hipoestrogenismo.

Atualmente o tratamento apoia-se principalmente na terapia hormonal que irá atuar a nível dos sintomas e consequências a longo prazo. Contudo, não permite a recuperação da função ovárica. Os estudos de investigação têm sido realizados nesse sentido e a transplantação de células estaminais para o microambiente ovárico parece ser promissor, assim como o uso de vírus com expressão de FSHR.

Palavras-chave: Falência Ovárica Prematura, diagnóstico, etiologia, genética, tratamento, gestão clínica, consequências.

ABSTRACT

The Premature Ovarian Failure (POF) affects 1% of the world's female population, with a higher prevalence in Caucasian (1%) and African (1,4%) race. The pathology is a hypergonadotrophic hypogonadism associated with amenorrhea and hypoestrogenism in women under the age of 40.

This review of medical literature, researched in *online PubMed* and *Index* database, approaches the POF and the latest advances in this area, from new etiological proposals, in particular, new candidate genes, more accurate diagnostic tests and new treatments that promise new developments in the natural course of the disease itself.

Considering the causes of POF, 74-90% remain unknown, which is a major obstacle to early diagnosis and more individualized and effective treatment. POF is classified as primary POF (genetic, autoimmune) and secondary POF (iatrogenic, infections). It is believed that over 40% of POF is caused by genetic anomalies however until now several candidate genes have been proposed but none has a prevalence that justifies inclusion in diagnostic tests. The diagnosis is established when we have a triad of amenorrhea, FSH >30 mIU/ml (in two consecutive measurements, spaced at least 1 month) and hypoestrogenism.

Currently, treatment relies almost entirely on hormone replacement therapy that will only relief symptoms and long-term consequences. However, this does not allow the recovery of normal ovarian function. The future of this disease is based on the resolution of this problem. Studies have been conducted in this direction and the transplantation of stem cells for ovarian microenvironment seems to be promising, as well as the use of viruses with FSHR expression.

Keywords: Premature Ovarian Failure*, diagnosis*, etiology*, genetic*, treatment*, management*, consequences*.

I. INTRODUÇÃO

A Falência Ovária Prematura (FOP) define-se por um hipogonadismo hipergonadotrófico, associada a um quadro de amenorreia, hipoestrogenismo e níveis elevados de gonadotrofinas em mulheres com idade inferior a 40 anos.

Esta patologia afeta 1% da população feminina com menos de 40 anos, tendo assim uma reduzida amostra na população. A causa é idiopática em 74% a 90% dos casos. O facto de a etiologia não ser conhecida permanece um grande obstáculo numa decisão terapêutica mais dirigida e em possíveis atitudes preventivas.

A FOP é um distúrbio heterogéneo e multifatorial e pode ser classificada em primária (causas genéticas e autoimunes) ou secundária (infecções, cirurgia pélvica, quimioterapia e radioterapia).

O diagnóstico de FOP é tardio e é estabelecido quando FSH (Hormona folículo-estimulante) sérico está acima de 30 mUI/mL em duas medições realizadas com um intervalo superior a um mês, com ocorrência de amenorreia. Os elevados níveis séricos de FSH estão associados a baixos níveis de estrogénios.

A clínica da FOP assenta sobretudo em sintomas vasomotores, urogenitais, disfunção sexual e perturbação do sono. Também podem ser acompanhados de outros sintomas como cefaleias, depressão, ansiedade e labilidade emocional. Para além destes sintomas a curto prazo, a FOP acarreta também consequências a longo prazo como osteoporose, doenças cardiovasculares e infertilidade, sendo que este último tem um grande impacto emocional nas mulheres afetadas.

A abordagem da FOP deveria iniciar-se com a identificação da causa etiológica e prosseguir com a reversão da mesma. No entanto, sendo a maioria das causas não identificadas o tratamento até agora disponível consiste apenas em melhorar a sintomatologia.

Novos artigos propuseram tratamentos de reversão da disfunção ovárica mas ainda nenhum foi aprovado.

Assim, proponho-me em fazer uma revisão da literatura científica sobre a FOP para apurar as novas causas descobertas, genes candidatos que poderão ser alvo de tratamento no futuro, exames de diagnóstico que permitam um diagnóstico mais precoce e ainda tratamentos inovadores a nível da restauração da função ovárica e da fertilidade.

Dado que a população alvo é uma reduzida amostra, e uma vez que não há formas de prever a instalação da FOP o seu estudo através de ensaios clínicos torna-se difícil. Contudo, perante o impacto que a FOP causa a nível da morbilidade e mortalidade em mulheres jovens, é de extrema importância um investimento nesta área.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica sistemática de artigos originais e revisões publicados entre 2008 e 2015, utilizando o método “*Pull*”, com pesquisa através dos motores de meta-pesquisa: SUMsearch e TRIPdatabase e com pesquisa direta nas bases de dados da literatura, nomeadamente: Embase, *PubMed* e *Index online* de revistas médicas. Incluindo-se artigos científicos nos idiomas português e inglês. Para a *string* foram utilizadas as seguintes palavras-chave, em combinações variadas: premature ovarian failure*, diagnosis*, etiology*, genetic*, treatment*, management*, consequences*.

Tendo em vista a compreensão do trabalho, é importante esclarecer-se os aspetos fisiológicos e clínicos inerentes à falência ovárica. Reviu-se, nomeadamente, a etiologia, os métodos de diagnóstico (inclusive possíveis novos testes), tratamento e futuros possíveis tratamentos ou fatores etiológicos significativos.

Procedeu-se, por fim, à análise dos artigos, dando maior relevância aos que apresentavam informação mais pertinente e que melhor se enquadrava nos objetivos deste trabalho.

III. DESENVOLVIMENTO

FALÊNCIA OVÁRICA PREMATURA E EPIDEMIOLOGIA

A terminologia falência ovárica prematura é relativamente recente – menopausa precoce era o termo anteriormente utilizado, mas devido ao seu caráter de permanência inerente foi substituído por FOP ou sinónimos como Disfunção Ovárica Prematura ou Insuficiência Ovárica Prematura, uma vez que a ovulação e a gravidez podem ocorrer posteriormente ao diagnóstico. Quanto à nomenclatura há ausência de consenso internacional, no entanto neste artigo o termo utilizado será FOP.

Relativamente ao fenótipo, as mulheres podem ter amenorreia primária ou podem experienciar um término da função ovárica já depois de ter tido ciclo menstrual.

A incidência reportada de FOP é 1 em cada 1000 mulheres com idade de 30 anos e 1 em cada 100 mulheres de 40 anos, variando em função da idade. Da mesma forma, também varia consoante a etnia, sendo mais prevalente na raça Caucasiana (1%) e Africana (1,4%) comparativamente aos Japoneses (0,1%) e Chineses (0,5%).^{1,2}

No que toca a fatores de risco, ainda não foi possível chegar a um consenso. *La Progetto Menopausa Italia Study Group* demonstrou que a inexistência de relação da FOP e a idade da menarca, o nível de educação, o tabaco ou a toma de contraceção oral.²

ETIOLOGIA

Para entender as potenciais causas da FOP, é necessário uma compreensão de todo o processo de foliculogénese e maturação folicular. O conhecimento da verdadeira causa da FOP não só irá permitir um tratamento mais adequado e dirigido como também estudo e aplicação de métodos de prevenção em grupos de risco.

A FOP é um distúrbio heterogéneo e multifatorial, explicada por três possíveis mecanismos fisiopatológicos: depleção primitiva da reserva de folículos primordiais; atresia

folicular acelerada e um bloqueio na maturação folicular.² Pode ser classificada como primária (relacionadas com alterações genéticas e autoimunes, sendo que a principal causa é o síndrome de Turner) ou secundária (engloba infecções, cirurgia pélvica, quimioterapia e radioterapia).¹

Estudos baseados em biopsias, descobriram, de forma uniforme, que a maioria dos casos de FOP ocorrem por uma depleção acelerada dos folículos primordiais, tal como a menopausa fisiológica, diferenciando o espaço de tempo em que ocorre. Este fato sugere que ocorrem anormalidades intrínsecas ou dano nos folículos primordiais, afetando a ovulação ou sobrevivência inicial que são a base unificadora patofisiológica da FOP.³

As causas de FOP são maioritariamente desconhecidas, designando-se por FOP idiopática, que ocorre em 74 a 90% dos pacientes.¹ Até à atualidade as causas identificadas não abrangem a maioria dos casos.

1. FOP PRIMÁRIA

1.1. CAUSAS GENÉTICAS

Estima-se que mais de 40% dos casos de FOP possa ser atribuído a causas genéticas e a lista de possíveis genes relacionados está ainda a aumentar.⁴ Esta ideia de possível etiologia genética surgiu com base na ocorrência desta patologia em várias mulheres da mesma família⁵. A deteção precoce e identificação das mutações específicas, permitiria uma melhor oportunidade para uma intervenção antecipada (criopreservação de oócitos ou tecido ovário) assim como permitiria um maior foco sobre os alvos potenciais para intervenção terapêutica.⁵

As causas genéticas da FOP podem ser cromossómicas ou génicas, envolvendo o cromossoma X ou autossomas. As mutações relacionadas com o cromossoma X representam 13% dos casos de FOP, seguida pela pré-mutação FMR1 que representa 6%.⁵

Um número crescente de genes envolvidos na FOP não-sindrómica têm sido descobertos. No entanto, à exceção do gene FSHR nas mulheres finlandesas, nenhum deles está implicado

em mais de 10% dos casos de FOP em determinado grupo étnico, sendo difícil encontrar uma causa etiológica relevante e plausível para testes de rastreio.⁶

Os vários genes implicados na patogénese da FOP têm como mecanismo base os danos da meiose, que por sua vez causa uma diminuição da reserva de folículos primordiais, um aumento de atresia folicular devido à apoptose ou falência da maturação folicular.⁷

Para sistematizar os potenciais genes candidatos da FOP introduzi a *Tabela 1*.

5.1.1 Mutações/Cromossomopatias do cromossoma X

Síndrome de Turner

Mutação caracterizada pela monossomia completa do X (45, X) ou, numa minoria dos casos, por mosaïcismo⁸. Clinicamente, este síndrome é caracterizado por uma disgenesia gonadal com amenorreia primária, imaturidade sexual, pescoço alado, *cubitus valgus* e baixa estatura.

Esta cromossomopatia é a mais frequente na FOP a sua fisiopatologia consiste numa atresia folicular acelerada, com perda de oócitos em prófase meiótica, durante a infância ou por vezes faixas etárias mais avançadas, levando à infertilidade. *Ogata* e *Matsuo* sugeriram a possibilidade da monossomia X conduzir a erros de emparelhamento não-específicos durante a meiose que, por sua vez, leva ao aumento da probabilidade de atresia das células germinais, culminando em FOP.⁵

Trissomia X (47,XXX)

Esta aneuploidia é apenas identificada em 10% dos casos. O mosaïcismo ocorre apenas em 10% dos casos de trissomia X e em várias combinações. Relativamente à clínica, pode-se apresentar por diversas formas (*hipertelorismo*, *pés planus*, *pectus excavatum*, hipotonia entre outros), no entanto problemas médicos major não são frequentes, sendo defeitos no sistema

genitourinário, rim único ou displásico e malformações ováricas quadros típicos. O início da puberdade/desenvolvimento sexual ocorre normalmente, mas múltiplos casos de hipogonadismo hipergonadotrófico foram encontrados, entre os 19-40 anos de idade. Um estudo realizou rastreios genéticos em mulheres com FOP e identificou 3 % de casos de trissomia X. Paralelamente, uma larga percentagem de casos com FOP de trissomia X foram associados a doenças autoimunes.⁵

Rearranjos no Cromossoma X

Existe uma “região crítica” no cromossoma X relacionada com o desenvolvimento ovário - Xq13.3 a q27. Os vários mecanismos propostos para explicar a insuficiência ovária atribui-se ao tamanho da região crítica – esta alteração pode ocorrer por disrupção direta de *loci* relevante ou “efeitos de posição” (mecanismo de deleção ou translocação de sequências reguladoras para diferentes posições no genoma) causadas por rearranjos em genes contínuos que vão afetar a transcrição génica.⁵ Estudos realizados referem que 80% dos pontos de rutura no cromossoma X nas translocações equilibradas, associados à FOP, estão localizados em Xq21. Em 2009, foi demonstrado que esta região está associada a heterocromatina com uma conformação específica, estando assim mais suscetível a “efeitos de posição”, levando a mudanças epigenéticas.² De referir que deleções do braço curto do cromossoma X, muitas vezes associadas a Síndrome de Turner, também causam grande impacto, como já referido acima, traduzindo um fenótipo de amenorreia primária. Ao passo que deleções no braço longo tanto se pode manifestar como insuficiência ovária primária ou secundária, contendo ambos os braços, genes importantes para a função ovária.⁵

Gene FMR1 e FMR2

O Síndrome do X Frágil é uma doença hereditária, de penetrância incompleta, e é a forma

mais comum de atraso mental. É causada pela expansão da repetição do segmento de trinucleótido de ADN (ácido desoxirribonucleico) – CGG - que leva à alteração da transcrição do gene FMR1 (Fragile X Mental Retardation), localizado em Xq27.3.^{5,9} Esta mutação é classificada de acordo com o número de repetições do trinucleótido em três classes de alelos: alelos normais (6 a 55 repetições), pré-mutação (55 a 200 repetições) e mutação completa (acima de 200 repetições). Surgiram duas hipóteses para justificar a forma como a pré-mutação pode causar disfunção ovárica e FOP – uma reserva ovárica diminuída ou uma atresia acelerada.⁵

É estimado que cerca de 21% dos casos familiares de FOP estão associados a esta mutação. A incidência de FOP em mulheres portadoras da pré-mutação pode variar entre 20 e 28%, enquanto que em mulheres sem a mutação têm uma incidência de 0,1 a 1%, o que comprova a relação entre FMR1 e FOP. *Sullivan et al.* observou que os portadores da pré-mutação têm uma frequência 13 vezes maior de ter FOP e a idade da menopausa ocorre numa média de 5 anos antes da idade média de menopausa da população em geral.

