



**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 DE MESTRADO  
INTEGRADO EM MEDICINA**

**CATARINA AIRES REBELO COTTA**

***FERTILIDADE APÓS CANCRO DA MAMA- PERSPECTIVAS***  
**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE GINECOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:  
PROFESSOR DOUTOR CARLOS OLIVEIRA  
DRA. MARIA JOÃO CARVALHO**

**03/2010**

**Índice**

Resumo .....	3
Palavras Chave .....	3
Abstract.....	4
Introdução.....	5
O diagnóstico de cancro altera o desejo de engravidar? .....	5
Função ovárica após terapia médica do cancro da mama.....	7
Factores preditivos de falência ovárica induzida pela quimioterapia.....	9
Avaliação da Reserva Ovárica.....	12
Regime terapêutico escolhido.....	13
Ciclofosfamida .....	15
Antibióticos anti-tumorais: antraciclinas.....	17
Taxanos.....	17
Outros Fármacos.....	18
Hormonoterapia.....	20
Doses e duração do tratamento .....	22
Momento de administração da quimioterapia no ciclo menstrual.....	22
Perspectivas de fertilidade .....	22
Opções de preservação da fertilidade .....	24
Criopreservação de embriões.....	24
Criopreservação de oócitos.....	28
Criopreservação de córtex ovárico .....	29
Análogos GnRH na preservação da fertilidade .....	31
Reflexões .....	36
Conclusões.....	37
Bibliografia.....	38

## Resumo

Os progressos no diagnóstico e tratamento do cancro da mama associam-se a um diagnóstico cada vez mais precoce da doença e a um aumento da sobrevida destas doentes. O cancro da mama é significativo entre mulheres em idade fértil, sendo que 25% dos cancros da mama precedem a menopausa. Na sociedade ocidental cada vez mais se assiste ao adiamento da procriação, o que para algumas doentes significa lidar com um cancro da mama quando ainda planeiam uma gravidez. Vários estudos indicam que para um número significativo de mulheres, este desejo não se altera depois de uma doença neoplásica. A terapia médica utilizada no cancro da mama, nomeadamente a quimioterapia, pode induzir falência ovárica precoce.

Propõe-se uma revisão dos estudos desenvolvidos até à data, para uma sistematização dos vários preditivos de falência ovárica induzida pela quimioterapia, bem como uma ilustração das várias técnicas que emergem como potenciais manipuladoras da infertilidade que pode seguir-se a um tratamento de cancro.

A falência ovárica induzida pela quimioterapia está primariamente dependente dos citostáticos escolhidos, dose, duração do tratamento e idade da doente. Admite-se uma escalonização tóxica dos vários citostáticos na função ovárica, sendo praticamente unânime que os agentes alquilantes como a ciclofosfamida se encontram entre os mais tóxicos, enquanto que outros como os taxanos ainda não têm uma posição bem definida. A idade da doente é um factor prognóstico independente dos citostáticos utilizados.

Das várias técnicas disponíveis para preservação da fertilidade, destaca-se a criopreservação de embriões, a criopreservação de ovócitos ou tecido ovárico e a supressão ovárica com análogos da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH).

Apesar dos avanços nesta área, a principal dificuldade na aplicação de algumas das novas estratégias, reside no facto de não haver estratégias definitivas. Apesar de muitos estudos apresentarem bons indícios relativamente a estas técnicas, ainda existem algumas vulnerabilidades que impossibilitam a aplicação segura destas técnicas.

## Palavras Chave

Infertilidade, Cancro da mama , Citostáticos, Função Ovárica

---

**Abstract**

Major improvements have been made in diagnosing and treating breast cancer patients, resulting in earlier diagnose and significant increase of life expectancy. Breast cancer is prevalent in child-bearing age women and 25% of all breast cancers occur before menopause. The recent trend to delay pregnancy to later years in the western society means that some of these patients will have breast cancer while still planning a pregnancy. Several studies show that for a significant number of women this wish remains after cancer. Medical treatment used in breast cancer, specially chemotherapy, may induce premature ovarian failure.

The authors review the studies concerning several predictors of chemotherapy induced ovarian failure, as well as picture the main techniques that emerge as potential molders of the infertility that may follow cancer treatment.

Chemotherapy inducing ovarian failure is primarily a variable of the chosen cytostatics, dosis, duration of treatment and the age of the patient. It is admitted a toxicity scale of the various cytostatics on ovarian function and it is almost unanimous that cyclophosphamide is placed within the most toxic agents. Others as taxanes have not been so well defined in terms of toxicity yet. Age is a cytostatics independent prognosis variable.

Several approaches on fertility preservation have been reported, particularly embryo cryopreservation, oocytes or ovarian tissue cryopreservation and ovarian suppression using gonadotrophin releasing hormone analogues (GnRH).

Despite the progress seen on this area, the main reluctance in applying some of the new strategies, is due to the fact that there are no definitive strategies. Although many studies have shown good evidence, there are still some doubts that postpone the safe use of these techniques.

## Introdução

O cancro da mama é diagnosticado anualmente em cerca de 100 000 mulheres na faixa etária dos 20 aos 49 anos (*Duffy and Allen, 2009*). Representa cerca de 30% dos tumores malignos das mulheres em idade fértil (*Chabbert-Buffet et al. 2009*), e segundo *Dunn and Fox (2009)*, 25% dos cancros da mama precedem a menopausa, sendo que 7% se registam antes dos 40 anos. A idade de primeira gravidez, em consequência de vários fenómenos sociais, tem vindo a ser adiada. O diagnóstico de cancro da mama, tem vindo a verificar-se mais precocemente na evolução da doença. Fruto dos vários progressos terapêuticos, incluindo o tratamento loco-regional, quimioterapia, modulação hormonal (tamoxifeno, análogos GnRH) e agentes anti-Her2 (trastuzumab), assistiu-se a uma animadora melhoria das taxas de sobrevivência nos últimos 25 anos. Contudo, algumas destas terapêuticas poderão conduzir a alterações da função ovárica temporárias ou permanentes e sabe-se que muitas mulheres pré-menopáusicas diagnosticadas com cancro da mama consideram ainda uma gravidez. Segundo *Hamilton et al. (2004)*, a taxa de nascimento do primeiro filho, para mulheres entre 40 e 44 anos, aumentou para mais do dobro desde 1981.

O cancro da mama terá provavelmente um impacto negativo na função reprodutiva por várias razões. Primeiro, pelo efeito tóxico dos citostáticos nos folículos ováricos; segundo, pelos conselhos dados habitualmente a estas doentes relativamente ao adiamento de uma possível gravidez, após pelo menos 2 anos depois do diagnóstico; e terceiro, porque a terapia endócrina geralmente se prolonga por 5 anos, acrescendo a potencial diminuição da fertilidade relacionada com a idade. Adicionalmente, a supressão ovárica pode ser aconselhada a doentes mais novas com cancros com receptores hormonais positivos (*Hickey et al. 2009*).

### O diagnóstico de cancro altera o desejo de engravidar?

Uma dúvida legítima que pode surgir, prende-se com o facto de ser ou não real o desejo destas mulheres engravidarem ou de se tratar de uma questão meramente académica. Um pequeno estudo levado a cabo por *Patel et al. (2009)* esclarece indirectamente algumas questões de índole menos técnica, e relativas aos reais objectivos reprodutivos de uma mulher em idade fértil com cancro. Numa amostra de 20 doentes com cancro com idade média de 36,6 anos, sendo o cancro da mama o mais representativo (90% desta amostra), quando questionadas sobre o desejo de engravidar, 45% das doentes manifestam vontade em engravidar, 5% mostram-se inseguras, 50%

negam esse desejo. Apesar de limitado em termos de amostra, este estudo mostra, à semelhança de outros, que mulheres jovens com cancro mantêm muitas vezes os comportamentos sexuais e as necessidades das suas homólogas sem cancro. Frequentemente a experiência de cancro fortalece as relações matrimoniais (Kornblith and Ligibel, 2003) sendo que 67% das doentes se mantêm sexualmente activas durante o primeiro ano de tratamento, embora com disfunções e limitação a este nível, mesmo após 5 anos livres de doença (Fossa and Dahl, 2008).

Um outro estudo maior, com uma amostra de 98 doentes, conduzido por *Mispelaere et al.* (2009) e surgindo no seguimento de um estudo de *Cvancarova et al.* (Norwegian Study, 2009), pretende uma análise das taxas reprodutivas após quimioterapia, criticando uma lacuna relativa ao desejo de gravidez no estudo de *Cvancarova*, colmatando-a também. Numa perspectiva global, os resultados dos dois estudos suportam-se. Consideram-se aqui os resultados de *Mispelaere* e não os de *Cvancarova*, atendendo à percentagem de doentes com cancro da mama nos dois estudos serem respectivamente 64,3% e 11 %. Da amostra inicial, composta por mulheres com a idade média de 29 anos, com história de quimioterapia entre 1999 e 2005, 26,5% das doentes manifestaram desejo de engravidar antes de iniciar a terapêutica, mas apenas 9,2% das doentes mantinham essa vontade depois do tratamento. Destas doentes, cerca de metade (44,4%) apresentava alterações da fertilidade e 44,4% engravidou de facto. Além do reforço óbvio relativo ao aumento de perturbações da fertilidade após terapêutica com citostáticos, observou-se que apenas algumas doentes desejavam uma gravidez após a quimioterapia, mas quase metade não teve sucesso. O tempo médio até uma gravidez foi também mais prolongado após a terapia citostática. Num questionário levado a cabo por *Rippy et al.* (2009), com uma taxa de resposta de cerca de 66%; observou-se que das 248 mulheres, 39 queriam engravidar antes do diagnóstico, e 24 mantinham esse desejo depois do tratamento, com uma taxa de gravidez de 75%. Segundo *Shannon and Smith* (2003), e *Ganz et al.* (2003) a perda de fertilidade é causa de stress psicológico em mulheres jovens. *Knobf* (2006) refere que estes distúrbios psicológicos se devem à perda de menstruação e à perda da hipótese de ter mais filhos, mesmo em mulheres que tinham completado as suas famílias. A infertilidade por si só associa-se ao dobro de depressões da população em geral, havendo diminuição da qualidade de vida nas áreas do bem-estar emocional, das relações interpessoais e sexualidade (Duffy and Allen, 2009).

O desejo de preservar a fertilidade depois do tratamento do cancro da mama deve ser sistematicamente tida em conta, como é considerada a vida sexual masculina na decisão terapêutica de um cancro da próstata (Mathelin et al. 2008).