O fenótipo da pré-mutação é muito variável e geralmente não associado ao quadro de atraso mental. No entanto, foi observado várias portadoras com doenças associadas à menopausa como patologia tiroideia, hipertensão, osteoporose, fibromialgia e neuropatia periférica.

A Comité de Opinião de *The American College of Obstetricians and Gynecologists*, defendem que em mulheres com história pessoal ou familiar de falência ovárica ou altos níveis de FSH antes dos 40 anos devem realizar o teste para a pré-mutação de FMR1.⁹

O gene FMR2 está localizado em Xq28, e como FMR1 tem um trinucleótido de repetição entre o exão 1 e também ocorre mutação completa ou pré-mutação. Foram descritos casos de deleção no gene FMR2 em mulheres com uma frequência de FOP de 1,5%, ao passo que os casos controle mostraram uma frequência de 0,04%. É assim plausível afirmar que deleções

nesta área conduzem ao término da transcrição gênica ou força o uso de um codão de iniciação alternativo, gerando transcrições aberrantes de FMR2.^{2,5}

Gene BMP15

O gene BMP15 codifica uma proteína da grande família de TGF β (*transforming growth factor β*) e está localizado em Xp11.22 proximal à região candidata do Síndrome de Turner. O seu papel parece ser mais relevante para a maturação folicular ou na determinação da reserva ovária do que estabelecer o número final de folículos ovários. *Tiotiu et al.* descobriu nove variantes do gene BMP15, incluindo 6 substituições *missense* e uma inserção de nucleótidos em pacientes com FOP. No entanto, esta etiologia é rara e a determinação destas variantes exigem muito tempo.^{2,5}

5.1.1 Mutações de genes autossômicos

LHR e LH

A ovulação pode ser subdividida em 3 passos sequenciais: a continuação da meiose do oócito, a expansão do *cumulus oophorus* e a ruptura do folículo. Este processo é desencadeado pela ligação da LH (hormona luteinizante) ao seu recetor – LHR (receptor da hormona luteinizante) – presentes na parede de células da granulosa, que por sua vez ativa várias famílias da proteína G. Estudos sugerem que a indução da expressão de *Pgr* (gene codificador do recetor de progesterona) e a ovulação envolve a ativação LHR-dependente das famílias da proteína G. A incapacidade do recetor LHR ativar a via das várias famílias da proteínas G vai levar a um estado de infertilidade.¹⁰

A LH tem um importante papel na manutenção de produção de progesterona pelo corpo lúteo no desenvolvimento folicular, na estimulação da esteroidogénese e maturação do oócito. Também promove a ovulação e a luteinização do folículo ovário, que por sua vez estimula a

produção de androgénios que funcionam como substrato para a síntese do estradiol folicular. A secreção anormal de LH induz à anovulação, insuficiência lútea e maturação prematura do oócito, o que leva a distúrbios menstruais e infertilidade. G1502A é um polimorfismo da subunidade β do gene da LH que causa a substituição de serina por glicina o que afeta a normal conformação e função de LH levando às alterações referidas.⁵

FSHR

Durante o período reprodutivo, FSH em conjunto com LH regula a produção de hormonas sexuais como o estradiol (E_2) e a progesterona pelas células da teca que envolvem os folículos em desenvolvimento.⁵

O recetor de FSH (FSHR), codificado por um gene no cromossoma 2, tem sido considerado com importante gene causador de FOP. As mutações de FSHR envolve variações na sequência de aminoácidos na proteína que compõe o recetor e estas alterações estruturais tanto podem culminar na intensificação das suas funções (mutação ativadora) ou numa perda de função (mutação inativadora).¹¹

A mutação inativadora impede a formação do complexo ligando-recetor ou a transdução do sinal de FSH, podendo esta ser responsável por amenorreia primária ou secundária, infertilidade ou FOP.¹¹ Diversas mutações e polimorfismos têm sido descritos em mulheres com FOP, nomeadamente a mutação *missense* C566T, no gene FSHR (2p21), presente em 6 famílias finlandesas com FOP, no entanto *Sunblad et al.* e *Vilodre et al.* não conseguiram demonstrar a sua associação. Estudos em ratos fêmea portadores do gene *Fshr* mutado apresentam um fenótipo semelhante a FOP ou de infertilidade, uma vez que a foliculogénese fica bloqueada no estágio primário. Este é retomado com a injeção intraovárica de adenovírus portadores do gene humano FSHR.⁵

Kim et al, descobriu que o efeito genético combinado entre os polimorfismos CYP19A1 rs4646 (CA+AA) e FSHR 2039 (AG+GG) pode estar relacionado com risco para FOP.¹²

INHA

A inibina, assim como a ativina, é membro da superfamília de TGF β e esta atua principalmente como um modulador endócrino hipofisário, responsável pela síntese de FSH. Secundariamente também atua a nível local no ovário, estimulando a biossíntese de androgénios pelas células da teca, através da sua função parácrina. Tem outros papéis nas células da granulosa, que incluem antagonismo da ativina, proteínas ósseas morfogenéticas e diferenciação e fator de crescimento 9.¹³

Existem duas formas de inibinas no tecido humano: inibina A e inibina B e ambas são expressas no ovário e são secretadas ao longo do ciclo menstrual de forma discordante. Numa fase folicular precoce, com a elevação dos níveis de FSH, há uma elevação dos níveis plasmáticos de inibinas, sendo mais pronunciado o aumento da inibina B. Enquanto que a Inibina B é maioritariamente produzida pelas células da granulosa do folículo em desenvolvimento, a inibina A é produzida em maior quantidade a meio do ciclo menstrual, provocando a supressão de FSH. Na fase lútea, o corpo lúteo mantém a secreção de inibina A.¹³

Quando a reserva ovárica de folículos expira numa mulher pré-menopausica, ocorre um declínio dos níveis de inibina que está correlacionado com o aumento da secreção hipofisária de FSH. Assim, tendo em conta o papel da inibina sobre a hipófise e a sua influência parácrina sobre os ovários, permite concluir que a inibina desempenha uma importante ação na regulação da função ovárica e foliculogénese, sendo um gene candidato para FOP.¹³

Na FOP o declínio dos níveis de inibina podem resultar em concentrações elevadas de FSH, aumento do recrutamento de folículos e um aumento da velocidade de perda das

reservas ováricas. De facto, os níveis de inibina sérica sofrem um decréscimo na fase que antecede a menopausa.¹³

Foi identificado uma mutação autossómica no gene da subunidade α da inibina (INHA G769A) significativamente ligada à FOP. Esta causa uma redução da bioatividade da inibina B, no entanto esta mutação sozinha não é causa para a FOP, sendo apenas um fator de suscetibilidade, aumentando a probabilidade de ter esta patologia. Outros fatores predisponentes como a etnia, a qualidade de vida e outros genes, desempenham um papel no fenótipo da mutação, mas estes necessitam de mais estudos.¹³

FOXL2 e Blefarofimose-ptose-epicanto invertido

Acredita-se que os fatores de transcrição *forkhead* (FOX) são responsáveis pelo controlo dos processos relacionados com o envelhecimento, cancro e diabetes.

A Síndrome de blefarofimose-ptose-epicanto invertido (BPES) é autossómica dominante, limitada ao sexo caracterizada por alterações do desenvolvimento das pálpebras. Existem dois tipos de BPES: tipo I está associado a infertilidade devido a amenorreia primária ou FOP e o tipo II, não está relacionado com FOP.^{7,14}

FOXL2, localizado em 3q22.3, é um gene responsável por ambos os tipos de BPES, sendo que está expresso no mesênquima das pálpebras em desenvolvimento e nas células da granulosa do ovário, consistente com o seu papel no desenvolvimento das pálpebras e diferenciação ovárica. *Park et al*, descobriu uma interação entre as proteínas FOXL2 e SF1 (fator esteroideogénico 1) nas células da granulosa, sendo que na mutação de FOXL2 em pacientes com BPES tipo I, não consegue reprimir o gene CYP17 SF1-mediado, sendo que este (CYP17) codifica uma enzima esteroideogénica.⁵ Foi reportado o papel do FOXL2 na regulação da transcrição dos genes de folistatina e recetor de GnRH no hipotálamo. O

envolvimento do FOXL2 na rede de sinalização hormonal do ciclo sexual humano ainda é pobremente conhecido.^{14,15}

FOXO3

FOXO3 é um fator de transcrição *forkhead*, um mestre da regulação e potente supressor da ativação primordial folicular, localizado em 6q21. A perda da sua função leva à ativação global dos folículos primordiais que ocorre quase imediatamente depois da conclusão de formação do folículo, dentro de poucos dias após o nascimento, levando à FOP ou amenorreia primária idiopática.^{3,5}

Assim, estudos provam que a haploinsuficiência das mutações de FOXO3 podem acelerar o aparecimento de insuficiência ovárica. Aliás, vários síndromes dominantes autossômicos hereditários ocorrem devido à haploinsuficiência de fatores de transcrição *forkhead*.³

A ausência do gene FOXO3 nos ratos reproduz um fenótipo semelhante ao de FOP em humanos, sendo possível que a mutação de FOXO3 em humanos tenha consequências fenotípicas mais severas. No entanto, tendo em conta o número de mulheres com FOP reportadas portadoras desta mutação, não a podemos considerar como causa comum.^{3,15}

ESR1 (gene do recetor de estrogénio α)

O crescimento folicular e a sua maturação ocorre sob a influência sinérgica do estrogénio, FSH e LH no ovário. Considerando que a reserva folicular inicial e a sua taxa de perda/atrésia está associada à idade da menopausa, podemos inferir que variantes genéticas nos recetores das hormonas sexuais podem levar a FOP.¹⁶

Existem dois tipos de recetores de estrogénio – o recetor- α (ER- α) e o recetor- β (ER- β) que codificam os genes ESR1 e ESR2 respetivamente. O estrogénio atua através do ER- α no

eixo hipotálamo-hipófise-ovário para estimular a liberação de gonadotrofinas e regular a foliculogênese e atua no ER- β no ovário para intensificar o desenvolvimento folicular.¹⁶

O gene humano ESR1 está localizado no cromossoma 6q25.1 e consistem em 8 exões separados por 7 intrões. O intrão 1 do gene ESR1 contém dois SNPs (*single-nucleotide polymorphisms*) em *Pvu II* (-397 T/C, rs2334693) e *Xba I* (-351 A/G, rs9340799) que correspondem a locais de enzimas de restrição associadas a risco de desenvolver FOP. No entanto, estudos sobre estes SNPs revelaram-se inconclusivos e contraditórios. *He et al.*, conclui no seu estudo de meta-análise que o polimorfismo *Pvu II* do gene ESR1 tem uma significativa associação com risco aumentado para FOP. Enquanto que o polimorfismo *Xba I* não está associado a risco de FOP na população em geral, mas tem um risco significativo na população asiática.¹⁶

O gene CYP19A1 codifica a aromatase, uma enzima chave para a biossíntese de estrogênio.¹⁵ Para além das alterações genéticas já referidas, *Kim et al.* estudou o efeito da interação entre os polimorfismos CYP19A1 (rs10046, C/T) e ESR1 (rs1569788, C/T). Descobriu que existe uma associação significativa entre a FOP e a ação combinada entre estes dois polimorfismos, sugerindo que a epistasia entre ESR1 e CYP19A1 pode estar envolvida na foliculogênese.⁵

SOHLH2

SOHLH2, tal como SOHLH1, codifica um fator principal de transcrição hélice-*loop*-hélice básico (*bHLH transcription regulator*), que por sua vez está implicado no início da oogénese e espermatogénese. Estudos demonstraram que ratos fêmea sem o gene *Sohlh2* exibem um fenótipo de infertilidade e ovários atroficos, desprovidos de folículos, imitando o fenótipo de FOP nos humanos.

Yingying et al, através de um estudo realizado em mulheres chinesas e siberianas provou que SOHLH2 está efetivamente implicado na etiologia da FOP idiopática. Cinco variantes heterozigóticas foram identificadas p.Glu79Lys, p.Glu105Gly, p.Thr321Pro, p.Leu120Phe e p.Leu204Phe.

Um subconjunto de fatores de transcrição com os seus alvos em oócitos, incluindo *Sohlh1*, *Figla*, *Nobox*, *Lhx8*, *Pou5f1*, *Kit*, *Zp1*, *Zp3* e *Gdf9*, estavam mal expressos em ovários deficientes em *Sohlh2*. Este facto leva a crer que, na rede complexa que envolve as células germinativas, tanto SOHLH2 e SOHLH1 são fatores de transcrição principais de outros fatores de transcrição. Os vários polimorfismo identificados podem tanto afetar a expressão, atividade de transativação ou a própria proteína SOHLH2, resultando conseqüentemente no distúrbio da transição de folículo primordial para primário e na exaustão prematura dos oócitos, levando à FOP.

Nenhuma das variantes, no entanto, explicam mais de 10% dos casos de FOP nos respetivos grupos étnicos, mas realça a importância dos fatores de transcrição na oogénese prematura e foliculogénese. Mais uma vez, conclui-se que a FOP é caracterizada por uma heterogeneidade genética, com diversos *loci* distintos, dentro da mesma etnia.⁶

NR5A1 e SF1

O gene NR5A1 (*nuclear receptor sufamily5, groupA, member1*), localizado em 9q33.3 cariótipo humano, codifica o SF1, um fator de transcrição intracelular que regula o desenvolvimento e função adrenal, gonadal e também cerebral, através da regulação da expressão de genes-chave como SRY, SOX9 e AMH. As mutações na sequenciação de NR5A1 têm sido associadas com distúrbios do desenvolvimento sexual, desde disgenesia gonadal completa a hipospadias severas em pacientes 46,XY (importante papel no desenvolvimento sexual masculino), e FOP em pacientes 46,XX.¹⁷

A expressão de NR5A1, no sexo feminino, é persistente desde do desenvolvimento ovárico precoce, através das fases de diferenciação sexual, ditando uma morfogênese ovárica normal. Após a puberdade NR5A1 torna-se importante nas células ováricas somáticas, liderando uma adequada esteroidogênese e ciclo folicular.¹⁷

Uma deleção do gene NR5A1 em ratos, resulta em morte prematura pós-natal por falência do desenvolvimento adrenal. Já a sua inativação condicional nas células da granulosa resulta ratos XX estéreis com ovários hipoplásticos com ausência de corpo lúteo e com quistos hemorrágicos. Nos humanos, acredita-se que a mutação de NR5A1 distorbe a regulação da expressão das enzimas envolvidas na esteroidogênese ovárica, afetando a produção de estrogênios, culminando em FOP.^{5,17}

Em casos esporádicos de FOP, a frequência da mutação NR5A1 é aproximadamente 3-8%. Foram encontradas 4 famílias com fenótipos de distúrbios do desenvolvimento sexual 46,XY e FOP 46,XX, portadores de mutações de “perda de função” de NR5A1.¹⁷

Park et al, descobriu que as proteínas endógenas FOXL2 e SF1 interagem na linhagem de células da granulosa, sendo que FOXL2 regula negativamente a atividade transcricional de SF1 na enzima CYP17.⁵

NOBOX

NOBOX é um gene que pertence à família dos genes *homeobox*, sendo que estes são responsáveis pela formação de muitas estruturas do corpo durante o desenvolvimento embrionário inicial. O gene NOBOX está expresso no ovário do recém-nascido, especialmente nos oócitos, e é um gene regulador dos genes chave dos oócitos. A sua disfunção genética ocorre em mulheres com FOP.¹⁸

Uma mutação em NOBOX resulta na incapacidade das células granulosa rodearem os oócitos individualmente enquanto o processo de maturação decorre, resultando na formação

de folículos poliovulares. Adicionalmente ocorre também interações célula-célula que sugerem que as propriedades de reconhecimento e adesão durante a organização folicular estão comprometidas culminando na sentença de morte dos folículos envolvidos no início da vida pós-natal e comprometendo a reserva folicular. Reforça-se assim a importância do diálogo de iniciação e manutenção entre as células somáticas e o oócito.¹⁸

No entanto, a mutação do gene NOBOX é uma causa pouco frequente da FOP.¹⁵

GALT e Galactosemia

Galactosemia clássica é uma doença autossômica recessiva rara, também considerada como uma causa metabólica de FOP, que ocorre devido a uma deficiência da enzima galactose-1-fosfato uridil transferase (GALT). Esta doença decorre por danos a nível do gene GALT, localizado no cromossoma 9p13 e mulheres homozigóticas para a mutação apresentam FOP com início precoce ou tardio nas suas vidas.^{7,19}

A nível clínico esta patologia é caracterizada por danos a nível hepatocelular, ocular, renal e neurológico, conseqüente da acumulação de galactose e dos seus metabolitos. A prevalência de FOP em mulheres com a doença é de 60-70%, no entanto existe controvérsia relativamente à patofisiologia do dano ovárico que apesar das várias hipóteses propostas ainda não foi possível chegar a uma conclusão definitiva quanto ao mecanismo. As mulheres que sofrem de galactosémia apresentam um número severamente diminuído de folículos primordiais.^{7,19}

GALT 188Q é um marcador genético que tem sido identificado em alguns doentes com galactosémia. Mas a FOP não foi diagnosticada em indivíduos heterozigóticos para a mutação GALT 188Q.⁷

Deficiência de 17 α -hidroxilase

Defeitos na biossíntese dos esteroides sexuais pode levar a FOP, dependendo de qual é a deficiência enzimática em questão.¹⁹

Perante a deficiência em 17 α -hidroxilase, a pregnenolona não pode ser convertida em 17 α -hidroxipregnenolona. Uma vez que a pregnenolona é a precursora de todas as hormonas sexuais, ao não ser metabolizada ocorre uma redução de produção de cortisol, androstenediona, testosterona e estrogénios.¹⁹

Esta condição é resultado duma mutação isolada do gene CYP17, localizado em 10q24-25, no entanto também é considerada uma causa metabólica de FOP. O fenótipo caracteriza-se por aparência normal da genitália, mas as mulheres afetadas não desenvolvem caracteres sexuais secundários na puberdade.¹⁹

Gene ATM e Atáxia-telangiectasia

É uma doença autossómica recessiva, em que ocorre a mutação do gene ATM localizado no 11q22-q23. Tem uma expressão multisistémica associada a um défice imunitário severo e a uma ataxia cerebelosa progressiva. A prevalência é cerca de 1 por cada 100.000 crianças. O défice de ATM causa um bloqueio da gametogénese na prófase I, causando FOP primária. A gravidade da doença encontra-se na forte predisposição para cancros, incluindo linfomas.²

Síndrome de Perrault

Caracteriza-se por uma disgenesia dos ovários com cariótipo do tipo XX e uma surdez neurossensorial associada. A transmissão é provavelmente autossómica recessiva mas até à data ainda não foram identificadas mutações no genoma nuclear ou mitocondrial. É extremamente raro, com trinta casos publicados.²

Tabela 1: Alguns genes candidatos com influencia positiva no desenvolvimento e função ovária.

Gene	Localização cromossômica	Função do gene associada à FOP
FMR1	Xq27.3	Reserva ovária diminuída e atresia acelerada
FMR2	Xq28	Reserva ovária diminuída e atresia acelerada
BMP15	Xp11.22	Maturação e reserva folicular
NR5A1	9q33.3	Regulação da diferenciação sexual gonadal, maturação folicular e regulação ovária e esteroidogênese
INHA	2q33-36	Foliculogênese
LHR	2p21	Crescimento folicular, maturação do oócito e ovulação
FSHR	2p21	Desenvolvimento folicular
FOXL2	3q22.3	Diferenciação ovária
FOXO3	6q21	Papel regulador na ativação folicular
ESR1	6q25.1	Regulação da foliculogênese
CYP19A1	15q21.1	Regulação da foliculogênese
NOBOX	7q25	Foliculogênese em estágio inicial
SOHLH2	13q13.3	Desenvolvimento folicular
GALT	9p13	Desconhecido
CYP17	10q24-25	Síntese de hormonas sexuais
ATM	11q22-q23	Bloqueio da gametogênese na prófase I
CYP17	10q24-25	Ausência de produção de hormonas sexuais

Adaptada de Ebrahimi et al, 2011.

1.2. CAUSAS AUTOIMUNES

A doença autoimune é caracterizada por células T autoreativas e a presença de autoanticorpos órgão ou não-órgão-específico. Esta é desencadeada por vários agentes como vírus, bactérias ou antígenos ováricos. Os vírus causadores da rubéola e parotidite infecciosa

são os desencadeantes mais conhecidos para a produção de autoanticorpos. Ocorre em mulheres durante a idade reprodutiva e estudos retrospectivos ou transversais comprovam um risco aumentado para FOP.^{20,21} Acredita-se que mecanismos autoimunes representam 20-30% dos casos de FOP.²²

As evidências a favor de etiologia autoimune é a presença de ooforite linfocítica, existência de autoanticorpos ovários e doenças autoimunes associadas entre si frequentemente.⁷ A ooforite autoimune pode ser diagnosticada em mulheres com aspectos histológicos inflamatórios na biopsia ovária e autoanticorpos ovários e/ou adrenais.²⁰

Existem três tipos de insuficiência ovária autoimune: 1) associada a autoimunidade adrenal; 2) associada com autoimunidade não-adrenal; 3) e FOP idiopática isolada.²⁰

A doença mais fortemente associada à FOP autoimune é a Doença de Addison Autoimune, no contexto de dois tipos de síndromes poliendócrinas: tipo I – Poliendocrinopatia autoimune-candidíase-distrofia ectodérmica (PEACDE); tipo II – Síndrome poligênica com doença de Addison autoimune, insuficiência adrenal e outras doenças autoimunes exceto hipoparatiroidismo.²⁰

A FOP também pode ser associada a outras doenças não adrenais como patologia tiroideia, hipoparatiroidismo, diabetes mellitus tipo I, e doenças autoimunes não endocrinológicas como LES (lupus eritematoso sistêmico), síndrome de sjögren, artrite reumatoide, púrpura trombocitopénica imune entre outras.²⁰

O folículo que inclui o oócito está rodeado por células teca e da granulosa, sendo estas importantes para o seu desenvolvimento. O mecanismo envolvido mantém-se obscuro, sendo a hipótese mais plausível encontrada para a ocorrência de ooforite autoimune o envolvimento seletivo dos folículos, poupando o folículo primordial em fase inicial, com um aumento do tamanho dos ovários com quistos luteínicos. Segue-se uma queda progressiva da função ovária e da reserva, cuja causa foi atribuída, e demonstrada, à ativação das células T CD4⁺

com infiltração linfocítica do tecido ovárico nos ratos com ooforite autoimune. Nos humanos, são detetados autoanticorpos ováricos séricos, através da imunofluorescência e ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Existem vários antígenos-alvo envolvidos em ooforite autoimune como a zona pelúcida/oócito, células da granulosa, células teca, corpo lúteo e enzimas esteroidogénicas (17- α -hidroxilase; citocromo P450 scc (*cytochrome P450 side chain cleavage enzyme*) e 21-hidroxilase).²⁰

Os autoanticorpos adrenocorticais e esteroidogénicos são reconhecidos como os melhores marcadores para a FOP autoimune. Os autoanticorpos usados mais recentes são IgG (imunoglobulina G) policlonais que se ligam às células adrenocorticais, células teca, especificamente às enzimas 17- α -hidroxilase e P450scc. Estes anticorpos são encontrados na FOP associada à doença de Addison autoimune.²⁰ Na ooforite autoimune, a infiltração linfática está confinada aos folículos antrais e secundários que por sua vez têm células teca. Este achado demonstra que as células produtoras de esteroides exprimem antígenos que estimulam a resposta imune.⁷ No entanto, os autoanticorpos descritos são incomuns na FOP autoimune não-adrenal ou idiopática isolada.²⁰

Outros autoanticorpos humanos ainda se encontram em estudo, como o recetor anti-LH, recetor anti-FSH, antizona pelúcida e anticorpos-*luteum*. No entanto a sua associação à FOP ainda não foi confirmada de forma consistente.²⁰ Os anticorpos antiováricos, nomeadamente os referidos, não se correlacionam com a presença ou severidade da ooforite e não prediz quando a FOP irá instalar-se e por isso a sua medição não está recomendada. De acrescentar, existe incerteza relativamente aos anticorpos antiováricos serem patogénicos ou secundários à libertação de antígenos após dano celular.⁷

Relativamente ao hipotiroidismo autoimune, uma vez sendo comumente associado à FOP, fazer rastreio com medição de TSH, T4 livre, anti-tiroideperoxidase e anticorpos antitiroglobulina é recomendado.⁷

A biopsia ao tecido ovárico é uma técnica preferencial para detetar FOP autoimune, e confirmar a ooforite autoimune. No entanto não é recomendada devido à experiência neste procedimento ser limitada e o seu valor clínico, custos e riscos serem desconhecidos. Os anticorpos antiováricos são marcadores com uma pobre validade. No entanto, *Yan et al.* sugeriu que um aumento significativo na densidade de CD8 nas células T pode ser um indicador de confiança.^{7,20}

O estudo de *Nigyar et al.* encontrou uma relação entre o número de repetições CGG do gene FMR1 (gene envolvido no Síndrome do X frágil, sendo q a mutação epigenética é considerada quando há mais de 200 repetições CGG) e a presença de anticorpos antiováricos. Enquanto que repetições CGG acima de 36 e abaixo de 28 sugerem uma forma de FOP genético-molecular, repetições entre 28 e 36 pode indicar origem autoimune de FOP. Esta hipótese é confirmada pelo aumento duplo de inativação do cromossoma X nos casos com >36 e <28 repetições de CGG.²¹