### **Função ovárica após terapia médica do cancro da mama**

As taxas de amenorreia associadas ao cancro da mama variam entre 33 e 68% e a ausência desta não garante que não haja lesão ovárica ( Gurgan et al. 2008). Segundo *Gerber et al. (2007)* esta atinge 50% das doentes com os regimes de quimioterapia mais frequentes. Quando este tratamento é também combinado com hormonoterapia, a incidência de amenorreia induzida pela terapêutica, durante o primeiro ano, pode chegar a 80% (Stricker, 2007). Esta amenorreia pode ser reversível, havendo mulheres que recuperam as menstruações meses e ocasionalmente anos depois. Contudo, a maioria das mulheres que permanece em amenorreia um ano após o término dos tratamentos, não vai recuperar a função ovárica (Partridge et al. 2007). No entanto, muitas mulheres jovens submetidas a quimioterapia não se tornarão inférteis. De facto, as mulheres revelaram-se menos susceptíveis que os homens no que concerne a alterações da fertilidade relacionadas com a quimioterapia (Davis, 2005). Aproximadamente 50% das mulheres com menos de 35 anos, recuperam a menstruação finda a quimioterapia; mas tal como supramencionado, menstruações regulares não são sinónimo de fertilidade, e o contrário também não é verdade (Singh et al. 2004).

A insuficiência ovárica induzida pela quimioterapia deve ser distinguida da menopausa precoce. Esta última define-se como um distúrbio ovárico definitivo instalado depois da puberdade e antes dos 40 anos. A definição de insuficiência ovárica induzida pela quimioterapia não é dependente da idade da doente, mas sim do seu estado hormonal antes do início da quimioterapia. A menopausa instala-se em média por volta dos 51 anos nos países industrializados, sendo que 10% de mulheres têm menos de 45 anos, e 1% menos de 40 anos (Mathelin et al. 2008).

O cancro da mama em si não é responsável por alterações na função ovárica (Reichman and Green, 1994). A lesão e falência ovárica são efeitos secundários comuns de quimioterapia a longo prazo (Meirrow and Nugent, 2001). A lesão ovárica derivada da quimioterapia pode apresentar-se através de uma vasta semiologia, desde sintomas vasomotores (calor e afrontamento, suores nocturnos), genito-urinários (dispareunia, secura vaginal, disúria), à própria osteoporose; reflectindo diversos graus de lesão, e

culminando na falência ovárica precoce (Singh et al. 2004). *Bines et al.* (1996) faz uma revisão muito completa sobre os efeitos da terapia adjuvante do cancro da mama na função ovárica em mulheres pré-menopáusicas. Esta revisão da literatura engloba os vários estudos desde 1966 até 1995. A toxicidade gonadal derivada da quimioterapia foi relatada pela primeira vez por volta dos anos 50 (Louis et al. 1956). Uma das reflexões adiantadas por *Bines et al.* relaciona-se com o facto de até à data deste estudo, poucos ensaios se debruçarem sobre este tipo de toxicidade, negligenciando-a a favor de outro tipo de sequelas, com a toxicidade cardíaca e o surgimento de neoplasias secundárias ao tratamento adjuvante. Outra observação importante foi o facto de se terem encontrado taxas de amenorreia relacionada com a quimioterapia altamente variáveis: 0-100%. Em parte, além das muitas variáveis que ainda hoje se atribuem como influenciadoras do risco e caracterizadoras da amenorreia, chegou-se à conclusão que havia uma grande ambiguidade da terminologia utilizada. Este facto foi responsabilizado pelas amplas variações das taxas de amenorreia, mesmo quando os mesmos protocolos de quimioterapia estão em causa. *Bines et al.* sugerem então várias definições uniformizadoras, entre as quais se destaca a de «amenorreia induzida pela quimioterapia» - ausência de menstruações por pelo menos 6 meses em mulheres pré-menopausicas antes do diagnóstico (Bines et al. 1996).

A gónada pré-puberdade é menos afectada pela quimioterapia, por causa da relativa quiescência fisiológica das células ováricas estromais e germinais, tornando-se mais vulnerável depois da fase pubertária, em que surgem as divisões celulares a nível ovárico (Marthelin et al. 2008). A quimioterapia tem efeitos em todas as células de rápida multiplicação, como é o exemplo da medula óssea, raízes capilares, células mucosas, entre outros. O efeito da quimioterapia é reversível na maior parte dos órgãos, sendo contudo irreversível no ovário (Gerber e tal, 2007). O ovário humano tem um número fixo de folículos primordiais, que é máximo aos 5 meses de gestação, e diminui com a idade. A taxa de declínio destes folículos aumenta por volta dos 37 anos de idade, em média precedendo a menopausa cerca de 12 a 14 anos (Partridge and Ruddy, 2007). O potencial de fertilidade no sexo feminino relaciona-se com o número e qualidade dos folículos primordiais que restam nos ovários e é referido como reserva ovárica (Singh et al. 2004). Não existe reposição folicular. A quimioterapia e a radioterapia, sendo citotóxicas, aceleram a perda desses folículos. Este facto é confirmado pela análise histológica, que confirma presença de atrofia ovárica, fibrose e diminuição do *pool* de

folículos ováricos primordiais. Os agentes quimioterapêuticos podem ainda lesar as células produtoras de esteróides do tecido ovárico (células da granulosa e da teca), com efeitos no eixo hipotálamo-hipófise-ovário, juntamente com a diminuição da reserva ovárica (Yap and Davies, 2007). Acontece que a produção de estrogénios ocorre após a estimulação da teca e da granulosa pela hormona luteinizante (LH) e hormona estimulante folicular (FSH), e esta é necessária à maturação folicular (Jones, 2006). A alteração dos processos de maturação folicular conduzirá a uma amenorreia transitória, enquanto que a destruição total dos folículos primordiais será responsável por uma amenorreia definitiva (Klapouszczak et al. 2006). Existem múltiplos mecanismos através dos quais a quimioterapia pode causar lesão ovárica (Partridge and Ruddy, 2007). *Gerber et al.* (2007) depois de reconhecer que ainda muito há para saber sobre estes mecanismos, refere duas hipóteses que potencialmente clarificam o início do processo através do qual a quimioterapia causa falência ovárica: A Hipótese de *Ataya*, que parte do princípio que a lesão primária ocorre nas células da granulosa em proliferação; a Hipótese de *Meirow*, que postula que através da indução de apoptose, as substâncias alquilantes destroem primeiro as células da pré-granulosa em repouso e ovócitos circundantes.

A lesão folicular dependente da quimioterapia não é um fenómeno de tudo ou nada. Se alguns ovócitos restam depois da quimioterapia, as menstruações podem tornar-se irregulares e coexistirem com sintomas de menopausa. Pode acontecer que não restem ovócitos viáveis, e a menopausa se instale (Partridge and Ruddy, 2007). No período peri-menopausa há um declínio gradual de folículos funcionais maduros, bem como diminuição da sensibilidade à estimulação por gonadotrofinas nos 10-15 anos seguintes. Estas alterações levam também a modificações na duração do ciclo menstrual, hemorragia catamenial, no número de ciclos ovulatórios, e alterações nos níveis hormonais (Pritchard, 2007).

O perfil endócrino (doseamentos hormonais) de uma doente pré-menopáusicas submetida a quimioterapia que desenvolve amenorreia, é consistente com uma falência ovárica primária (Reichman and Green, 1994).

### **Factores preditivos de falência ovárica induzida pela quimioterapia**

*Stearns* (2006) agrupa os factores preditivos de falência ovárica induzida pela quimioterapia em não genéticos e genéticos. Entre os não genéticos, os mais

importantes e bem descritos são: a idade da doente no momento do tratamento, o tipo, a dose e a duração da quimioterapia. Relativamente a preditivos genéticos da falência ovárica ainda há muito por esclarecer. É provável que as mesmas alterações genéticas associadas à menopausa precoce possam prever relativamente à menopausa induzida por quimioterapia. O polimorfismo *insLQ* foi recentemente identificado no receptor de LH, e foi associado a pior sobrevivência livre de doença no cancro da mama, mas o seu papel relativamente à amenorreia associada ao tratamento não é conhecido. Uma segunda categoria de genes candidatos são os implicados no metabolismo das drogas e respectiva sensibilidade. Os polimorfismos presentes em transportadores membranares, enzimas metabolizadoras e respectivos alvos, podem afectar a eficácia da terapêutica mas também a sua toxicidade. Por exemplo, muitas enzimas do citocromo P450 apresentam polimorfismos: os genes CYP 3A4 e CYP3A5 (parte da codificação do grupo de enzimas CYP3A) estão envolvidos no metabolismo de mais de 50% dos fármacos metabolizados pelo fígado, incluindo muitos agentes terapêuticos utilizados no cancro da mama, como antraciclina, alcalóides da vinca, paclitaxel, ciclofosfamida e tamoxifeno. Estudos futuros concluirão sobre a influência das variantes genéticas na falência ovárica induzida pela quimioterapia no cancro da mama.

*Petrek et al.* (2006) desenvolveu um dos maiores estudos de observação longitudinal sobre este tema até à data; com 595 mulheres (20-45 anos, idade média 39,5 anos) com diagnóstico de cancro da mama nos estadios II e III e ciclos menstruais regulares até ao diagnóstico. Neste estudo o fluxo menstrual foi utilizado como indicador da função ovárica. Estas mulheres foram seguidas através de um calendário menstrual, em que procediam à identificação dos dias de hemorragia e caracterizavam o seu fluxo. Também preenchiavam um questionário de *follow-up* semestral, relativo à qualidade de vida, evolução da doença, alterações terapêuticas e situações que pudessem alterar o fluxo menstrual. Os fármacos mais utilizados foram ciclofosfamida (C) 85,2%; doxorubicina (A) 71,6%; paclitaxel (T) 38,7%; fluoracilo (F) 29,9%; metotrexato (M) 16,1%; docetaxel (D) 8,4%. Cerca de 4% das mulheres (n=24) fizeram terapêutica com outros citostáticos e 1,7% não fizeram terapêutica citostática. Os esquemas mais utilizados foram: AC, ACT, CMF, FAC, FACT, ACD. A duração média de tratamentos

foi 190 dias. Cerca de 340 mulheres (57%) fizeram hormonoterapia, 329 com tamoxifeno. Verificou-se que a proporção de mulheres menstruadas diminuiu drasticamente com as primeiras doses de terapêutica adjuvante. Conforme o término da administração da quimioterapia, a percentagem de mulheres menstruadas começou a aumentar nos meses seguintes, com pico máximo de 55% aos 15 meses após o diagnóstico, havendo declínio gradual posterior até 35% aos 5 anos após diagnóstico (Figura 1-A). Uma proporção maior de mulheres com 40 anos ou mais não recuperou a menstruação. Observou-se também uma recuperação mais rápida em mulheres com menos de 35 anos (85%, 6 meses depois da quimioterapia, mantendo-se relativamente constante), e não tão pronunciada entre os 35 e os 40 anos (61%, 6 meses depois dos tratamentos), mas com declínio para 45%, 5 anos após o tratamento (Figura 1-A). Este estudo reafirmou a idade como preditivo na amenorreia induzida pela quimioterapia, independentemente do regime de quimioterapia utilizado. As probabilidades de redução do fluxo menstrual aumentaram cerca de 24% por cada ano de idade.