Recentemente foi introduzido um novo conceito – Síndrome Autoimune/Inflamatório induzido por adjuvantes (ASIA). Um dos fatores adjuvantes estudados tem sido a vacinação, nomeadamente a vacina do HPV (vírus do papiloma humano). No entanto, deve-se ter em atenção que a estimativa real da frequência dos eventos adversos é muito difícil de ser obtida assim como estabelecer uma relação causal entre a vacina e a FOP.²²

Colafrancesco et al., após o estudo da relação causal entre HPV e FOP em 3 casos, defende que pode haver um grupo potencial em cuja vacina HPV está contraindicada devido à ocorrência de FOP ter grandes implicações na saúde. Um estudo de longo seguimento da função ovárica numa *coorte* de mulheres vacinadas com HPV deve ser futuramente realizado. Dos seus 3 casos estudados, concluiu-se que em pelo menos 2 casos, a relação causal entre HPV e FOP é suportada pela existência de anticorpos. Ainda sugere, através do caso de 2 irmãs terem desenvolvido FOP após administração da vacina de HPV, existir uma provável

suscetibilidade genética predisposta para FOP, aquando a administração da vacina. A idade tão precoce de instalação de FOP vem reforçar a relação causal em estudo. De notar que a vacina não só desencadeou FOP como outros sintomas: artralhas, distúrbios do sono e disfunção cognitiva, consistente com o diagnóstico de ASIA.²²

2. FOP SECUNDÁRIA

2.1. CAUSAS IATROGÉNICAS

Apesar das taxas de incidência de cancro em mulheres com menos de 50 anos de idade (crianças, adolescentes e mulheres em idade reprodutiva) continuarem a aumentar, as taxas de mortalidade têm vindo drasticamente a diminuir devido aos avanços modernos no tratamento. No entanto, o número crescente de sobreviventes de cancro são agora confrontados com as consequências tardias da exposição a esses tratamentos. A cirurgia, radioterapia e quimioterapia mostraram ter um impacto profundo na função exócrina e endócrina do ovário, conduzindo a FOP (iatrogénica) e à perda de fertilidade.²³

A falência ovárica aguda pode ocorrer durante ou imediatamente depois do tratamento de radioterapia ou quimioterapia, e esta pode ser apenas temporária ou permanente. Ter conhecimento da relação FOP-tratamento oncológico permitirá ao médico um melhor aconselhamento da paciente e da sua família no que toca à importância da preservação da fertilidade, tendo em conta o período de oportunidade fértil estimado.⁸

5.1.1 Radioterapia

O dano folicular induzido por radioterapia, resultando em amenorreia prolongada ou permanente. Pode ocorrer quando as mulheres são expostas a radiação pélvica/abdominal, tendo o ovário diferentes radiosensibilidades consoante a idade: é nefasto numa dose superior a 6 Gray (Gy) em mulheres adultas, >10 Gy em raparigas pós-pubertárias e >15Gy em raparigas pré-pubertárias. Os ovários pré-pubertários são relativamente resistentes a esta

forma de gonadotoxicidade e por isso necessitam de uma maior dose para causar FOP, comparando com mulheres em idade reprodutiva.²⁴

O efeito da radioterapia não só é dependente da idade do paciente no momento do tratamento, como também da dose irradiada em cada sessão, dose acumulada e da área irradiada.^{2,7}

A DL50 (dose letal média), isto é, a dose à qual metade dos folículos são destruídos é de 4 Gy. A toxicidade está relacionada com a ação das radiações ionizantes sobre as células das gónadas. Aproximadamente 2 semanas após o início da radioterapia, os níveis de esteroides diminuem e os de gonadotrofinas aumentam.^{2,7,8}

FOP é reversível se todos os folículos maduros forem destruídos e irreversível se todos os folículos primordiais forem destruídos.²⁴

No tratamento com radioterapia é seguido um protocolo de radiação que se baseia na idade do paciente. Para um doente jovem será mais benéfico tratamento de irradiação fracionada enquanto que em crianças com tumores abdominais a dose usada está entre 15 e 60 Gy, sendo responsável por FOP em 90% dos casos.^{2,7}

5.1.1 Quimioterapia

A quimioterapia pode induzir a uma alteração reversível ou definitiva da função ovárica, por uma depleção da reserva de folículos primários e/ou bloqueio do processo de maturação folicular. Este tratamento causa lesões ao nível do ADN, induzindo à apoptose dos folículos em maturação e dos folículos primordiais. O impacto sobre os ovários traduz-se na diminuição dos níveis de estrogénio e aumento dos níveis de gonadotrofinas, indicando falência ovárica.^{2,23}

Este risco depende da classe terapêutica utilizada, da dose e da duração do tratamento, mas também da idade do doente no momento do tratamento e do tipo de cancro. O risco varia

consoante o produto usado: alquilantes (nomeadamente procarbazina e ciclofosfamida) e os alcaloides de vinca são os produtos mais tóxicos, com um risco de amenorreia superior a 80%. (Ver Tabela 2) O linfoma de Hodgkin é a neoplasia mais comum na faixa etária dos 15-24 anos, com uma sobrevivência de 90%. Quimioterapia sem agentes alquilantes no tratamento do linfoma de Hodgkin confere um risco de amenorreia em menos de 20% dos casos.^{2,23}

Em crianças sobreviventes de cancro, que receberam um agente alquilante e radioterapia abdomino-pélvica, apresentaram uma incidência de FOP iatrogénica não-cirúrgica que atinge os 30% enquanto que a incidência média de todos os sobreviventes é de 8%.²³

A amenorreia induzida pela quimioterapia pode ser transitória, e a menstruação pode voltar alguns meses depois do tratamento terminar, mas mesmo estas pacientes correm o risco de vir a desenvolver FOP.²³

Tabela 2: Agentes quimioterápicos e riscos gonadotóxicos associados.

*Necessita de mais estudos

Alto Risco	Médio Risco	Baixo risco ou nulo
Ciclofosfamida	Cisplatina	Metotrexato
Busulfan	Adriamicina	5-Fluoruracilo
Melfalano	Paclitaxel*	Actinomicina D
Procarbazina		Bleomicina
Clorambucil		Vincristina

Adaptado de Şükür et al, 2014

5.1.1 Cirurgia pélvica

Ooforectomia bilateral na doença ovárica, ooforectomia profilática em mulheres submetidas em histerectomia, salpingectomia por gravidez ectópica ou hidrosalpingite, remoção de quistos de grandes dimensões e *drilling* dos ovários no síndrome do ovário poliquístico (SOPQ) são procedimentos considerados como fatores de risco para FOP.²⁴

Para além das referidas, qualquer cirurgia pélvica pode ter consequências na função ovárica. Esta pode ser responsável por uma inflamação ou uma alteração da vascularização pélvica. O risco é difícil de quantificar e parece mínimo para uma cirurgia pélvica padrão.²

A recuperação após intervenções que comprometem a vascularização do ovário parece ser possível se circulação colateral suficiente se desenvolver e os folículos retomarem o seu ciclo.⁷

A embolização arterial uterina tem potencial de resultar em FOP, ao comprometer a vascularização ovárica. É desconhecido se o próprio material usado na embolização tem efeito tóxico direto no ovário.⁷

A cirurgia na endometriose pode ser associado a uma diminuição da reserva ovárica. Na verdade, vários estudos concluíram que pode ocorrer alterações da reserva ovárica depois da exérese de um ou mais endometriomas. Dois mecanismos estão implicados: o quisto deteriora o parênquima do ovário adjacente; e a remoção de tecido saudável do ovário e alteração da sua vascularização durante a quistectomia e eletrocoagulação.² O mesmo ocorre no *drilling* no SOPQ. Num um estudo transversal foi avaliado a reserva ovárica em 21 doentes com SOPQ que foram submetidos a *drilling* dos ovários por laparoscopia (DOL) e concluíram que a reserva ovárica era mais baixa no grupo submetido a DOL do que ao grupo não submetido a DOL. No entanto o DOL, quando aplicada adequadamente, normaliza as propriedades morfológicas e endocrinológicas nos pacientes com DOPQ. Mas se excessiva, o DOL pode levar ao dano dos vasos ováricos durante a cirurgia, levando a uma reserva ovárica pobre.²⁴

2.2. CAUSAS VIRUSAIS

Vários casos de parotidite infecciosa têm sido descritos como uma causa provável de FOP. Este vírus provoca ooforite em 2-8% de mulheres, mas a relação de causalidade infecção-FOP é de difícil demonstração.^{2,19} Na vasta maioria das mulheres afetadas, o retorno da função ovárica ocorre após a recuperação.⁷

Também há outros relatos de infecção viral e bacteriana como a tuberculose, *herpes simplex*, citomegalovírus, malária e *shigella* associados à FOP.⁷

Estudos revelaram que mulheres HIV seropositivas têm maior probabilidade de ter amenorreia prolongada (por pelo menos um ano) do que as mulheres seronegativas. Conclui-se que a infecção por HIV ou a terapia retroviral correspondente pode comprometer a função ovária e a fertilidade, culminando em FOP.¹⁹

2.3. TOXINAS AMBIENTAIS E OUTROS

5.1.1 Tabaco

O tabaco é a toxina mais estudada que altera a função ovária, e em média, as mulheres fumadoras experienciam menopausa mais cedo comparativamente às mulheres não-fumadoras, sugerindo um possível efeito do fumo do tabaco na função ovária, mas que ainda não se encontra provado.⁷ Estudos limitados sugerem que hábitos tabágicos estão associados com níveis elevados de FSH e alterações na contagem de folículos antrais (CFA) e hormona antimuleriana (HAM). As toxinas do tabaco podem afetar a reserva ovária ao acelerar a atrofia folicular e atresia através do aumento do processo apoptótico nas células germinativas primordiais. Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, as toxinas químicas do tabaco e o recetor do hidrocarboneto aromático que estimula a expressão do BAX nos oócitos, conduzindo à apoptose.¹⁹

5.1.1 DVC

Diepóxido 4-vinilciclohexeno (DVC) é um gonadotóxico químico ocupacional. Doses repetidas de DVC podem acelerar o processo apoptótico de atresia, e destruição seletiva dos folículos primordiais e primários em ratos e ratinhos. Estudos moleculares revelaram que o DVC inibe especificamente a autofosforilação do recetor *kit-c* que é essencial para a via de sinalização associado ao crescimento celular e por isso causa o distúrbio do crescimento

normal do oócito. Por esta razão, mulheres expostas a DVC são consideradas grupos de risco para a FOP.¹⁹

5.1.1 Epilepsia

Klein et al., no seu estudo, conclui que mulheres que sofrem de epilepsia têm um risco aumentado para FOP, comparativamente à população controlo, sendo que não havia diferença entre mulheres que sofriam crises focais ou generalizadas. O risco de FOP não-cirúrgica em mulheres com epilepsia, obtido no estudo, é de 14%, considerando mulheres até aos 42 anos de idade e que estas não teriam outras endocrinopatias que pudessem explicar as irregularidades menstruais.²⁵

O mecanismo patofisiológico não foi descoberto no entanto, pensa-se estar relacionado como o facto das descargas causarem alterações no estímulo da amígdala para o eixo hipotálamo que por sua vez contém os neurónios GnRH. Esta alteração leva a mudanças na secreção pulsátil de LH e FSH. Em pacientes com epilepsia é possível que o aumento crónico de LH e FSH resulte num aumento da estimulação ovária, recrutamento dos oócito em folículos imaturos e atresia folicular, conduzindo a estado de FOP.²⁵

Este estudo não pôde excluir a possibilidade que o aumento de incidência de FOP em mulheres com epilepsia seja devido aos fármacos antiepiléticos em vez da epilepsia em si. São assim, necessários mais estudos na área.²⁵

Esta relação FOP-epilepsia causa impacto no encaminhamento clínico das doentes já que estas devem ser consideradas para fazerem planeamento familiar durante os últimos estádios das suas vidas reprodutivas.²⁵

5.1.1 Outras toxinas

Sharara et al. realizou um estudo em que conclui que os disruptores endócrinos, metais pesados, solventes, pesticidas, plásticos e químicos industriais foram associados com

resultados reprodutivos adversos e falência ovária em animais. No entanto, os mecanismos inerentes não foram ainda completamente elucidados e resultados controversos foram encontrados em humanos, relativos a estas toxinas.¹⁹

Fatores ambientais e estilo de vida, assim como doenças somáticas existentes são consideradas causas *minor* para FOP, e entre eles, muitos requerem estudos aprofundados. Conselhos profissionais em estudos mais padronizados são necessários para eliminar riscos evitáveis.¹⁹

APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA FOP

A FOP está associada a múltiplos sintomas, sendo que os sintomas vasomotores são a queixa mais comum e o motivo que faz as mulheres com FOP procurarem ajuda médica. A sua instalação é imprevisível, duram cerca de 2-5min e ocorrem várias vezes num dia, causando transtorno na qualidade de vida²⁶. Aqui estão os sintomas e sinais típicos da FOP:

- Sintomas vasomotores – afrontamentos (ocorre em 75% dos casos e tende a ser mais severa do que na menopausa natural), suores noturnos
- Sintomas vaginais – atrofia vaginal e dispareunia
- Sintomas urinários – alterações na frequência de micções, carúncula uretral, incontinência de urgência, disúria e cistite atrófica
- Disfunção sexual
- Perturbações do sono, distúrbios cognitivos e afetivos
- Outros sintomas como cefaleias, depressão, ansiedade, irritabilidade, atrofia da pele, artralgias, fobia de cancro, pseudociese (falsa gravidez) e falta de concentração²⁶

A atrofia vaginal também causa grande impacto na vida da mulher. Consiste na diminuição da secreção vaginal, perda da elasticidade da mucosa, que por sua vez leva a

dispareunia. Estes fatores, associados à perda da libido (10-20% dos casos), conduz a uma disfunção sexual.²⁶

CONSEQUÊNCIAS DA FOP

Além da clínica, que acaba por representar as consequências a curto prazo da FOP, a interrupção da função ovárica tem também consequências a longo prazo, de grande importância a nível da morbilidade e mortalidade das mulheres com FOP, com o aumento do risco de morte prematura. Estas consistem em infertilidade, osteoporose e risco aumentado de doença cardiovascular e AVC.

1. INFERTILIDADE

Uma futura gravidez espontânea após a instalação da FOP é rara, apenas 5 a 10% das pacientes com amenorreia secundária e hipogonadismo hipergonadotrófico pode ovular espontaneamente e engravidar. Em mulheres com amenorreia primária e Síndrome de Turner é considerado impossível a gravidez com oócitos autólogos.²⁷

No entanto, com os avanços na medicina da reprodução e particularmente a doação de oócitos, tornou-se possível a gravidez para a mulher com FOP.²⁶

2. OSTEOPOROSE

As mulheres com FOP têm um risco aumentado de baixa densidade óssea e uma instalação precoce de osteoporose. Esta patologia esquelética sistémica é caracterizada por uma densidade óssea reduzida e uma detioração da microarquitetura do tecido ósseo com um aumento consequente da fragilidade do osso e da suscetibilidade de fratura óssea.²⁶

A deficiência de estrogénios como resultado da queda de atividade ovárica tem sido implicado na etiologia da osteoporose. *Albright et al.* foi o primeiro a fazer a relação causal entre o défice de estrogénio, menopausa e o aumento de incidência de fraturas ósseas em mulheres.²⁶

3. DOENÇAS CARDIOVASCULARES

A FOP está associada a um aumento do risco de isquemia cardíaca e angina e o risco aumenta com a falência ovária prematura. Está também associado com um aumento da mortalidade e morbidade cardiovascular.²⁶

O estrogénio tem um efeito de proteção cardíaca, também é responsável pelo aumento do HDL e redução do LDL, colesterol e triglicédeos. Os recetores de estrogénio foram encontrados ao longo do sistema cardiovascular. O efeito do estrogénio consiste no relaxamento do tónus arterial e diminuição da resistência.²⁶ Assim, tendo em conta o efeito protetor do estrogénio compreende-se a associação da FOP com a doença cardiovascular como uma consequência tardia.

Ates et al. realizou um estudo sobre o perfil metabólico das mulheres com FOP e a distribuição gordura abdominal. Este conclui que a FOP está associada a níveis de colesterol total e HDL-C elevados. No entanto, os níveis de insulina e glucose encontram-se normais. A menopausa está relacionada com o aumento de peso e uma redistribuição da gordura corporal com preferência para o tecido adiposo abdominal, no entanto, no estudo, a FOP não foi relacionada com alterações na distribuição da gordura abdominal. A FOP está relacionada com o aumento do risco de síndrome metabólico independente da idade e da obesidade. Assim, a gordura abdominal não pode ser considerada um fator de risco indicador de doença cardiovascular nas mulheres da FOP.²⁸

DIAGNÓSTICO

Não há sinais ou sintomas óbvios que antecedam a cessação dos ciclos menstruais. A maioria das mulheres com FOP, teve menarca, história menstrual e, possivelmente, fertilidade normal antes do aparecimento dos sintomas da FOP. Uma apresentação comum é a falha ao retomar a menstruação após a gravidez ou ao parar de tomar o contraceptivo oral.¹ Por este motivo verifica-se um atraso significativo no diagnóstico (cerca de cinco anos).

O diagnóstico é principalmente baseado na tríade amenorreia, níveis de gonadotrofinas elevados e sintomas e sinais de déficit de estrogénio.^{24,26}

Os exames complementares de diagnósticos iniciam-se quando há ausência de menarca, cessação dos cataménios ou infertilidade. A apresentação clínica dita o tipo de exames necessários.²⁷

A abordagem diagnóstica ocorre em três tempos: anamnese, exame clínico e exames complementares.²

1. ANAMNESE

Uma anamnese cuidada é indispensável. Esta consiste na recolha precisa do histórico dos ciclos menstruais, antecedentes pessoais (como quimioterapia, radioterapia, cirurgia pélvica, doenças autoimunes e cirurgia palpebral), antecedentes familiares (idade de menopausa das mulheres da família, patologias autoimunes, infertilidade, problemas na puberdade ou diferenciação sexual, atraso mental nos rapazes, entre outros).²

2. EXAME CLÍNICO

Como ponto inicial é importante fazer a diferenciação entre amenorreia primária ou secundária já que esta direciona para etiologias distintas.

A amenorreia primária, ocorre mais raramente (2-10% dos casos²⁹), apresenta-se clinicamente por ausência de puberdade e atraso no crescimento. para determinar se o S. Turner ou um síndrome pseudohermafrodita estão presentes. O cariótipo permite também a identificação de outras aberrações cromossomais como deleção do cromossoma X ou translocações autossómicas.^{2,27}

A amenorreia secundária, representa a maioria dos casos de FOP, estende-se por mais de 4 meses e ocorre em idades inferiores a 40 anos.² Como etapa inicial deve ser realizado um teste de gravidez sérico ou urinário. Depois da gravidez inesperada ser excluída, os níveis de

prolactina e TSH devem ser determinados para excluir hiperprolactinemia ou patologias tiroideias, muitas vezes responsáveis por irregularidades menstruais.^{2,27}

É necessário pesquisar sinais/ indícios de um distúrbio associado:

- Ptose Palpebral, associado a BPES (blefarofimose-ptose-epicanto invertido).
- Bócio, obstipação e ansiedade sugestivos de hipotiroidismo associado a Tiroidite de Hashimoto.
- Hiperpigmentação ou vitiligo associado ou não a hipotensão ortostática, sugestivo de insuficiência adrenal autoimune.
- atáxia cerebelar e telangiectasias é típico da mutação do gene ATM²
- uma perda auditiva neurossensorial sugere Síndrome de Perrault²
- Sinais de vaginite atrófica ao exame ginecológico, pode ser evidente. Deve-se ter em atenção a consistência e aspeto do muco cervical e índice de maturação vaginal.^{1,2}

Para além destas apresentações mais específicas, temos associado a clínica comum da FOP, consequente do défice de estrogénio: os sinais do climatério como instabilidade vasomotora (afrontamentos, eritemia facial, transpiração excessiva sobretudo noturna); uma modificação de humor (ansiedade, depressão, irritabilidade, e diminuição da libido); modificações cutâneas, dos fâneros e das mucosas (atrofia vaginal).²

3. EXAMES COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

Como já foi referido, a apresentação clínica dita o tipo de exames necessários para o diagnóstico. No entanto a avaliação inicial de uma suspeita de FOP, com amenorreia já confirmada há pelo menos 4 meses, inclui:

- FSH sérico: É importante para determinar se a paciente é hipergonadotrófica e excluir amenorreia hipotalâmica em que o nível de FSH estará baixo ou normal. Caso o nível de FSH estiver no intervalo de menopausa, o teste deverá ser

repetido, pelo menos mais uma vez, sendo que as medições devem ter um intervalo mínimo de 1 mês.¹

- Estradiol sérico: a experiência mostra que, dependendo do ensaio, a baixa de estradiol, em particular, não é tão confiável como a avaliação de FSH para identificar a FOP.¹
- Exames para excluir outras causas de amenorreia como teste de gravidez, teste de função tiroideia (TSH, T3 e T4) e prolactinemia.
- Ecografia pélvica: permite diagnosticar torção ovárica ou ausência de ovários.

Deve-se ter em atenção que os valores da gonadotrofina e estradiol podem estar alterados pelo uso concomitante de preparações hormonais e por isso deve ser obtido em pacientes que não estão a tomar medicação hormonal, nomeadamente contraceptivos hormonais.²⁹

Se as duas medições de gonadotrofinas estão elevadas, dentro do intervalo estabelecido de menopausa – FSH superior a 30 mUI/ml, dependendo do laboratório, sendo que FSH é mais significativo que LH² – temos o diagnóstico de FOP confirmado. FSH e LH elevados associado a estradiol inferior a 50pg/ml sugere ausência de folículos funcionantes.^{24,29}

Adicionalmente também se pode fazer a medição de HAM, CFA e inibina B e também uma ecografia pélvica para o estudo dos ovários e reserva ovárica. HAM e CFA são os melhores testes não-dinâmicos para prever a performance ovárica e avaliar a reserva ovárica.

- HAM é produzido pelas células da granulosa nos estádios iniciais dos folículos e tem a vantagem de ser independente de FSH, o que torna os seus níveis relativamente estáveis durante todo o ciclo menstrual, e pode ser usado para a avaliação a reserva ovárica. Vários pontos *cut-off* têm sido estudados, desde 0,3 a 2,7 ng/ml e valores abaixo de 1,0 ng/ml são fortemente sugestivos de diminuição da reserva ovárica.²⁰ No entanto, HAM não deve ser confundida com FOP porque mesmo as mulheres com níveis indetetáveis de HAM continuam a ter os seus

ciclos menstruais regulares e concentrações de FSH inferiores a 15 mIU.²⁷ Assim, é importante salientar que HAM é apenas útil para o estudo da reserva ovária, não para determinar o diagnóstico. Por outro lado, níveis muito baixos de HAM podem ser o primeiro sinal de FOP iminente e pode ser usada para teste de rastreio precoce.²⁷ Com um estudo mais aprofundado, o teste da HAM pode ganhar mais importância no estudo da reserva ovária antes e depois da quimioterapia, antes e depois da cirurgia ovária e em mulheres de risco para FOP.²⁹

- Inibina B, tal como HAM é uma hormona glicoproteica secretada pelos folículos pré-antrais. À medida que o número de folículos diminui, também os níveis de inibina baixam, sendo assim uma medida direta da reserva ovária.³⁰
- Ecografia endovaginal permite avaliar o tamanho dos ovários, que geralmente estão diminuídos, e o estudo da CFA. CFA consiste na soma dos folículos antrais com 2-10 mm de diâmetro em ambos os ovários, sendo que esta contagem é feita através de ecografia endovaginal, numa fase folicular inicial. Os valores de referência estudados para ser considerado um decréscimo da reserva ovária estão entre 3 e 10 CFA. Valores abaixo de 10 são sugestivos de diminuição da reserva ovária.²⁰

A biopsia ovária não tem qualquer benefício clínico para a paciente. Esta não permite dar um prognóstico sobre a função ovária residual, não é necessária para fazer diagnóstico e deve ser reservada para determinados protocolos de investigação.²

Uma vez o diagnóstico confirmado devem-se fazer, de uma forma sistemática, e sujeito a adaptação ao doente em causa, os seguintes testes:

- Estudo do cariótipo
- Rastreio da pré-mutação FMR1
- TSH e prolactina sérica

- Anticorpos antiadrenais e antitiroídeos
- Ecografia pélvica.

Tendo os exames base realizados, devemos executar os restantes exames complementares de acordo com a etiologia mais provável.

Na *Figura 1*, é feita uma sistematização do percurso diagnóstico a percorrer.

3.1. ETIOLOGIA GENÉTICA

O estudo de causas genéticas é indispensável, o estudo do cariótipo pode ser complementado com FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) para a deteção das monossomias X, mosaicos, deleções e translocações.² Muitos especialistas sugerem o estudo do cariótipo em mulheres jovens que nunca estiveram grávidas. O valor da análise cromossómica está diminuído em mulheres mais velhas, acima dos 30-35 anos e que já tenham tido uma criança.²⁷

Se algum cromossoma anormal ou parte/completo cromossoma Y forem encontrados, gonadectomia é aconselhada para diminuir os riscos de malignização.²⁴

O rastreio da pré-mutação do gene FMR1 deve ser realizado sistematicamente a todas as pacientes, não apenas as que têm casos familiares de FOP ou atraso mental.

3.2. ETIOLOGIA AUTOIMUNE

A pesquisa de anticorpos antiováricos não está recomendada, uma vez que estes não são específicos e não apresentam valor diagnóstico ou prognóstico.²

Num contexto autoimune, é importante excluir um hipotireoidismo pelos níveis de TSH ultrasensível e a pesquisa de estigmas de tiroidite autoimune com a dosagem dos anticorpos antitiroperoxidase (anti-TPO) e os anticorpos antitiroglobulina. Uma glicemia em jejum deve ser realizada e a pesquisa de diabetes insulino dependente.²

A insuficiência suprarrenal muitas vezes precede o início da falência ovária. Esta deve ser pesquisada clinicamente ou por uma dosagem de cortisol sérico às 8h e uma hora após a injeção de Tetracosactido na suspeita diagnóstica.²

Os autoanticorpos adrenocorticais e esteroideogénicos são reconhecidos como os melhores marcadores para a FOP autoimune. Os autoanticorpos usados mais recentes são IgG policlonais que se ligam às células adrenocorticais.²⁰

3.3. ETIOLOGIA DE FOP SECUNDÁRIA

A FOP secundária, como já referido, engloba infeções, quimioterapia, radioterapia, cirurgia pélvica e exposição a toxinas. O diagnóstico etiológico é feito a partir de uma anamnese cuidada e precisa, sendo que alguma destas relações causais são difíceis de se estabelecer.