A dose total de ciclofosfamida necessária para induzir amenorreia numa mulher de 40 anos é cerca de 25% da dose necessária para a induzir numa mulher de 20 anos (Chabbert-buffet et al. 2009). *Goldhirsh et al.* (1990) verificou também que a administração do regime CMF se associou uma incidência de amenorreia de 61% em doentes com idade inferior a 40 anos, e de 95% em doentes com idade superior a 40 anos. O risco de falência ovárica induzida por drogas aumenta com a idade, provavelmente porque a reserva folicular já está diminuída no momento de administração do fármaco, sendo que a quimioterapia impede a maturação ovárica, e também diminui o número de folículos ováricos primordiais (Chabbert-Bufferet et al. 2009).

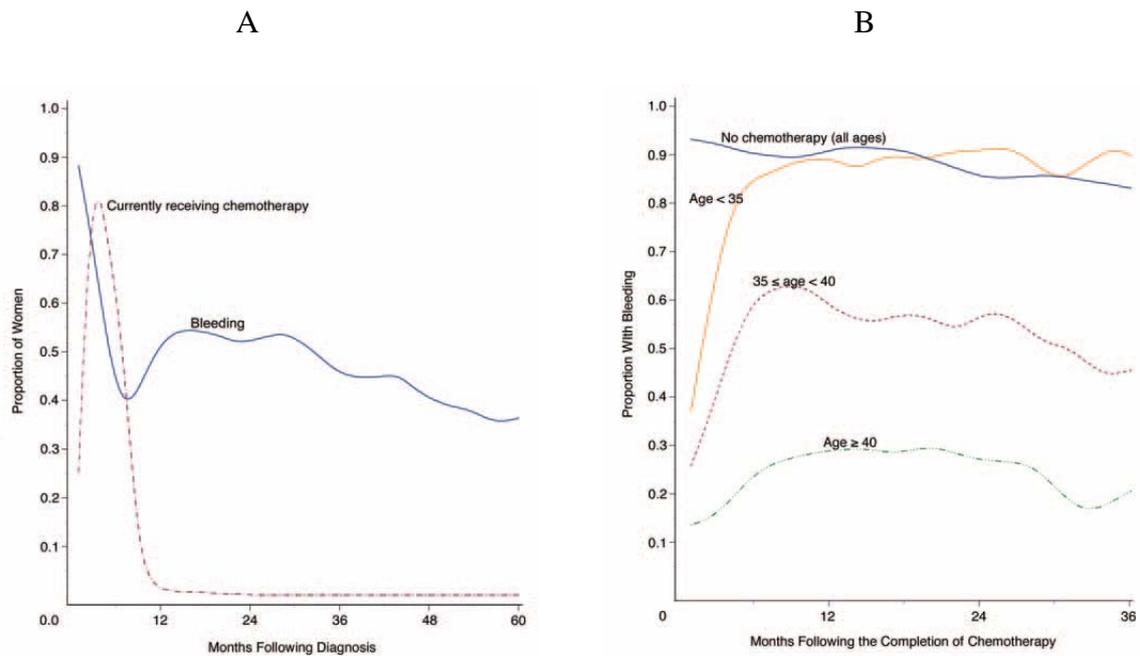


Figura 1. A- proporção de mulheres menstruadas após o diagnóstico de cancro da mama, e percentagem de mulheres submetidas a quimioterapia (n=595) B- percentagem de mulheres menstruadas após quimioterapia por idade. Adaptado de *Petrek et al.* (2006)

### Avaliação da Reserva Ovária

Ficou reforçada a influência do regime quimioterapêutico utilizado e o número de meses após o final desta, com a amenorreia induzida pela quimioterapia. *Oktay et al.* (2006) felicita o trabalho de *Petrek et al.* por ser o maior estudo prospectivo deste tipo entre sobreviventes de cancro da mama, mas refere que este se manteve limitado à verificação do ciclo menstrual das doentes, sendo que a cessação das menstruações é o sintoma final de falência ovária, e quando esta ocorre a infertilidade pode já estar instalada há 5 ou 10 anos, consequência da idade da mulher. *Meirow and Nugent* (2001) referem que uma proporção significativa de doentes mais novas que continuam a menstruar regularmente depois da quimioterapia, apresentam um risco acrescido de menopausa precoce, vários anos após o tratamento. *Partridge and Ruddy* (2007) relembram que na população geral existem baixas taxas de concepção em mulheres acima dos 45 anos, apesar do facto destas menstruarem até aos 50 anos. Segundo *Oktay et al.* (2006), este período infértil pode ser detectado por marcadores hormonais, inclusivamente em doentes com cancro. Os doseamentos da FSH e estradiol no terceiro dia de menstruação têm sido utilizados como principais marcadores para avaliar a

reserva ovárica há mais de uma década. Valores de FSH superiores a 12 mIU (20 mIU/ml por radioimunoensaio) ou estradiol superior a 75pg/ml no terceiro dia de menstruação, são valores associados a função ovárica afectada, mesmo na ausência de amenorreia. Os níveis elevados de FSH resultam numa estimulação ovárica endógena, fazendo com que a ovulação aconteça muito antes do meio do ciclo menstrual. Depois, devido ao feed-back negativo do estradiol, os níveis de FSH são suprimidos, podendo atingir níveis falsamente normais.

Contudo, o que estas medições basais de FSH e estradiol não conseguem fazer, é determinar a reserva ovárica restante antes que a infertilidade se instale. Neste sentido, existem outros marcadores ováricos emergentes: como a inibina B e a hormona anti-mulleriana (HAM), que parecem ser mais sensíveis na avaliação dessa reserva. O mais promissor destes marcadores é a hormona anti-mulleriana (HAM), uma vez que é produzida por folículos ováricos em estadios mais precoces, representando melhor a reserva ovárica composta pelos folículos primordiais quiescentes. O estudo ecográfico com medição do volume ovárico e contagem de folículos antrais ao terceiro dia de menstruação são também métodos de avaliação válidos, uma vez que a fracção de folículos que iniciam maturação, parecem ser proporcionais à reserva ovárica restante, de acordo com vários estudos histológicos (Anderson and Cameron, 2007).

### **Regime terapêutico escolhido**

No seguimento dos métodos apresentados para avaliação da função ovárica, existem poucos estudos que não utilizam a menstruação como substituto da função ovárica. Num pequeno estudo de *Oktay et al.* (2006) (n=8), em que foi administrado o regime AC, e AC seguido de paclitaxel, registaram-se níveis anormalmente elevados de FSH e/ou estradiol, no terceiro dia do ciclo menstrual dessas mulheres. *Anderson and Cameron* (2007) foram responsáveis por um outro estudo com uma amostra de 56 mulheres recrutadas na altura do diagnóstico de cancro de mama. Destas, 42 foram tratadas com quimioterapia adjuvante, e a maioria recebeu um regime sequencial de uma antraciclina, seguida da administração de CMF (n=25), ou CE seguido de docetaxel ou paclitaxel (n=11). Os dados mostram um profundo declínio na HAM durante a quimioterapia, frequentemente para valores indetectáveis. A maior parte deste declínio é verificada nos primeiros 3 meses, altura em que estas mulheres recebem o componente antraciclina. Aos 6 meses, o regime com docetaxel (com menores doses de ciclofosfamida associadas) parece ser o mais gonadotóxico, associando-se a

concentrações mais elevadas de FSH, às mais baixas concentrações de HAM e inibina B e também à maior prevalência de amenorreia. *Anderson and Cameron (2007)* sugerem uma reavaliação da gonadotoxicidade da ciclofosfamida. Contudo segundo as observações do estudo de *Petrek et al.* apresentadas posteriormente, verifica-se que num *follow-up* mais prolongado esta situação se inverte, provando-se que a longo prazo a ciclofosfamida se revela mais tóxica. Neste estudo também foram detectadas alterações nos marcadores ecográficos de reserva ovárica, observando-se diminuição do volume ovárico, e diminuição da contagem de folículos antrais durante a quimioterapia. Contudo, é de supor que estes já se encontrassem baixos nesta população lembrando a demografia do cancro da mama e não são provavelmente suficientemente sensíveis para validar diferenças entre regimes de quimioterapia.

Foram observadas diminuições de volume ovárico detectado por ecografia transvaginal em doentes menstruadas. Este fenómeno foi observado independentemente do regime quimioterapêutico observado (Davis, 2005).

Também *Oktay et al. (2006)* efectuou medições de HAM em 3 doentes com cancro da mama, antes e depois de quimioterapia, tendo observado um declínio destes. Estes dados complementam os de estudos como *Petrek et al. (2006)*, em que é usada a menstruação para inferir a actividade ovárica, que tem a vantagem de ser um método menos invasivo e económico e logo mais adequado para estudos maiores. Como lembra *Marthelin et al. (2008)* estes métodos são também importantes na avaliação do estado hormonal de mulheres histerectomizadas, portadoras de um dispositivo intra-uterino hormonal, mulheres tratadas com análogos GnRH e com tamoxifeno, porque é difícil interpretar as oligomenorreias e as irregularidades menstruais.

*Meirrow (2000)* analisou a fracção de contribuição dos vários grupos de agentes quimioterapêuticos que agrupou em agentes alquilantes, cisplatina, alcalóides da vinca, antimetabólicos e antibióticos. Foi feita uma comparação do risco relativo de falência ovárica entre doentes expostos e doentes não expostos a cada agente, com correcção do factor idade (Figura 2). Os agentes alquilantes apresentam o maior risco de falência ovárica (OR= 3,98), seguindo-se a cisplatina (OR=1,77), e os alcalóides da vinca (OR= 1,22). Os antimetabólicos e antibióticos apresentaram valores abaixo de 1, sugerindo uma maior segurança relativamente à preservação da função ovárica.