- Falência Ovária Prematura -

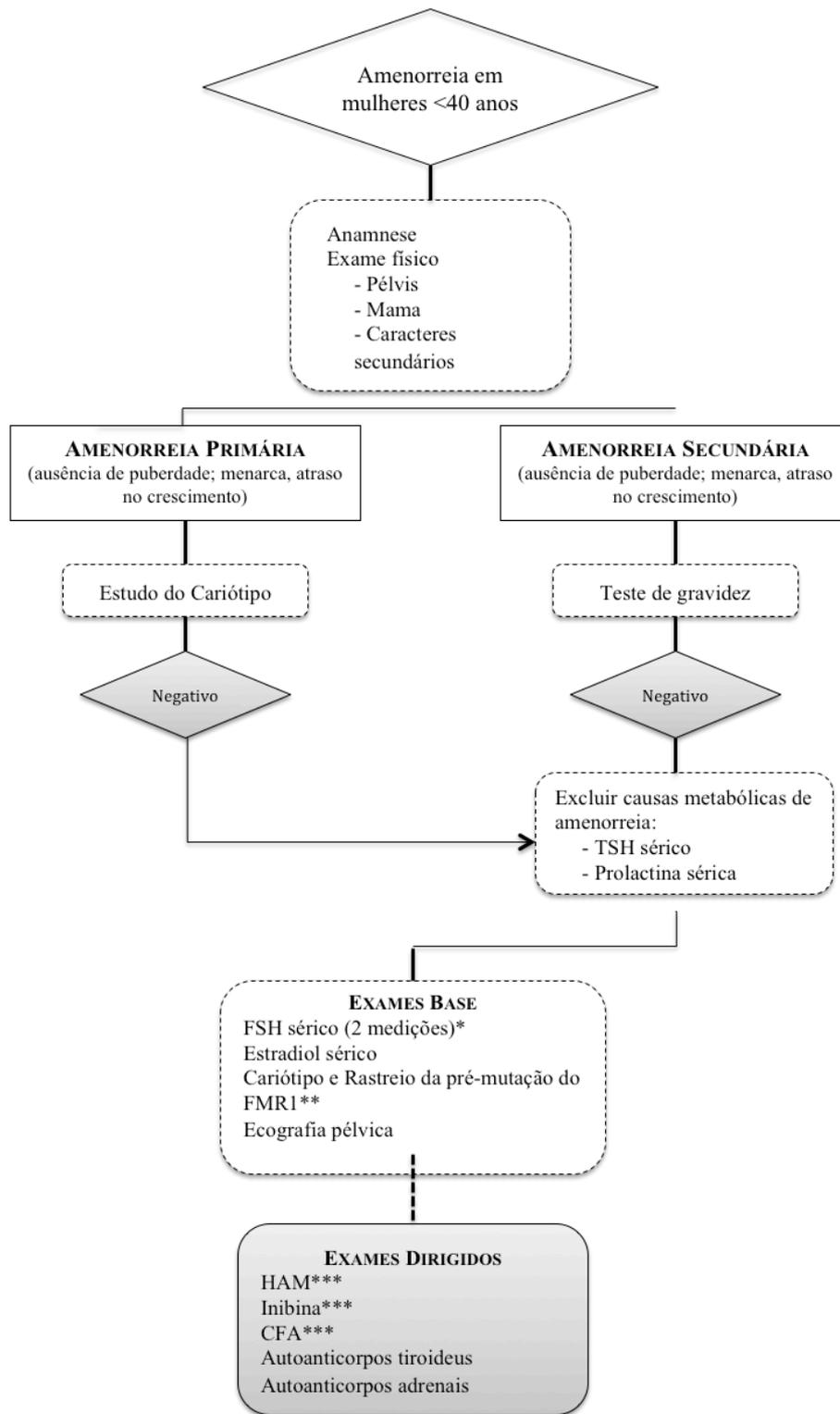


Fig. 1 - Algoritmo de Diagnóstico etiológico de Falência Ovária Prematura (FOP). TSH (thyroid - stimulating hormone); CFA (contagem de folículos antrais); HAM (hormona anti-muleriana). *Diagnóstico de FOP ** Caso já tenha sido realizado, no contexto de amenorreia primária, não se repete. ***Exames para avaliar a reserva ovária, importantes para estudo da fertilidade

TRATAMENTO

O tratamento das mulheres com FOP deve ser, idealmente, multidisciplinar, com profissionais de várias especialidades, fornecendo o tratamento apropriado para corresponder às diferentes necessidades dessas mulheres. *Panay et al.* defende que a equipa multidisciplinar consiste em médicos, enfermeiros especialistas, psicólogos (especializados em FOP e problemas psicosexuais) e nutricionistas.³¹

1. TERAPIA HORMONAL (TH)

Mulheres jovens com FOP têm estrogénio patologicamente baixo comparando com as mulheres da sua idade com ovários funcionantes. Por esta razão, TH é necessária para mimetizar a função ovárica normal e controlar os sintomas (vasomotores, psicosexuais, cognitivos e urogenitais) e prevenir riscos a longo prazo (osteoporose e doenças cardiovasculares).^{1,31,32}

Existe uma pequena dúvida relativamente a se nesta faixa etária a TH possa reduzir os riscos cardiovasculares, osteoporose e possivelmente doença de Alzheimer. Os resultados de WHI (*Women's Health Initiative*) demonstram uma tendência clara para os benefícios cardiovasculares, no entanto estes estudos foram aplicados a mulheres com menopausa natural. Estudos recentes sugerem que a substituição com hormonas bioidênticas de estrogénio e progesterona está associado a um risco mais baixo de trombose ou cancro da mama. Esta descoberta necessita de confirmação através de ensaios randomizados e não se aplica necessariamente à população com FOP.³¹

A ausência de *guidelines* de TH para mulheres com FOP impõe um grande desafio mas tem indicação consensual. As doses apropriadas ou formulações da TH para mulheres jovens com FOP não foram estabelecidas contudo, recomenda-se o seu início assim que haja diagnóstico de FOP. Paralelamente, é aconselhado que as pacientes sejam examinadas

anualmente para monitorizar a sua condição e detetar qualquer outra patologia emergente associada ou não à FOP.³²

Muitas mulheres jovens têm preferência por TH cíclica, traz uma experiência gratificante às mulheres uma vez que mimetiza os ciclos menstruais, dando uma falsa sensação de normalidade. No entanto, algumas mulheres preferem regimes de TH contínuos, sem hemorragias de privação. A escolha do regime cabe à paciente decidir, com o apoio e informação apropriados.³¹

Esta terapia deveria ser mantida até, pelo menos, à idade natural de menopausa (em média 51 anos). Na ausência de estudos prospetivos randomizados, o tratamento deve ser individualizado de acordo com a doente e fatores de risco.^{31,32}

Para controlar os sintomas vasomotores nas mulheres com FOP inicia-se substituição estrogénica com estradiol por via transdérmica ou oral.¹

Nos casos de amenorreia primária, sem caracteres sexuais secundários desenvolvidos, em que a maturação óssea não está completa, o tratamento tem uma abordagem diferente. Iniciam-se doses muito baixas de estrogénio na tentativa de imitar a maturação pubertária gradual, com monitorização da idade óssea e da progressão pubertária e só após esta etapa se introduz a progesterona.¹

Sempre que a doente possui útero intacto, deve ser associado um progestativo para reduzir completamente o risco de hiperplasia e carcinoma do endométrio¹

1.1. ALTERNATIVAS À TH

Em pacientes para quem a TH está contraindicada, como neoplasias hormono-dependentes, existem outras opções, dependendo dos sintomas e riscos que apresentam. Uma das dificuldades é o tratamento simultâneo da osteoporose, nomeadamente uso de agentes antireabsortivos. Este é necessário, mas alguns dos antireabsortivos (principalmente o

alendronato) implica riscos de longo prazo o que sugere que outras estratégias são necessárias, como pausas terapêuticas e terapia sequencial.³²

Moduladores seletivos dos recetores de estrogénio (MSRE) parecem não ter descritos efeitos a longo prazo quando associados ao alendronato e fornecem proteção adicional contra o cancro da mama. Há apenas uma desvantagem: o risco trombótico; mas este risco é muito baixo em mulheres jovens, nomeadamente as mulheres que sofrem de FOP.³²

Atrofia vaginal é uma preocupação, mesmo sob o efeito de terapia sistémica em mulheres com amenorreia primária. Uma suplementação tópica de estrogénios, com creme ou comprimido vaginal é uma excelente opção.²⁷

2. OSTEOPOROSE

A osteoporose é um problema sério uma vez que o pico máximo de densidade óssea é atingido em meados da terceira década de vida. Um diagnóstico precoce e tratamento são cruciais para o máximo de saúde óssea. A densitometria óssea deve ser realizada a todas as mulheres assim que o diagnóstico é estabelecido, tendo atenção especial às mulheres cujo o diagnóstico foi tardio e portanto não receberam TH por um período longo de tempo.²⁷

Suplementos de cálcio e vitamina D estão recomendados. No entanto, não há dados disponíveis especificamente para essas mulheres no que diz respeito à ingestão diária. As necessidades diárias de cálcio em idade reprodutiva são de 1000 a 1500 mg, sendo que a maioria é obtida pela dieta se encorajada.^{1,27} Os autores recomendam uma vigilância frequente dos níveis de vitamina D e exposição adequada ao sol. A dose diária recomendada de vitamina D em mulheres pós-menopausicas é de 800-1000 UI.¹

Se a osteoporose for detetada, deve-se instituir uma terapêutica antiabsortiva óssea como os bifosfonatos em mulheres que já estão sob terapêutica estrogénica. Os bifosfonatos não são aconselhados se a gravidez é possível, uma vez que esses agentes têm uma longa semivida no esqueleto e os efeitos sobre o feto são incertos.^{1,27}

Existem outras terapêuticas antirreabsortivas como o Denosumab. Alendronato, Risedronato, ácido Zolidronico e Denosumab são considerados terapia de primeira linha. Ibandronato é um agente de segunda linha e o Raloxifeno é considerado de segunda/terceira linha. Teriparatide é um análogo da paratiroide, e é recomendado para pacientes com risco de fratura elevado ou refratários a terapia com bifosfonatos. A calcitonina deve ser uma terapêutica de recurso. No entanto, a maioria da literatura sobre este tratamento refere-se a mulheres pós-menopausicas e não estão adaptadas a mulheres jovens. Mulheres pré-menopausicas com osteoporose devido a patologia médica crônica como LES, fibrose quística entre outros, sugere-se que este tratamento médico é benéfico.²⁷

Além da terapêutica medicamentosa, aconselha-se medidas higieno-dietéticas: atividade física como corrida, caminhada, juntamente com exercícios de resistência e de peso, e evitar fatores de risco como o tabagismo e o consumo elevado de álcool.¹

3. INFERTILIDADE

A retoma da atividade ovárica ocorre em aproximadamente 50% das mulheres com suspeita de FOP. No entanto, a hipótese de concepção espontânea é de 5-10%, sendo que a maioria das mulheres são nulíparas aquando o diagnóstico.^{27,31}

A terapia de indução da ovulação com gonadotrofinas tem baixas taxas de ovulação e gravidez, e há risco, teórico, das gonadotrofinas exógenas exacerbarem a FOP automiune.¹ O pré-tratamento combinado com estrogénio antes da estimulação com FSH levou a taxas ovulatórias significativamente maiores. Tratamento com agonista de GnRH não implica qualquer melhoria nas taxas de ovulação.^{1,31}

Avanços na tecnologia de criopreservação de tecido ovárico transplantado e a maturação *in vitro* de oócitos, pode tornar possível para algumas mulheres com FOP usar os seus próprios óvulos para procriação medicamente assistida (PMA). Mulheres que já apresentam sintomas de FOP, no momento da recolha, terão folículos de qualidade inferior.^{1,31}

O tratamento associado com melhores taxas de gravidez em mulheres com FOP é a PMA com doação de gâmetas ou embriões, de acordo com o casal em questão. Todavia, o uso de oócitos doados não é aceite por todas as mulheres que sofrem de FOP, apenas cerca de 50% dos pacientes considera a doação de oócitos.^{27,31}

Os casos mais desafiantes na preservação da fertilidade envolve crianças cuja criopreservação de embriões e oócitos não é possível. A criopreservação de tecido ovárico é uma das poucas opções para preservação da fertilidade em raparigas jovens.²⁷

Antes de qualquer tratamento de fertilidade ser iniciado, é aconselhado o estudo do risco inerente à gravidez em si para a mulher.³²

3.1. CRIOPRESERVAÇÃO

Mulheres com uma história significativa de FOP na família deve considerar criopreservação de oócitos ou embriões uma vez que não há testes inteiramente fidedignos para prever a reserva ovárica. O mesmo é recomendado a mulheres que vão ser submetidas a quimioterapia, radioterapia (abdominal/pélvica) ou cirurgia pélvica.^{1,31} A criopreservação permite a fertilidade e descendência com material genético materno.²³

A criopreservação de embriões é um procedimento que consiste na estimulação ovárica e posterior colheita dos oócitos maduros, utilização destes pela PMA com subsequente criopreservação dos embriões resultantes. A taxa de sobrevivência dos embriões criopreservados é de 35-90%, enquanto que as taxas de implantação são de 3-30%. As taxas de gravidez reportadas associadas a esta técnica atingiram mais de 60%.²³

Existe uma maior experiência com vitrificação de embriões e as taxas de gravidez são comparáveis à transferência de embriões “frescos”; no entanto tem a desvantagem de não ser adequado para uso em menores e implica também questões éticas relativas ao seu uso e congelamento de embriões.³²

A criopreservação de oócitos tem melhorado substancialmente com as técnicas de vitrificação, com taxas de gravidez de 65,2%. A hiperestimulação ovárica controlada pode ser executada usando inibidores de aromatase no caso de pacientes com tumores hormono-dependentes.³²

A criopreservação do córtex ovárico (em fatias) parte da premissa que os folículos primordiais contidos no tecido ovárico são mais resistentes aos danos inerentes à criopreservação quando comparado aos oócitos maduros, uma vez que estes têm baixa taxa metabólica. Assim, esta técnica é capaz de preservar mais folículos, quando comparada com as anteriores usadas pela PMA. Segundo *Shah et al*, a nível global 28 bebés nasceram através da vitrificação de córtex ovárico. Os primeiros casos de transplantação laparoscópica de tecido ovárico criopreservado foi reportado por *Oktay et al*. A fertilidade e a função endócrina

No entanto a criopreservação de tecido ovárico ainda não tem *guidelines* instituídas para as diversas etapas do procedimento.²³

4. TRATAMENTO DA FOP AUTOIMUNE

Infelizmente, guidelines para o tratamento da ooforite autoimune não estão disponíveis. A estratégia de tratamento da FOP autoimune baseia-se na TH e tratamento da fertilidade. A corticoterapia pode restaurar a atividade ovárica. No entanto o uso de imunossuppressores é controverso e necessita de estudos mais aprofundados. Pode acarretar risco de síndrome de Cushing iatrogénica e osteonecrose da cabeça do fémur^{1,20}

5. ACONSELHAMENTO E APOIO EMOCIONAL

Mulheres diagnosticadas com FOP atravessam um período emocional difícil uma vez que a infertilidade imprevista destrói planos de vida. Esta patologia tem sido associada a taxas mais altas de depressão e morbidade psicológica comparativamente à população normal, com baixa autoestima e aumento da ansiedade social e conseqüente isolamento. A perda da capacidade reprodutiva parecer ser o elemento chave de distúrbio emocional e é independente

de a mulher ter ou não filiação. Para muitas mulheres a dor emocional sentida é equivalente à perda de um ente querido.^{31,34}

O médico deve tentar explicar a paciente a natureza da patologia e dar tempo para esta assimilar a informação e questionar eventuais preocupações e dúvidas que surjam, e fornecer fontes de informação e apoio.³² Ajuda profissional deve ser prestada de forma a fornecer sistemas de *coping* para lidar melhor com as sequelas emocionais da FOP. Se apropriado e com o consentimento da paciente, deve-se informar os companheiros e outros elementos da família, pondo a par das dificuldades da doente, e ajudar a criar um ambiente de suporte em casa. Deve-se dar a conhecer grupos de apoio.^{31,34}

No caso de diagnóstico de FOP em adolescentes, o sistema de abordagem da família é benéfico.³⁴

PROFILAXIA DA FOP

Como já foi referido, a maioria dos casos de FOP são idiopáticos e portanto impossíveis de prever, tornando a profilaxia impossível. No entanto, na FOP iatrogénica no contexto de quimioterapia e radioterapia, a preservação da função ovárica deve ser encarada para prevenir este efeito colateral.

1. RADIOTERAPIA

Para preservar a função ovárica, antes da radioterapia pélvica realiza-se transposição ovárica que consiste em mover os ovários para a parede lateral pélvica de forma a os afastar da zona que irá receber radiação. *Hwang et al.* demonstrou que uma transposição superior a 1,5 cm acima das espinhas ilíacas está associada a uma preservação ovárica significativa, tendo a transposição lateral melhores resultados comparativamente à central. Todas as mulheres deveriam ter acesso a transposição ovárica, estando alertadas que a própria ovariopexia pode causar falência ovárica.^{7,8,24}

2. QUIMIOTERAPIA

A supressão da função ovária com GnRHa durante a quimioterapia, de modo diminuir a exposição dos ovários aos efeitos nefastos dos quimioterápicos tem sido um tema debatido e controverso.

Os possíveis mecanismos pela qual GnRHa protege os ovários consistem: na interrupção da secreção de FSH para que não haja estimulação folicular, na diminuição da perfusão ovária, na ativação dos recetores GnRH nos oócitos, na super-regulação das moléculas intragonadais-antiapoptóticas e/ou na proteção das células estaminais da linha germinativa, diminuindo assim a exposição aos agentes quimioterápicos.^{7,35}

Dados pré-clínicos confirmam que a supressão ovária temporária com GnRHa durante a quimioterapia reduz a toxicidade ovária e estudos em fase II asseguram que uma larga maioria (70-100%) das mulheres com cancro da mama ou linfoma, tratadas com GnRHa não tiveram FOP. No entanto estudos de fase III, ao avaliar o impacto de GnRHa na FOP, chegaram a resultados contraditórios.³⁵

Deve-se ter em atenção que a supressão ovária temporária com GnRH não é considerada como estratégia *standard* para preservar a fertilidade pelas *guidelines* da ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) ou da ESMO (*European Society for Medical Oncology*). Esta apreensão é justificada pelos resultados controversos dos estudos publicados.²⁴

Almeida et al. afirma não haver evidências conclusivas do impacto do uso de GnRH isoladamente para preservação da fertilidade durante os tratamentos de quimioterapia pelo benefício não comprovado de proteção ovária.

Guidelines recentes da Sociedade Americana de Oncologia enfatizam a importância do aconselhamento da mulher relativamente à fertilidade, com opções de preservação da mesma, que devem ser facultadas e convenientemente discutidas.³⁶

TRATAMENTOS FUTUROS PARA REVERSÃO DA FALÊNCIA OVÁRICA

A incidência de FOP tem aumentado nos últimos anos. No entanto, até agora a FOP não pode ser revertida e apesar de alguns tratamentos estarem disponíveis, novas estratégias de tratamento são necessárias.

1. USO DE CÉLULAS ESTAMINAIS

Baseadas no fundamento de medicina regenerativa que sugere que células estaminais podem ser usadas para tratar várias doenças humanas e defeitos genéticos irreversíveis, devido à sua capacidade de renovação e potencial de múltipla diferenciação, estão a ser estudadas novas formas de reverter a FOP usando células estaminais.³⁷ No entanto há alguns riscos inerentes à transplantação de células estaminais, além do risco de rejeição, também pode ocorrer malignização do tecido ou distorção no organismo hospedeiro.³⁸

Existem células estaminais de vários tipos, nomeadamente mesenquimatosas ou embrionárias. Em termos éticos e de segurança, o uso de células estaminais embrionárias humanas tem grandes limitações que torna a sua aplicação clínica difícil. As células estaminais mesenquimatosas conseguem ultrapassar os obstáculos éticos das células estaminais embrionárias e reduzir a possibilidade de rejeição imune.³⁸

Quando células estaminais são transplantadas para um microambiente específico, estas são estimuladas e ocorre libertação de fatores de crescimento que estimulam a regeneração do tecido circundante e as células transplantadas podem também ser induzidas à diferenciação para um tecido específico ou células *órgão-like*.³⁸

1.1. CÉLULAS ESTAMINAIS ENDOMETRIAIS HUMANAS

Células estaminais endometriais humanas (CEEH), que foram isoladas do sangue menstrual (onde se encontram em grande quantidade), possuem as características das células estaminais adultas de autorrenovação, alto potencial proliferativo *in vitro*, e a capacidade para diferenciar para diferentes linhagens celulares por meio de indução. Vários grupos de

pesquisa se têm expandido no conhecimento das CEEH que exibem propriedades de células estaminais/progenitoras *in vitro* e também podem reparar vários tipos de células danificadas *in vivo*. As CEEH são mais acessíveis do que células estaminais mesenquimatosas adultas, tornando-as uma fonte potencial de doação para a terapia com células estaminais.³⁸

Te Liu conduziu um estudo em que se realizou a transplantação de células estaminais mesenquimatosas humanas (CEMH) e CEEH derivadas de endométrio para os ovários de ratos com FOP para avaliar o efeito destas na reparação ovária.³⁸

Embora os pacientes com FOP exibam perda da função ovária, oócitos maduros e capacidade de conceber, CEEH são células com potencial para transplante. CEEH, comparativamente a outros tipos de células estaminais, são consideradas seguras e práticas para transplantação com o intuito de tratar a FOP.³⁸

As CEEH, uma vez transplantadas para um microambiente ovário, podem ser estimuladas para se diferenciarem em células-*like* do tecido ovário, especialmente células granulosa-*like*, em mulheres com FOP. Estas células demonstraram a capacidade de restaurar o tecido ovário na FOP. Assim pode-se concluir que CEEH podem potencialmente tratar a falência ovária causada por quimioterapia e atrasar a evolução da FOP.³⁸

1.2. CÉLULAS HUMANAS DO LÍQUIDO AMNIÓTICO

As células humanas do líquido amniótico (CHLA) CD44+/CD105+ expressam fatores de crescimento, falta de antígenos do complexo imunohistoquímico major classe II (MHC II) e expressam apenas baixos níveis de antígenos MHC I. Estas células foram alvo de estudo e, *Te Liu et al.* conclui que CHLA CD44+/CD105+ possuem características das células estaminais mesenquimatosas e podem sobreviver e proliferar a longo prazo no tecido ovário de ratos com FOP quimioterapia-induzida, sendo umas ótimas candidatas a transplantação para reversão da FOP.³⁷

1.3. CÉLULAS ESTAMINAIS MESENQUIMATOSAS DERIVADAS DA PELE

As células estaminais mesenquimatosas derivadas da pele (CEMP), o maior órgão do corpo, podem-se diferenciar em três folhetos embrionários, além de terem capacidades imunossupressivas, suscetibilidade para modificação génica e capacidade extensa para expansão *in vitro*. Por esta razão elas são consideradas uma ferramenta poderosa para doação terapêutica e novas possibilidades para a terapia tecidual.³⁹

No que toca à capacidade de reativação dos ovários na FOP tanto CEMP femininas ou masculinas demonstraram ser capazes de restaurar parcialmente a fertilidade em animais fêmea pós-quimioterapia. Após transplantação das CEMP foi demonstrado um aumento das citocinas pró-inflamatórias ao contrário dos casos controlo que permaneceram baixos. Em consistência com este facto, a expressão de marcadores de genes implicados na oogénese como *Nobox*, *Nanos3* e *Lhx8* aumentou em ovários onde foram transplantadas CEMP. Assim, estes achados sugerem que CEMP têm um papel importante, quando transplantadas para o microambiente folicular ovárico, na restauração da função de ovários danificados e podem ser úteis na área da saúde reprodutiva e melhorar a qualidade de vida dos sobreviventes do cancro.³⁹

1.4. CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA

Lee et al. Reportou o impacto do transplante de medula óssea na produção de oócitos imaturos e foram capazes de recuperar a fertilidade a longo prazo num modelo pré-clínico com ratos com FOP pós-quimioterapia.³⁸

2. USO DE ADENOVÍRUS COM EXPRESSÃO DE FSHR

Ghadami et al., no seu estudo, tratou a FOP ao usar injeção de um vetor adenovírus com expressão *full length* do gene humano FSHR (Ad-hFSHR) para restaurar a foliculogénese em ratos com o gene FSHR inativado ou ausente. Este, teve como ideia base o facto da foliculogénese e ovulação serem induzidas pela FSH, através do seu recetor FSHR na

puberdade e a sinalização de FSH ser considerada essencial para o desenvolvimento e maturação folicular (entre o estágio primário e antral). Os FSHRs estão localizados nas células da granulosa no ovário.^{38,40}

Este estudo, *Ghadami* demonstrou os efeitos da terapia genética com Ad-hFSHR após apenas um inoculação intraovárica. Ad-hFSHR foi capaz de diminuir os níveis séricos de FSH em 40-50% dos ratos com o gene FSHR inativo e aumentar o estrogênio sérico. Também foi observado um aumento da massa corporal e dos órgãos reprodutivos (ovário, útero e vagina). No entanto, 12 semanas após o tratamento, não se observou ovulação ou gravidez. Em conclusão, o vetor foi capaz de restaurar a foliculogênese ovárica na fase antral, mas não permitiu ultimar a ovulação. *Ghadami et al.* comprometem-se em melhorar o vetor Ad-hFSHR, usando o promotor FSHR humano autêntico, em estudos futuros.⁴⁰

IV. CONCLUSÃO

A etiologia da FOP é heterogénea e multifatorial, no entanto a causa é desconhecida de 74 a 90% dos casos, tornando-se o diagnóstico um verdadeiro desafio. A FOP é classificada em primária (causas genéticas e autoimunes) ou secundária (infecções, cirurgia pélvica, quimioterapia e radioterapia).¹

Estima-se que mais de 40% dos casos de FOP seja atribuído a causas genéticas e a lista de genes candidatos continua a aumentar.⁴ Genes como BMP15, NR5A1, INHA, LHR, FSHR entre outros, foram implicados na etiologia da FOP, no entanto, a sua representação na população é tão baixa que exames diagnósticos dirigidos a cada um dos genes candidatos teria um impacto económico elevado, quando comparado à percentagem de população afetada. Os únicos testes genéticos englobados na bateria de exames complementares, na atualidade, é o rastreio da pré-mutação do FMR1 e o estudo do cariótipo em busca de cromossomopatias. Dado a percentagem estimada de casos com etiologia genética ser tão elevada, a pesquisa de possíveis genes candidatos continua. Perante o impacto da doença na vida de uma mulher, exames que permitam a deteção precoce da doença, com uma boa especificidade e sensibilidade e de baixo custo, é ainda um dos grandes objetivos a atingir.