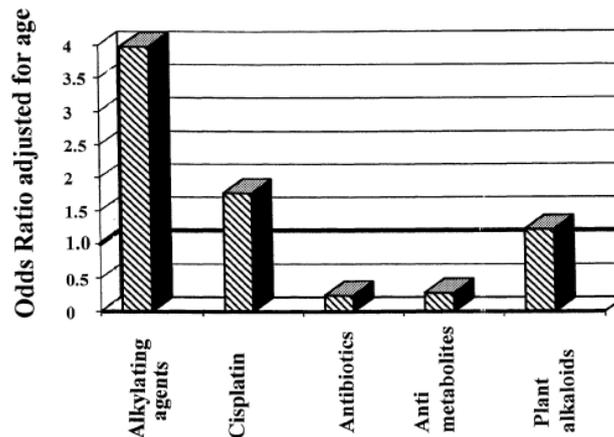


Figura 2- Risco relativo de falência ovárica, ajustado por idade, para os vários fármacos. Adaptado de *Meirrow et al. (2000)*

### Ciclofosfamida

No estudo de *Petrek et al. (2006)* já antes sucintamente exposto, observou-se um declínio abrupto da proporção de mulheres menstruadas na maioria dos regimes. Verificou-se um aumento gradual de menstruações ao longo de vários meses até se atingir um *plateau*, com maior número de mulheres menstruadas no caso do regime AC, seguido do regime ACT, e depois ACD, este com maior declínio. Contudo, ao fim de 3 anos observa-se uma aproximação da proporção de mulheres menstruadas medicadas com estes três regimes. Esta evolução é substancialmente diferente no regime CMF, em que existe maior percentagem de mulheres que inicialmente continuam a menstruar, mas não existe fase de recuperação e no *follow-up* destas doentes continua a verificar-se um declínio da proporção de mulheres menstruadas (Figura 3). Os estudos de *Goldhirsch et al. (1990)* estão de acordo com estes resultados. A amenorreia encontra-se relacionada com a dose cumulativa de ciclofosfamida e assim se explica que os esquemas com antraciclina se associem a uma menor falência ovárica, uma vez que se consistem em menor número de ciclos.

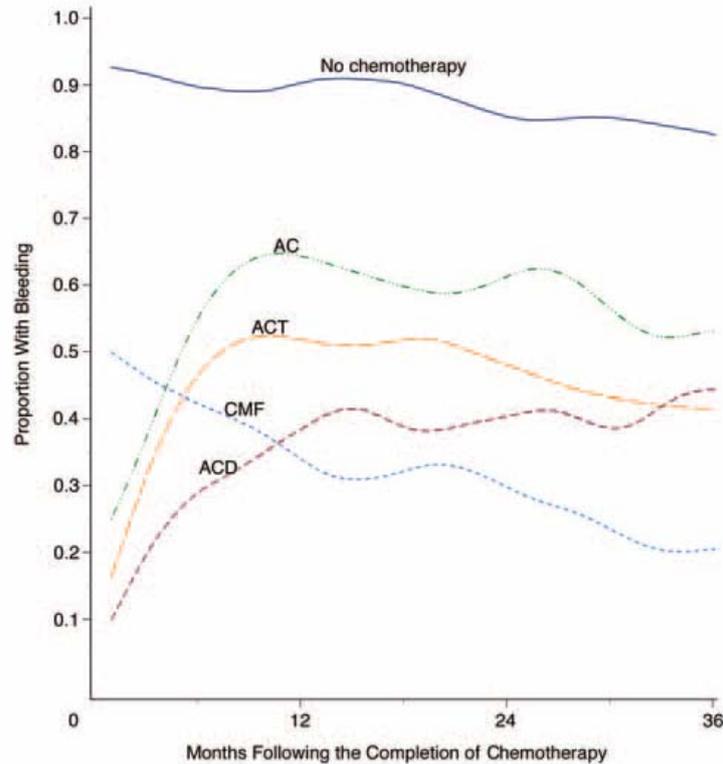


Figura 3- Proporção de mulheres menstruadas após a administração de vários regimes administrados no seu estudo, com um *follow-up* de 36 meses. A: doxorubicina, C: ciclofosfamida, T: paclitaxel, M: metotrexato, F: Fluoracilo, D: docetaxel. (Adaptado de *Petrek et al.* (2006))

*Chabbert-Buffet et al.* (2009) reforça o que a maioria dos estudos mostraram, os regimes que usam as associações FAC e FEC associam-se a menores taxas de amenorreia, comparativamente com o previamente usado CMF, provavelmente devido às doses mais baixas de ciclofosfamida dos primeiros.

Os agentes alquilantes são extremamente gonadotóxicos, uma vez que a sua acção não é específica do ciclo celular e lesa inclusivamente folículos primordiais em repouso, associando-se a um aumento do risco de falência ovárica de 4 a 9,3 vezes comparando com os controlos não expostos (*Schattman and Navarro, 2008*).

Num estudo de *Oktem and Oktay* (2007) realizado para quantificar o impacto da quimioterapia na reserva de folículos ovários primários, verificou-se que doentes tratadas com agentes alquilantes tinham contagens de folículos primordiais significativamente mais baixas, quando comparadas com as doentes que receberam fármacos não alquilantes (contagem média de folículos primordiais:  $2,9 \pm 1,1$  vs.  $7,9 \pm$

1,6;  $p < 0,05$ ), e quando comparadas com doentes que não receberam quimioterapia (contagem média de folículos primordiais:  $2,9 \pm 1,1$  vs.  $9,6 \pm 2,2$ ;  $p < 0,05$ ).

A amenorreia induzida por estes agentes afecta um grande número de mulheres tratadas e é em grande parte irreversível (Tomao, 2006). Segundo *Mastro et al.* (2006), o regime CMF associa-se a uma taxa de amenorreia de cerca de 20-75%. O papel principal dos agentes alquilantes como a ciclofosfamida na toxicidade ovárica é evidenciado pela baixa taxa de amenorreia (9%) associada ao regime MF, do qual foi retirada a ciclofosfamida.

### **Antibióticos anti-tumorais: antraciclina**

Ao todo, a incidência de amenorreia com regimes baseados em antraciclina apresenta um espectro de 0-96%. Demonstrou-se que 0% das doentes com menos de 30 anos a receber regimes com doxorubicina pararam de menstruar, sendo que esta percentagem sobe para 33% nas doentes entre os 30 e 39 anos e 96% nas mulheres entre 40 e 49 anos. (Sonmezer e Oktay, 2006). As antraciclina associam-se a menor toxicidade ovárica, mas existe também uma potencialização dos seus efeitos quando utilizadas em associação a outros citostáticos (Mignot, 2000).

### **Taxanos**

Os taxanos fazem hoje em dia parte de muitos regimes de quimioterapia. Estes são inibidores do fuso mitótico e parecem pouco propensos ao desenvolvimento de disfunção ovárica persistente (*Maltaris et al.* 2006). Contudo, *Chabbert-Buffet et al.* (2009) referem vários estudos em que o contrário fica patente, referindo que quando comparados regimes baseados em antraciclina (AC ou FEC) isolados ou em associação com taxanos, estes últimos parecem resultar em taxas de amenorreia superiores em mulheres jovens. A amenorreia induzida pelos taxanos foi inicialmente proposta como um dos mecanismos responsáveis pela sua eficácia. *Fornier et al.* demonstraram que apenas 15% das mulheres com menos de 40 anos de idade desenvolveram amenorreia de longa duração depois de receberem antraciclina e taxanos sequencialmente. *Tham et al.* mostraram que 64% das mulheres com menos de 40 anos que recebem antraciclina e taxanos tiveram amenorreia, em comparação com 55% das mulheres recebendo FAC. Também no estudo de *Partridge and Ruddy* (2007) as doentes apresentavam taxas de amenorreia para os regimes TAC e FAC de 62% e 52%, respectivamente, consistentes com a observação anterior. Os resultados encontrados não são ainda muito

esclarecedores. As observações já mencionadas de *Anderson et al.* relativas à contagem de folículos antrais e níveis de HAM, mostraram uma diminuição destes valores com a associação de um taxano à terapêutica. Contudo, voltando a invocar as observações de *Petrek et al.* (2006), verificou-se uma inversão da situação com um *follow-up* mais prolongado. Segundo *Partridge and Ruddy* (2007) vários estudos avaliaram o resultado da adição de paclitaxel ao regime AC e quando a idade é controlada, verificou-se que o efeito desta adição tem pouco ou nenhum efeito.

### **Outros Fármacos**

Outros agentes não dependentes do ciclo celular, os antimetabólicos, como o metotrexato e 5-fluorouracilo não têm efeitos na diminuição da reserva ovárica (Sonmezer e Oktay, 2006). Contudo, segundo *Chasle and How* (2003) existem registos de amenorreia associados a estes dois fármacos.

*Mastro et al.* (2006) referem que os análogos da GnRH induzem supressão ovárica e embora este efeito seja considerado temporário, a sua reversibilidade depende da idade da doente. Cerca de 90% das doentes com menos de 40 anos no início do segundo tratamento com análogos de GnRH, tinham o retorno da menstruação ao fim de um ano findo o tratamento, comparativamente aos 70% observados em mulheres com mais de 40 anos.

Relativamente ao trastuzumab, um estudo preliminar avaliando os riscos das mais actuais modalidades de tratamento, verificou que a adição do trastuzumab não teve efeitos deletérios na fertilidade (Maltaris e tal, 2008).

A *American Society of Clinical Oncology* (Lee et al. 2006) sistematizou o risco de amenorreia permanente numa mulher tratada com quimioterapia, e *Marthelin et al.* (2008) adapta este algoritmo à situação particular do cancro da mama, conforme apresentado na tabela I.

Tabela I- Risco de amenorreia associado a diferentes regimes de quimioterapia. Adaptado de *Mathelin et al.* (2008).

RISCO DE AMENORREIA	REGIME DE QUIMIOTERAPIA
<b>Elevado</b> (superior a 80%)	-CMF, FEC, FAC (cada 6 ciclos, em mulheres com mais de 40 anos)
<b>Intermédio</b> (80 a 20%)	-CMF, FEC, FAC (cada 6 ciclos em mulheres entre os 30 e 39 anos) -FAC (cada 4 ciclos em mulheres com mais de 40 anos)
<b>Baixo</b> (inferior a 20%)	-CMF, FEC, FAC (cada 6 ciclos em mulheres com menos de 30 anos) -FAC (cada 4 ciclos em mulheres com menos de 40 anos)
<b>Muito baixo/ausente</b>	- vincristina, metotrexato, 5-Fluorouracilo
<b>Desconhecido/duvidoso</b>	-taxanos, anticorpos monoclonais (trastuzumab)

*Gerber et al.* (2007) num esquema semelhante, inclui as «combinações contendo taxanos» no separador do risco intermédio, sendo interessante verificar que não deixa de incluir os taxanos no separador do risco desconhecido/duvidoso.

*Klapouszczak et al* (2006) sugere outra classificação do risco de disfunção gonadal associada à quimioterapia, que se apresenta cumulativamente por incluir outros fármacos também utilizados no tratamento adjuvante do cancro da mama, e os apresentar individualmente, descrito na tabela II.

Tabela II- Risco de Disfunção Gonadal em função da terapêutica com diferentes citostáticos. Adaptado de *Klapouszczak et al* (2006).

RISCO DISFUNÇÃO GONADAL	CITOSTÁTICO
<b>Risco elevado</b>	Ciclofosfamida
	Melfalan
	Clorambucil
<b>Risco médio</b>	Cisplatina
	Carboplatina
	Doxorubicina
<b>Risco baixo</b>	Metotrexato

*Chabbert-Buffet et al.* (2009) apresenta o seguinte esquema ilustrativo (Figura 4):

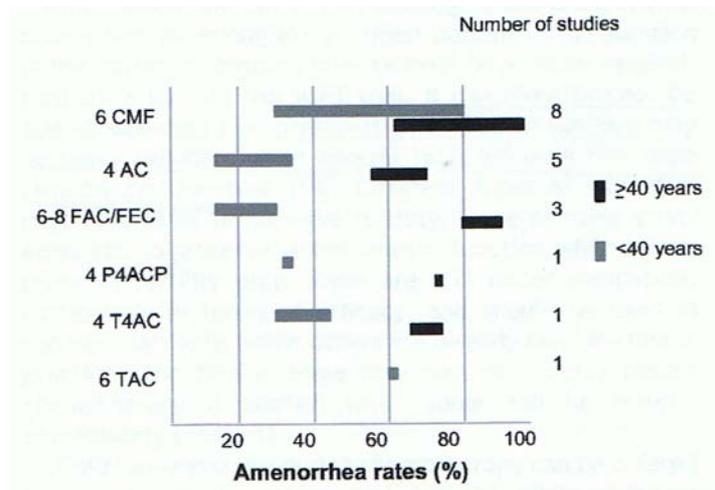


Figura 4- Sistematização das taxas de amenorreia verificadas em vários estudos, para vários regimes de quimioterapia, ajustadas por idade. C:ciclofosfamida, M:metotrexato, F:Fluorouracilo, A: doxorubicina, E: Epirubicina, P:paclitaxel, T:docetaxel. Adaptado de *Chabbert-Buffet et al.* (2009)

### Hormonoterapia

O tamoxifeno é um modulador selectivo dos receptores de estrogénios (MSRE), inibindo de forma competitiva a ligação dos estrogénios ao seu receptor. A ocupação simultânea dos receptores dos estrogénios ocorre se houver uma razão das concentrações de tamoxifeno/estradiol de pelo menos 1000 (This, 2008).

O tamoxifeno foi responsável por uma diminuição modesta mas significativa (aproximadamente 15%) da regularidade menstrual, independentemente do regime de quimioterapia utilizado. A maioria das mulheres pré-menopáusicas continuaram a menstruar enquanto medicadas com tamoxifeno, apesar das menstruações se terem tornado irregulares. Este efeito ao fim de 3 anos já não se observava. Os seus efeitos no ovário assumem-se como reversíveis e temporários (Petrek et al. 2006).

Segundo *Mastro et al.* (2006) quando o tamoxifeno é administrado isoladamente, o risco de estabelecimento de menopausa é baixo e dependente da idade da doente. Nas mulheres com menos de 45 anos de idade e tratadas com este fármaco, o risco não se altera relativamente a mulheres não tratadas com tamoxifeno. Em mulheres mais velhas que ainda menstruam o risco incremental é de cerca de 10%. O uso de tamoxifeno em adição à quimioterapia resulta num pequeno aumento no risco de menopausa precoce, que se revelou estatisticamente significativo.

Segundo *Oktay et al.* (2006) torna-se um desafio a determinação da fertilidade através dos níveis de FSH e estradiol em mulheres medicadas com tamoxifeno, uma vez que este estimula a produção ovárica de estradiol, dificultando as interpretações. Os níveis de estradiol podem encontrar-se 4 a 5 vezes mais elevados em mulheres em tratamento com tamoxifeno de longa data, com os níveis de FSH diminuídos por feedback negativo. Por causa da estimulação crónica com tamoxifeno, os ovários de doentes com cancro da mama muitas vezes tornam-se disfuncionais, resultando em irregularidades menstruais temporárias. A HAM é contudo um potencial marcador de fertilidade para determinar a reserva ovárica nestas doentes. Como refere *Chabbert-Buffet et al.* (2009) os seus níveis são independentes do ciclo menstrual e da administração de drogas anti-gonadotróficas. *Anderson and Cameron* (2007) não detectaram alterações significativas na concentração de HAM de 5 mulheres medicadas com tamoxifeno exclusivamente, ao longo de 12 meses. As concentrações da gonadotrofina e estradiol apresentaram as elevações esperadas.

*Partridge and Ruddy* (2007) referem que a hormonoterapia não é geralmente responsável por toxicidade ovárica significativa, mas envolve longos períodos de tempo de tratamento, durante o qual a fertilidade da mulher vai sofrer o normal declínio com a idade. *This* (2008) lembra ainda o efeito teratogénico do tamoxifeno, nomeadamente a nível genital, sendo que é recomendável contraceção.

### **Doses e duração do tratamento**

Doses mais elevadas de fármacos ou terapias mais longas associam-se a maior risco de falência ovárica. As taxas de amenorreia relatadas são significativamente mais altas em doentes tratados com quimioterapia combinada por 36 semanas, quando comparadas com doentes tratados por 12 semanas (83% vs. 55%) (Gurgan e tal, 2008). Estima-se que por cada mês de quimioterapia em mulheres pré-menopáusicas haja uma antecipação da menopausa em cerca de meio ano (Gerber e tal, 2007).

### **Momento de administração da quimioterapia no ciclo menstrual**

O momento do ciclo menstrual em que é administrada a quimioterapia pode influenciar a toxicidade ovárica, sendo que a sua administração na segunda fase do ciclo pode limitar a mesma. Um estudo com 111 mulheres, provou que a amenorreia induzida pela quimioterapia tem uma maior incidência (67,6%) quando o tratamento é feito durante a fase folicular (Cosimo et al. 2004).

A quimioterapia não parece estar relacionada com efeitos nefastos na função uterina (Klapouszczak e tal, 2006).

### **Perspectivas de fertilidade**

As opções de preservação da fertilidade devem ser oferecidas a mulheres jovens submetidas a quimioterapia. Esta estratégia deve idealmente ter um impacto mínimo no prognóstico de cancro da mama, não deve interferir com a eficácia terapêutica, e deve associar-se a uma hipótese razoável de gravidez posterior. Os resultados recentes do estudo NSABP-30 mostraram que doentes pré-menopáusicas com cancros da mama operáveis, com gânglios positivos, que experienciaram mais de 6 meses de amenorreia tiveram maiores taxas de sobrevivência e de sobrevivência livre de doença, em todas as linhas de tratamento. A sobrevivência global 15 anos após tratamento de cancro da mama é significativamente maior após ooforectomia (Chabbert-Buffet et al. 2009). Contudo, outros estudos contrariam esta visão. *Maltaris et al.* (2008) enuncia vários estudos que reflectem sobre esta problemática. Um deles, um estudo finlandês, comparou a sobrevivência de 91 mulheres com cancro da mama, com gravidezes de termo, com um grupo de controlo de mulheres sobreviventes de cancro da mama sem gravidez (controlo de estadio, idade, e ano de diagnóstico). Observaram um risco de morte 4,8 vezes superior no grupo de controlo (mulheres que não engravidaram). Este facto foi atribuído ao efeito mãe saudável, sendo que apenas mulheres que se sentiam

saudáveis engravidaram. Um outro estudo investigou a influência prognóstica de uma gravidez 5 anos antes e 5 anos depois de cancro da mama em 2119 mulheres. Mulheres com uma gravidez anterior apresentavam tumores ligeiramente maiores, não se verificando contudo evidências de pior prognóstico, em comparação com mulheres que não estiveram grávidas no mesmo período. Para mulheres com uma gravidez posterior ao cancro, observaram-se resultados sugestivos de um risco reduzido de disseminação. *Maltaris et al.* (2008) refere ainda as observações de *Muller*, que comparou retrospectivamente 438 doentes que engravidaram posteriormente ao diagnóstico de cancro da mama, com um controlo de 2775 mulheres sem gravidezes. Observou-se que mulheres que engravidaram cerca de 10 meses após o diagnóstico, tiveram um risco de mortalidade significativamente mais baixo. Um grupo de investigação japonês demonstrou um efeito anti-tumoral num modelo animal, possivelmente devido a sinalização pela via do factor de crescimento da insulina. No mesmo modelo animal verificou-se que idade precoce na gravidez de termo, ou tratamento hormonal de curta duração mimetizando a gravidez pode diminuir o risco de cancro da mama. A idade de exposição hormonal é um factor crucial, porque a exposição hormonal mimetizando a gravidez em indivíduos mais velhos, pode exercer efeitos opostos dos exercidos em indivíduos mais jovens (*Maltaris et al.* 2008). Os efeitos da gestação subsequente a um cancro da mama no seu prognóstico, ainda não foram estudados prospectivamente (*Lee et al.* 2006).

Segundo *Gerber et al.* (2007) os dados disponíveis permitem concluir que esta amenorreia subsequente aos tratamentos (induzida pela quimioterapia, associada a análogos da GnRH) melhora o prognóstico, enumerando várias metanálises, não conseguindo no entanto provar tratar-se de um valor prognóstico independente no cancro da mama. Não há contudo definição da sua duração ideal e o estudo ZEBRA, em doentes com tumores com receptores hormonais positivos, mostrou que mulheres com a recuperação da menstruação ao fim de 2 anos de amenorreia, não tinham desvantagens no prognóstico, comparativamente com outras que desenvolveram amenorreia permanente. *Hensley and Reichman* (1998) lembram ainda que as taxas de recorrência de cancro da mama são mais elevadas nos primeiros 1 a 2 anos depois do diagnóstico. Este período irá identificar as mulheres com doença mais agressiva e ajudar na ponderação das demais decisões.