Quimio ou radioterapia constituem grandes avanços a nível do tratamento do cancro, uma patologia que tem um papel importante na sociedade atual. No entanto, devido ao número crescente de sobreviventes somos agora confrontados com as consequências tardias da exposição a esses tratamentos, sendo a FOP um deles. O desafio agora não consiste apenas na cura do cancro mas em minimizar os efeitos colaterais do seu tratamento. Até ao momento, a transposição ovárica na radioterapia e a supressão ovárica com GnRHa na quimioterapia, ainda que controversa, são medidas profiláticas descritas, mas o objetivo final consiste na adoção de tratamentos oncológicos mais dirigidos, de forma a evitar danos celulares colaterais.

Os métodos de diagnóstico não sofreram grandes avanços, e baseia-se principalmente numa anamnese cuidada, exame clínico e exames complementares. Sistemáticamente deve ser feito a medição sérica de FSH (mais fidedigno que o LH), estradiol e prolactina, o estudo da função tiroideia, do cariótipo, o rastreio da pré-mutação de FMR1 e ecografia pélvica. A HAM e CFA são medidas importantes para avaliar a reserva ovárica, e deve ser realizado principalmente antes e depois de radioterapia, quimioterapia e cirurgia pélvica. Exames complementares adicionais são realizados a partir da apresentação clínica da doente e da possível causa que esta aponta.

O tratamento das mulheres com FOP deve ser, idealmente, multidisciplinar, com profissionais de várias especialidades, fornecendo o tratamento apropriado para corresponder às diferentes necessidades dessas mulheres.³¹ A terapêutica médica da FOP baseia-se essencialmente na TH ou seja, na substituição das hormonas em falta, no sentido de impedir a evolução da osteoporose e diminuir o risco cardiovascular, apesar de este ultimo facto ainda não estar provado.

O tratamento de PMA associado com melhores taxas de gravidez em mulheres com FOP é a doação de gâmetas ou embriões, de acordo com o casal em questão. Permite contribuição genética do parceiro masculino e à paciente de experienciar a gravidez e o parto.^{27,31} Avanços na tecnologia de criopreservação de tecido ovárico transplantado e a maturação *in vitro* de oócitos derivados de células estaminais, pode tornar possível para algumas mulheres com FOP usar os seus próprios óvulos.^{1,31}

Novas estratégias têm sido desenvolvidas para retomar a função ovárica em mulheres com FOP, no entanto, estas encontram-se ainda na fase de ensaios clínicos, sendo tratamentos promissores para esta população. Estes baseiam-se no uso de células estaminais, com capacidade de renovação e potencial de múltipla diferenciação, para transplante para o microambiente ovárico, de forma a estas serem estimuladas e ocorrer a regeneração do tecido

- Falência Ovárica Prematura -

circundante e serem induzidas à diferenciação para um tecido específico ou células órgão-*like*, neste casos, os folículos. Várias células têm sido estudadas para este fim. Outro tratamento potencial é o uso de vírus como vetor com capacidade de expressão de FSHR.

Em suma, a falência ovárica prematura é um patologia que ainda requer estudos, para um dia, todas as adversidades da patologia serem ultrapassadas e as mulheres com FOP tenham uma vida normal, com a fertilidade preservada.

V. AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora. Isabel Torgal, pela orientação, apoio e disponibilidade na elaboração deste trabalho.

À Dra. Maria João, pela coorientação, disponibilidade e apoio na realização deste trabalho.

À família por todo o apoio incondicional.

Aos amigos que me acompanharam nesta longa caminhada.

REFERÊNCIAS

1. Assumpção CRL de. Falência ovariana precoce. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2014;58(2):132-143.
2. Letombe B, Catteau-Jonard S, Geoffroy R. *Endocrinologie En Gynécologie et Obstétrique*. 1st ed. (Lansac J, Descamps P, eds.). Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson SAS; 2012:284.
3. Gallardo TD, John GB, Bradshaw K, et al. Sequence variation at the human FOXO3 locus: A study of premature ovarian failure and primary amenorrhea. *Hum Reprod.* 2009;23(1):216-221. doi:10.1093/humrep/dem255.Sequence.
4. Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A. Genetics of premature ovarian failure. *Minerva Endocrinol.* 2010;35:195-209.
5. Cordts EB, Christofolini DM, Dos Santos AA, Bianco B, Barbosa CP. Genetic aspects of premature ovarian failure: A literature review. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;283:635-643. doi:10.1007/s00404-010-1815-4.
6. Qin Y, Jiao X, Dalgleish R, et al. Novel variants in the SOHLH2 gene are implicated in human premature ovarian failure. *Fertil Steril.* 2014;101(4):1104-1109.e6. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.01.001.
7. Ebrahimi M, Asbagh FA. Pathogenesis and causes of premature ovarian failure: An update. *Int J Fertil Steril.* 2011;5(2):54-65.
8. Sukur YE, Balik Kivancli I, Ozmen B. Ovarian aging and premature ovarian failure. *J Turkish Ger Gynecol Assoc.* 2014;15:190-196. doi:10.5152/jtgga.2014.0022.

9. Screening C. Carrier Screening for Fragile X Syndrome. 2010;116(469):1008-1010.
10. Breen SM, Andric N, Ping T, et al. Ovulation involves the luteinizing hormone-dependent activation of G(q/11) in granulosa cells. *Mol Endocrinol*. 2013;27:1483-1491. doi:10.1210/me.2013-1130.
11. Lussiana C, Guani B, Mari C, Restagno G, Massobrio M, Revelli A. Mutations and polymorphisms of the FSH receptor (FSHR) gene: clinical implications in female fecundity and molecular biology of FSHR protein and gene. *Obstet Gynecol Surv*. 2008;63(12):785-795.
12. Pu D, Xing Y, Gao Y, Gu L, Wu J. Gene variation and premature ovarian failure: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;182:226-237. doi:10.1016/j.ejogrb.2014.09.036.
13. Chand a. L, Harrison C a., Shelling a. N. Inhibin and premature ovarian failure. *Hum Reprod Update*. 2009;16(1):39-50. doi:10.1093/humupd/dmp031.
14. Schlade-Bartusiak K, Brown L, Lomax B, et al. BPES with atypical premature ovarian insufficiency, and evidence of mitotic recombination, in a woman with trisomy X and a translocation t(3;11)(q22.3;q14.1). *Am J Med Genet Part A*. 2012;158 A(August):2322-2327. doi:10.1002/ajmg.a.35516.
15. Pouresmaeili F, Fazeli Z. Premature ovarian failure: A critical condition in the reproductive potential with various genetic causes. *Int J Fertil Steril*. 2014;8(1):1-12.
16. He M, Shu J, Huang X, Tang H. Association between estrogen receptor gene (ESR1) PvuII (T/C) and XbaI (A/G) polymorphisms and premature ovarian failure risk:

- evidence from a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2014;32:297-304.
doi:10.1007/s10815-014-0393-y.
17. Harrison SM, Campbell IM, Keays M, et al. Screening and familial characterization of copy-number variations in NR5A1 in 46,XY disorders of sex development and premature ovarian failure. *Am J Med Genet Part A.* 2013;161(August):2487-2494.
doi:10.1002/ajmg.a.36084.
18. Albertini DF. NOBOX does right for the follicle reserve: Insights into premature ovarian failure. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28:567-568. doi:10.1007/s10815-011-9615-8.
19. Jin M, Yu Y, Huang H. An update on primary ovarian insufficiency. *Sci China Life Sci.* 2012;55(8):677-686. doi:10.1007/s11427-012-4355-2.
20. Silva C a., Yamakami LYS, Aikawa NE, Araujo DB, Carvalho JF, Bonfá E. Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev.* 2014;13:427-430.
doi:10.1016/j.autrev.2014.01.003.
21. Shamilova NN, Marchenko L a., Dolgushina N V., Zaletaev D V., Sukhikh GT. The role of genetic and autoimmune factors in premature ovarian failure. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30:617-622. doi:10.1007/s10815-013-9974-4.
22. Colafrancesco S, Perricone C, Tomljenovic L, Shoenfeld Y. Human papilloma virus vaccine and primary ovarian failure: another facet of the autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *Am J Reprod Immunol.* 2013;70:309-316.
doi:10.1111/aji.12151.

23. Stroud JS, Mutch D, Rader J, Powell M, Thaker PH, Grigsby PW. Effects of cancer treatment on ovarian function. *Fertil Steril*. 2009;92(2):417-427.
doi:10.1016/j.fertnstert.2008.07.1714.
24. Shah D, Nagarajan N. Premature menopause - Meeting the needs. *Post Reprod Heal*. 2014;20:62-68. doi:10.1177/2053369114531909.
25. Klein P, Serje a, Pezzullo JC. Premature ovarian failure in women with epilepsy. *Epilepsia*. 2001;42(12):1584-1589.
26. Okeke T, Anyaehie U, Ezenyeaku C. Premature Menopause. *Ann Med Health Sci Res*. 2013;3(1):90. doi:10.4103/2141-9248.109458.
27. Kovanci E, Schutt AK. Premature Ovarian Failure. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2015;42(1):153-161. doi:10.1016/j.ogc.2014.10.004.
28. Ates S, Yesil G, Sevket O, Molla T, Yildiz S. Comparison of metabolic profile and abdominal fat distribution between karyotypically normal women with premature ovarian insufficiency and age matched controls. *Maturitas*. 2014:5-9.
doi:10.1016/j.maturitas.2014.07.008.
29. The American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee opinion - Primary Ovarian Insufficiency in Adolescents and Young Women. 2014;(605):1-5.
30. Practice T, Medicine R. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: A committee opinion. *Fertil Steril*. 2012;98(6):1407-1415.
doi:10.1016/j.fertnstert.2012.09.036.

31. Panay N, Kalu E. Management of premature ovarian failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009;23(1):129-140. doi:10.1016/j.bpobgyn.2008.10.008.
32. Mendoza N, Juliá MD, Galliano D, et al. Spanish consensus on premature menopause. *Maturitas*. 2015;80:220-225. doi:10.1016/j.maturitas.2014.11.007.
33. Silber SJ. Ovary cryopreservation and transplantation for fertility preservation. *Mol Hum Reprod*. 2012;18(2):59-67. doi:10.1093/molehr/gar082.
34. Rafique S, Sterling EW, Nelson LM. A New Approach to Primary Ovarian Insufficiency. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2012;39(4):567-586. doi:10.1016/j.ogc.2012.09.007.
35. Del Mastro L, Ceppi M, Poggio F, et al. Gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in cancer women: Systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Cancer Treat Rev*. 2014;40(5):675-683. doi:10.1016/j.ctrv.2013.12.001.
36. Palmira J, Almeida M, Carnide C, Sousa R, Pereira D. Review Article / Artigo de Revisão Pregnancy after breast cancer : dream or reality ? Gravidez após cancro da mama : sonho ou realidade ?
37. Liu T, Huang Y, Guo L, Cheng W, Zou G. CD44+/CD105+ human amniotic fluid mesenchymal stem cells survive and proliferate in the ovary long-term in a mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. *Int J Med Sci*. 2012;9:592-602. doi:10.7150/ijms.4841.

38. Liu T, Huang Y, Zhang J, et al. Transplantation of human menstrual blood stem cells to treat premature ovarian failure in mouse model. *Stem Cells Dev.* 2014;23(00):1548-1557. doi:10.1089/scd.2013.0371.
39. Lai D, Wang F, Dong Z, Zhang Q. Skin-derived mesenchymal stem cells help restore function to ovaries in a premature ovarian failure mouse model. *PLoS One.* 2014;9(5):1-10. doi:10.1371/journal.pone.0098749.
40. Ghadami M, El-Demerdash E, Salama S a., et al. Toward gene therapy of premature ovarian failure: Intraovarian injection of adenovirus expressing human FSH receptor restores folliculogenesis in FSHR(-/-) FORKO mice. *Mol Hum Reprod.* 2010;16(4):241-250. doi:10.1093/molehr/gaq003.