Embora vários estudos sugiram que não exista impacto na sobrevivência com a gravidez, há que referir que na verdade apenas há dados de estudos observacionais, não sendo informação fortemente baseada na evidência (Pritchard et al. 2007).

Não sendo um assunto livre de controvérsia, e não sendo o tema sobre o qual se debruça este trabalho, pelos argumentos apresentados, apesar do indiscutível valor prognóstico da amenorreia pós diagnóstico de cancro da mama, e porque, como refere *Maltaris et al.* (2008), a nenhuma mulher pode ser negado o direito de engravidar, opções de preservação de fertilidade devem ser discutidas com estas doentes.

Segundo as recomendações da *American Society of Reproductive Medicine*, todas as doenças que exijam terapia tóxica para o ovário, são indicação para protecção ovárica, e consequentemente conservação da fertilidade (Gerber et al. 2007).

### **Opções de preservação da fertilidade**

A infertilidade é funcionalmente definida como a incapacidade de conseguir uma gravidez após um ano de relações sexuais sem contracepção (Lee et al. 2006). Diferentes tipos de estratégias podem ser oferecidos para preservação da fertilidade. Algumas destas opções têm como meta a preservação da fertilidade e outras pretendem a preservação da função ovárica global (Chabbert-Buffet et al. 2009).

De entre as várias opções para preservação de fertilidade, destacam-se: criopreservação de embriões, criopreservação de ovócitos, criopreservação de tecido ovárico, supressão ovárica (terapias hormonais para protecção do tecido ovárico durante quimio ou radioterapia), transposição ovárica (reposicionamento cirúrgico dos ovários, com afastamento do campo de irradiação) (Sánchez e tal, 2008). Esta última opção não é aplicável à situação do cancro da mama, não havendo irradiação pélvica ou abdominal no tratamento deste. Enquanto que a criopreservação de embriões é uma técnica estabelecida, o congelamento de ovócitos e tecido ovárico são ainda técnicas experimentais, embora ambas as técnicas já tenham resultado em nados vivos (Oktay et al. 2007).

### **Criopreservação de embriões**

A criopreservação de embriões tipicamente conduzida antes da iniciação da quimioterapia, é um método descrito desde 1983 (Dunn and Fox. 2009). O embrião

humano é muito resistente às lesões causadas por criopreservação. As taxas de sobrevivência para os embriões descongelados variam de 35 a 90%, e as taxas de sucesso de implantação variam de 8 a 30%. Se múltiplos embriões estiverem disponíveis para criopreservação, a taxa cumulativa de gravidez pode exceder os 60% . A taxas de parto, por embrião, utilizando embriões criopreservados variam entre 18 e 20% (Maltaris et al. 2008). Esta técnica exige estimulação ovárica (injecções diárias de FSH) para que haja desenvolvimento multifolicular, remoção de ovócitos, formação do embrião por fertilização in vitro (FIV) e congelação dos embriões para futura implantação. Este método requer a participação de um parceiro masculino ou de uma amostra de esperma de um dador e tempo adequado precedente à quimioterapia para execução da estimulação ovárica e FIV (Dunn and Fox, 2009). A estimulação ovárica deverá acontecer depois da cirurgia e antes da quimioterapia (Chabbert-Buffet et al. 2009). A eficácia da FIV diminui após cada ciclo de quimioterapia, e nesta circunstância existe também risco de fertilização de um ovócito em crescimento geneticamente lesado (Sonmezer e Oktay, 2006). Os níveis de estradiol durante ciclos estimulados tradicionalmente para FIV são 2000 pg/ml, enquanto que são apenas de 200 pg/ml no ciclo menstrual normal. Contudo os embriões conseguidos num ciclo normal para FIV, isto é, sem estimulação hormonal exógena são escassos (Partridge and Ruddy, 2009). Este procedimento pode levar 2 a 6 semanas, podendo atrasar o início do tratamento, e por outro lado a estimulação dos ovários antes da quimioterapia, resulta nos já referidos níveis elevados de estrogénios circulantes. (Duffy and Allen, 2009). Apesar destas preocupações, este tem sido o mais bem sucedido método para conseguir uma gravidez após tratamento de cancro da mama (Dunn and Fox, 2009). A taxa de nados vivos depois de criopreservação de embriões depende da idade da doente, do total de embriões criopreservados e pode ser mais baixa quando comparada com embriões não criopreservados (Lee et al. 2006).

Para mulheres com tumores hormono-dependentes a estimulação hormonal alternativa, com letrozole ou tamoxifeno, tem sido estudada para teoricamente reduzir o risco potencial de exposição estrogénica. Recidivas precoces de cancro da mama após estimulação ovárica utilizando letrozole ou tamoxifeno concomitantemente com administração de FSH, foram comparados com controlos não randomizados e não se verificaram evidências de aumento da recorrência de cancro nestes estudos iniciais. Contudo, é necessário *follow-up* a longo prazo e com um número maior de doentes para

avaliar a segurança e eficácia desta técnica. De referir ainda, que nem o letrozole nem o tamoxifeno devem ser dados a uma mulher com uma gravidez já estabelecida (Lee et al. 2006).

O tamoxifeno, com acções anti-estrogénicas a nível do tecido mamário, é uma parte importante da terapia adjuvante em tumores hormono-dependentes de estadió precoce. Foi originalmente desenvolvido como contraceptivo no Reino Unido, tendo-se verificado posteriormente que era um estimulante do crescimento folicular. Entretanto explorou-se a sua dupla acção; como agente antineoplásico, e estimulador ovárico. Demonstrou-se a segurança e eficácia na estimulação ovárica e FIV em doentes com cancro da mama. Apesar do tamoxifeno aumentar os níveis de estradiol, também bloqueia os efeitos dos níveis suprafisiológicos de estradiol no tecido mamário e inibe o crescimento de tumores mamários por antagonismo competitivo com os estrogénios nos seus receptores (Sonmezer and Oktay, 2006).

A aromatase é uma enzima do citocromo P450 que catalisa a reacção que converte androgénios em estrogénios, sendo um passo limitante na síntese deste. O letrozole é um potente e eficaz inibidor da aromatase de terceira geração, que inibe competitivamente a actividade da enzima. Assim, suprime significativamente o estradiol plasmático, a estrona e o sulfato de estrona para doses que variam entre 0,1-0,5 mg/dia, e tem uma semi-vida de aproximadamente 48 h. Dados recentes mostraram superioridade em comparação com o tamoxifeno, no tratamento de cancro da mama pós-menopáusico de estadió avançado. Recentemente os inibidores da aromatase sozinhos ou em combinação com gonadotropinas foram introduzidos como indutores da ovulação. Estudos iniciais em mulheres submetidas a estimulação ovárica com letrozole, apresentaram níveis estrogénicos iguais ou quase iguais aos observados em ciclos não estimulados. Um protocolo letrozole-FSH é preferido na maioria das doentes com cancro da mama submetidas a FIV para criopreservação de ovócitos ou embriões, porque resulta em níveis menores estradiol e a maior taxa de obtenção de ovócitos (Oktay and Sonmezer, 2007). O Letrozole parece reduzir a dose de gonadotropinas exógenas necessárias, e conseqüentemente o custo de tratamento de um ciclo de FIV. Isto é também importante nas doentes com resposta menor à estimulação folicular. Em doentes com cancros da mama dependentes de estrogénios, a adição de 5 mg/dia de letrozole às gonadotrofinas nos protocolos de estimulação ovárica, diminui significativamente os níveis de estradiol, sem afectar a qualidade dos ovócitos, as taxas

de fecundação e o número de embriões (Requena et al. 2008). Numa perspectiva de segurança relativamente a esta técnica, num estudo levado a cabo por Azim et al. (2008), 215 mulheres com cancro da mama foram prospectivamente avaliadas. Desta amostra, 79 foram submetidas a estimulação ovárica controlada com letrozole e gonadotrofinas para criopreservação de embriões e ovócitos. As restantes não foram submetidas a técnicas de preservação de fertilidade e serviram de controlo. Este estudo demonstrou que a taxa de sobrevivência livre de doença, num contexto de estimulação ovárica com gonadotrofinas e letrozole, não foi alterada depois de um *follow-up* médio de 2 anos. Como esperado, o período de atraso entre a cirurgia e o início da quimioterapia foi menor no grupo de controlo, contudo múltiplos estudos mostram que não existe efeito na sobrevivência quando este período é menor ou igual a 12 semanas e neste estudo foi esse o caso. Partridge (2008) lembra que este é um estudo não randomizado e lembra, aliás como o próprio autor, que é necessário um estudo maior, com um *follow-up* mais prolongado, para infirmar a absoluta segurança deste protocolo. Embora não haja uma relação clara entre a incidência do cancro da mama e os tratamentos de fertilidade, persistem alguns estudos que apontam em sentido contrário. Contudo, Azim et al. (2008) referem que esses dados são relativos a estimulação ovárica *standard* e que se a FIV *standard* aumenta o risco de cancro da mama na população infértil em geral. Assim é lógico assumir que estes poderão ter um impacto no curso do cancro em mulheres com cancro da mama activo. Brinton et al. (2004) conduziu um estudo retrospectivo entre mulheres avaliadas por infertilidade. As mulheres inférteis apresentavam um risco de cancro da mama superior em 30% relativamente à população em geral. Isto reflecte características da mulher infértil, particularmente a nuliparidade. O autor questiona se os fármacos usados nestas doentes no contexto da sua infertilidade, entre os quais também as gonadotropinas, desempenham algum papel nestes números. Os resultados que obteve foram em geral tranquilizantes, embora um discreto aumento do risco tenha sido observado após *follow-up* mais prolongado (20 anos) e com doses maiores. Este facto suporta também a necessidade de mais investigação dos efeitos a longo prazo destas drogas. O autor reflecte também sobre o carácter retrospectivo do seu estudo e as dificuldades verificadas na recuperação da informação, sendo que são necessários mais estudos e mais expandidos. Nas suas observações, 4 cancros da mama adicionais seriam observados por 1000 mulheres expostas. Jensen et al. (2007) desenvolveu um estudo com objectivos semelhantes e obteve resultados em concordância com o estudo anterior, não observando um aumento de risco significativo de cancro da mama associado à

administração de gonadotrofinas. Este risco revelou-se aumentado apenas em mulheres que permanecem núlparas, sendo contudo uma suposição baseada numa amostra não suficientemente significativa, segundo o próprio autor.

### **Criopreservação de ovócitos**

eticamente é menos problemática a criopreservação de ovócitos (Partridge and Ruddy, 2007). Este procedimento requer igualmente estimulação ovárica para que se obtenham ovócitos, e portanto sujeita-se às mesmas preocupações do método anterior. Esta técnica serve para doentes que não têm um parceiro masculino, ou se mostram objectoras de consciência por razões religiosas ou éticas à criopreservação de embriões (Dunn and Fox, 2009). É contudo mais problemática que a criopreservação de esperma ou embriões. As grandes dimensões da célula e o seu elevado conteúdo em água, implicam um tempo considerável para atingir a desidratação necessária para minimizar os riscos de formação de cristais intracelulares. Mais importante ainda, é o facto de se tratarem de ovócitos maduros em metáfase II, em que os cromossomas se dispõem no fuso mitótico, que é muito sensível a baixas temperaturas e aos agentes crioprotectores (Blumenfeld, 2003). O arrefecimento e a exposição a agentes crioprotectores pode afectar também o citoesqueleto e agravar a já alta incidência de aneuploidia em ovócitos humanos. A exposição a estes agentes causa ainda endurecimento da zona pelúcida, e de tal modo todos os protocolos de criopreservação de ovócitos envolvem uma injeção intra-citoplasmática de esperma (ICSI), como precaução. A fertilização tem de ser executada 3 a 5 horas depois do descongelamento, enquanto o ovócito permanece fértil. Uma metanálise recente sugere que as taxas de gravidez com esta técnica são cerca de um quarto das atingidas com embriões, embora avanços técnicos na criopreservação dos ovócitos se perspectivem (Duffy and Allen, 2009). A taxa de nados vivos por ovócito injectado é de aproximadamente 2% e menos de 1000 nascimentos foram obtidos através deste procedimento. O pouco sucesso até agora atingido na criopreservação de ovócitos maduros, volta também as atenções para a criopreservação de ovócitos imaturos (profase I). Os cromossomas não se encontram nesta situação dispostos no fuso, e encontram-se menos susceptíveis às lesões provocadas pelo arrefecimento. Como o método tradicional de arrefecimento lento é problemático, recentemente surgiu interesse no processo da vitrificação, com alguns resultados encorajadores. A vitrificação induz uma solidificação semelhante a vidro sem a formação intracelular de gelo (Blumenfeld, 2003).

A *American Society for Reproductive Medicine* recomenda que este método seja para já utilizado em investigação (Dunn and Fox, 2009).

### **Criopreservação de córtex ovárico**

A criopreservação de córtex ovárico abre novas perspectivas. O tecido ovárico pode ser facilmente extraído por laparoscopia, sem qualquer atraso significativo na execução das terapêuticas gonadotóxicas. O tecido pode ser criopreservado em centros especializados em medicina reprodutiva e transplantado em caso de falência ovárica precoce (Wolff et al. 2008). O córtex ovárico tem abundância de folículos primordiais, com ovócitos em profase I. Estes folículos parecem ser menos vulneráveis a lesões provocadas pelo congelamento e descongelamento que os ovócitos maduros, por causa da elevada superfície comparativamente ao volume, da sua baixa taxa metabólica e ausência de zona pelúcida (Dunn and Fox, 2009). Ainda é um método experimental, mas tem a vantagem de não requerer nem um dador de esperma nem estimulação ovárica (Lee et al. 2006). É a única opção viável para jovens pré-púberes e mulheres que não podem atrasar o início da quimioterapia (Gurgan et al. 2008). O benefício em mulheres com mais de 40 anos de idade é incerto, por causa da reduzida quantidade de folículos primordiais. Os folículos primordiais podem ser eficazmente criopreservados, mas devido à isquémia inicial que pode surgir depois da transplantação, mais de um quarto destes folículos pode ser perdido (Lee et al. 2006). Pela minimização da isquémia, a medula ovárica é o local mais apropriado para a transplantação (ortotópica), porque a artéria ovárica assegura a manutenção do aporte sanguíneo. A medula também desempenha um importante papel no desenvolvimento folicular e génese de esteróides (Sánchez et al. 2008). Pode ser extraído cerca de 50% de um ovário, removendo um bloco de tecido cortical, ou 5 a 10 biópsias corticais. Alternativamente poderá ser removido um ovário inteiro, em situações como é o exemplo da irradiação pélvica, ou utilização de altas doses de quimioterapia, procedimentos que impõem um alto risco de destruição ovárica.

Passada a fase da criopreservação, existem dois tipos de transplantação: ortotópica e heterotópica. No primeiro caso, o tecido é transplantado para o ovário restante, ou para uma bolsa peritoneal no peritoneu pélvico da fossa ovárica. Em muitos casos a transplantação para os ovários é o método preferido, uma vez que possibilita concepção natural. Nos outros casos é necessário recorrer a FIV, uma vez que o transporte dos

ovócitos/embriões via trompas para a cavidade uterina não é possível. Na transplantação heterotópica, fragmentos do córtex ovárico são transplantados para qualquer outra parte do corpo, como espaço subcutâneo do antebraço ou da parede abdominal. A técnica ortotópica é preferida por possibilitar a concepção natural, contudo a outra pode estar indicada quando a pélvis não se adequa à transplantação, devido a irradiação precedente ou presença de aderências (Wolff et al. 2008). O menor tempo para recuperação da função ovárica varia de 8 semanas a 8 meses, independentemente da exposição prévia a quimioterapia (Sánchez et al. 2008). Além das dificuldades mencionadas relativamente às lesões isquémicas pela falta de aporte sanguíneo durante o descongelamento e transferência do tecido, surge ainda a curta viabilidade do transplante. Foi provado que a função endócrina pode ser mantida durante 9 meses a 3 anos após a re-implantação (Dunn and Fox, 2009). Os riscos da técnica incluem a reimplantação do tumor primitivo, transformação maligna e riscos relacionados com o carácter invasivo do procedimento (Maltaris et al. 2008). O risco de re-implantação de células cancerosas com a transplantação do tecido congelado impõe cuidados, embora o risco de envolvimento oculto do ovário em cancro da mama em estádios precoces seja raro. Mais preocupante é a situação de mulheres com mutação BRCA, que apresentam maior risco de cancro ovárico (Schattman and Navarro, 2008). Como já foi mencionado trata-se de uma situação rara, principalmente não havendo metástases sistémicas e se o exame pélvico e ecografia estiverem normais. Contudo, anteriormente à transplantação é razoável encorajar uma avaliação histológica do tecido ovárico. Mesmo que se encontrem metástases, na sua maioria são do subtipo lobular invasivo, que representam cerca de 15% de todos os cancros da mama e ocorrem na sua maioria em mulheres pós-menopáusicas, que não estão preocupadas com a preservação da fertilidade (Dunn and Fox, 2009).

*Wolff et al.* (2009), envolvidos em grandes programas de preservação de fertilidade, fazem algumas recomendações relativas à técnica:

- oferecer a técnica a doentes com alto risco de falência ovárica precoce (> 30-50%) por quimioterapia e com baixo risco de metástases ováricas;
- idade máxima das doentes: 35-38 anos: realizar ecografias, doseamento de FSH, inibina-B, HAM, para avaliar a função ovárica restante;
- utilização: linfoma Hodgkin, sarcoma, cancro da mama;

- utilização quando aplicadas terapias gonadotóxicas: como regimes quimioterapêuticos envolvendo agentes alquilantes como a ciclofosfamida.

Um total de 12 nascimentos, fruto desta técnica, estão relatados na literatura (Duffy and Allen, 2009).

### **Análogos GnRH na preservação da fertilidade**

O tratamento ideal para preservar a fertilidade em doentes com cancro seria um medicamento que pudesse ser facilmente administrado por via oral ou através de injeções subcutâneas (Blumenfeld and Wolff, 2008)

Os primeiros estudos, animais, com a utilização de agonistas GnRH para supressão e consequente protecção ovárica durante a quimioterapia eram bastante animadores. Admite-se que a inibição do processo de recrutamento do *pool* de folículos primordiais para folículos maiores que se desenvolvem e posteriormente sofrem atresia, vai evitar que os folículos atinjam os estadios quimio-sensíveis (Revel and Laufer, 2002). Contudo, a incerteza e mesmo o ceticismo permaneceram relativamente à sua aplicação em humanos. Argumentou-se que o ovário humano tem menores concentrações de receptores GnRH e pode não exibir necessariamente a mesma resposta que a observada em ratos (Blumenfeld and Wolff, 2008). Existem outras explicações possíveis para este suposto benefício, como é o caso da diminuição da perfusão útero-ovárica resultante do estado de hipoestrogenismo, ou a possível ligação aos receptores de GnRH diminuir a apoptose celular, independentemente do estado hipogonadotrófico (Blumenfeld and Wolff, 2008).

Alguns estudos com pequenas amostras sugeriram que mulheres submetidas supressão ovárica durante a quimioterapia, teriam menor falência ovárica. Contudo, outros estudos não mostraram este achado. Agonistas e antagonistas de GnRH são usados para conseguir supressão ovárica, resultando em castração química. Ainda não existem estudos prospectivos randomizados com dimensão suficiente para provar se esta supressão ovárica é protectora e esta preocupação não pode apenas ser delegada no que concerne à protecção ovárica (Duffy and Allen, 2009).

Entre vários autores que também o fizeram embora menos exaustivamente, *Oktay et al.* (2007) debruçou-se sobre plausibilidade biológica da utilização de agonistas GnRH

para protecção ovárica, ventilando-se os mais importantes tópicos dessa discussão. No ovário adulto, mais de 90% da reserva ovárica é feita de folículos primordiais no estado de repouso (oócito em profase I). Embora o mecanismo de iniciação do crescimento folicular seja desconhecido, é um processo independente de FSH; os receptores de FSH não são expressos até se iniciar o crescimento e atingirem estádios com múltiplas camadas. Como o principal efeito dos análogos GnRH é suprimir a secreção hipofisária de gonadotrofinas, não é plausível que o presumível efeito protector dos análogos GnRH seja gonadotrofina-dependente. Além deste facto, supressão ovárica profunda pode levar várias semanas a atingir e não é provável que estes níveis sejam atingidos no pouco tempo disponível antes da iniciação da quimioterapia. A semi-vida da GnRH é de apenas 2 a 4 minutos, por causa da rápida clivagem das ligações entre os aminoácidos 5/6, 6/7 e 9/10; os análogos agonistas GnRH são produzidos pela substituição dos aminoácidos da posição 6 ou do terminal C. Isto vai resultar numa acção mantida dos mesmos, que acabará por causar uma sub-regulação dos receptores de GnRH, depois de um pico inicial com aumento de gonadotrofinas e estimulação ovárica. Depois deste pico inicial, os agonistas GnRH produzem um estado hipogonadal após 1 a 3 semanas de administração. Os folículos primordiais continuam a iniciar o crescimento em estados hipogonadais como a puberdade ou a gravidez. Como a GnRH cria um estado hormonal semelhante ao estado pré-puberdade, e como as crianças pré-púberes não estão protegidas contra a toxicidade gonadal da quimioterapia, o hipogonadismo não pode ser considerado um meio de preservação da fertilidade. Adicionalmente, vários autores entre os quais *Stricker* (2007), lembram que os agentes alquilantes não são específicos do ciclo celular e mesmo que se assuma que os folículos primordiais respondam às gonadotrofinas, os agentes alquilantes podem igualmente lesar os folículos em repouso.

*Klapouszczak et al.* (2006) refere um estudo que revelou existir falência ovárica em 61% de mulheres submetidas quimioterapia, contra apenas 6% nas doentes medicadas concomitantemente com análogos GnRH. *Del Mastro et al.* (2006) refere também que vários estudos de fase II avaliaram o papel de análogos GnRH em doentes jovens com cancro da mama. A recuperação da função ovárica, geralmente avaliada pela actividade menstrual ou doseamentos hormonais, foi observada numa proporção de doentes que varia entre 67 e 96%. A falta de avaliação da reserva ovárica nestes estudos, não

permite que se preveja a função ovárica a longo prazo, nem o potencial de fertilidade destas mulheres que parecem beneficiar com estes tratamentos.

*Oktay et al.* (2007) descreve os estudos mais consideráveis até à data, apontando fragilidades relativas ao seu poder conclusivo. Alguns destes estudos provaram, na sua perspectiva, a indubitável a eficácia dos análogos GnRH. Por exemplo *Recchia et al.* num estudo com 100 doentes medicadas com regimes baseados em ciclofosfamida, provou que a função ovárica foi protegida em 100% das doentes com menos de 40 anos e em 56% das doentes com mais de 40 anos, negando ainda qualquer tipo de influência sobre o prognóstico destas mulheres. Contudo, a menstruação foi, mais uma vez, utilizada como indicador da função ovárica e não foi utilizado grupo de controlo. *Del mastro et al.* num estudo mais pequeno com 29 doentes medicadas com 6 ciclos de FEC e análogos GnRH, também apresentou uma taxa de sucesso de 97%. Contudo, além de também não haver grupo de controlo neste estudo e do tempo de *follow-up* destas doentes ter sido extremamente reduzido para avaliar impactos na fertilidade, a definição de sucesso foi baseada no retorno das menstruações ao fim de 12 meses ou níveis de FSH inferiores a 40 IU/l. Teria sido mais interessante saber se estas doentes que apresentavam níveis de FSH inferiores a 40 IU/l, apresentavam também valores de FSH inferiores a 12 IU/L que representam fertilidade particularmente comprometida. *Oktay et al.* (2007) descreve ainda outros estudos e sucessivamente apresenta as suas fragilidades; falta de randomização, falta de comparabilidade/homogeneidade entre os grupos de estudo e grupos de controlo, que não são correlacionados com estudos menstruais e perfis hormonais antes da quimioterapia, fraca análise estatística e diferenças nos tempos de *follow-up* que contribuem para desigualdades e comparações erróneas. A maioria dos estudos prévios usaram grupos de controlo retrospectivamente seleccionados, considerando-se doentes tratados com regimes semelhantes, do histórico de bases de dados com tempos de *follow-up* diferentes, e não sendo claro se as doses cumulativas de ciclofosfamida são semelhantes entre tratados e não tratados com os análogos GnRH. Entre outros estudos que concluem menos favoravelmente a estes agentes, o único estudo prospectivo, randomizado (waxman et al.) falhou em provar a eficácia dos análogos GnRH na preservação da fertilidade. Esses autores concluíram que este agente não confere protecção gonadal em homens ou mulheres em doses clinicamente aceitáveis. Noutros estudos a supressão pareceu ter protegido contra perda aguda de folículos ováricos, mas estes folículos eram anormais em análises

ultraestruturais e foram eventualmente perdidos, resultando também em falência ovárica. Nesta analogia, é provável que os análogos GnRH possam apenas atrasar o inevitável, isto é, a morte de folículos lesados, lentificando o seu desenvolvimento. *Beck-Frutcher et al.* (2008) reviram igualmente a literatura existente até à data. Doze estudos preencheram os critérios mínimos exigidos pelo autor, alguns deles coincidindo com os de *Oktay et al.* Da avaliação global destes estudos, sumariza-se que em 345 mulheres às quais foram administrados análogos GnRH concomitantemente com a quimioterapia, a função ovárica revelou-se protegida em 91% dos casos, contra os 41% das 234 mulheres dos controlos a quem não foram administrados análogos. Partindo destes números, é tentador, mais uma vez, arriscar conclusões relativas à eficácia deste método de preservação da fertilidade. Contudo, apesar destes resultados promissores, *Beck-Frutcher et al.* enumeram as várias falhas dos estudos, na sua maioria sobreponíveis às enunciadas por *Oktay et al.*, que a seu ver impossibilitam conclusões definitivas. A sua pesquisa na literatura demonstrou que não existem ensaios prospetivos, randomizados e controlados que provem efeitos significativos com a utilização dos agonistas GnRH. De todos os estudos encontrados, apenas 2 eram randomizados, e estes eram demasiado pequenos para conclusões seguras. *Beck-Frutcher e et al.* referem ainda que as suas conclusões relativas à falta de prova científica da eficácia dos agonistas GnRH, estão de acordo com as de *Moore e Theriault* (2007).

Um estudo observacional recente mostrou que apesar das mais baixas taxas de amenorreia nos grupos tratados com os análogos, os marcadores de reserva ovárica (hormona anti-mulleriana, contagem de folículos antrais, FSH e inibinaB) não eram diferentes dos controlos. É necessário recordar que a amenorreia é o último passo no processo da falência ovárica (Sonmezer et al. 2008).

*Blumenfeld* (2003) refere alguns estudos, incluindo 2 em doentes com cancro da mama, com amostras de 13 e de 64 mulheres, que sugerem que este é um procedimento promissor na preservação da fertilidade. Contudo algumas das críticas referidas anteriormente podem ser repetidas. *Blumenfeld* contra-argumenta com dois estudos publicados no *New England Journal of Medicine*, que mostram que estudos observacionais reportam resultados semelhantes a ensaios controlados randomizados; os resultados de estudos observacionais bem desenhados não sobrestimam sistematicamente os efeitos dos tratamentos.

Os agonistas GnRH são também caros, causam sintomas menopáusicos graves, e a longo prazo podem associar-se a perdas de densidade óssea irreversíveis (Langmár et al. 2009). Foram encontrados receptores GnRH em várias linhas celulares tumorais. Um possível efeito na progressão da doença neoplásica ainda não foi estudado (Beck-Frutcher et al. 2008) Uma variedade de cancros humanos, incluindo mama, ovário e endométrio, expressam receptores GnRH. Estes receptores são mediadores de alguns efeitos, como por exemplo inibição da proliferação, indução de paragem do ciclo celular e inibição da apoptose, induzidos por exemplo por drogas citotóxicas. Logo, não pode ser excluído que a terapia com GnRH concomitante com a terapia citotóxica possa reduzir a eficácia da quimioterapia no cancro da mama. Em adição, para o tratamento adjuvante de tumores hormonodependentes, uma sequência de quimioterapia seguida de manipulação endócrina é geralmente o recomendado (Oktay et al. 2007). *Blumenfeld and Wolff* (2008) lembram que as publicações do grupo de *Recchia e de Del Mastro* revelaram não haver uma diminuição da sobrevivência das doentes medicadas com estes fármacos.

*Oktay et al.* (2007) chama ainda a atenção para um aspecto que é de imensa importância na análise da maioria dos estudos: há que ter presente que doentes que querem usar análogos GnRH estão motivadas para procriar. Quando são correspondidas retrospectivamente com aquelas que provavelmente não expressaram interesses na preservação da fertilidade, muito provavelmente serão obtidos resultados enviesados a estimar as taxas de gravidez subsequentes.

Os antagonistas GnRH suprimem os níveis de gonadotrofinas imediatamente após administração. Estudos futuros podem ainda investigar os antagonistas GnRH, em substituição ou em combinação com os agonistas GnRH, para que se atinja uma dessensibilização hipófise/ovário mais rapidamente, eliminando o período de espera de 7-14 dias para de atingir a sub-regulação. Contudo ainda não há evidências que suportem este método (*Blumenfeld and Wolff*, 2008).

Segundo as Recomendações da *American Society of Clinical Oncology* para Preservação da Fertilidade em Doentes com Cancro, como as evidências são insuficientes para assegurar a eficácia e segurança dos análogos GnRH, bem como dos meios de supressão ovárica na preservação da fertilidade feminina, as mulheres interessadas devem ser encorajadas a participar em ensaios científicos (*Lee et al.* 2006).

É necessário que um estudo com uma amostra considerável, bem desenhado, prospectivo e randomizado, com longo tempo de *follow-up*, venha estabelecer conclusões definitivas (Beck-Frutcher et al. 2008). Contudo, segundo *Wildiers et al.* (2006), os estudos que correntemente estão a ser desenvolvidos não vão dar respostas à questão da segurança, encontrando-se focados nas questões da eficácia.

### **Reflexões**

As alterações do tratamento ou intervenções com objectivos na preservação da fertilidade podem ser apropriados em algumas mulheres com cancro da mama. Para outras, pode ser preferível evitar um risco potencial e modificar as expectativas no que concerne a uma futura gravidez (Partridge, 2008).

Estudos revelam que mulheres jovens desejam estar mais informadas relativamente às consequências da quimioterapia na sua fertilidade e às possibilidades de preservarem depois da cura de um cancro da mama (Liebens e tal, 2008). *Lee et al.* (2006) refere que segundo estudos recentes, metade dos sobreviventes de um cancro, não tem memória de discussão de questões relativas à fertilidade.

Segundo *Oktay* (2005), talvez, todas as pessoas em formação em oncologia, que planeiam lidar em adultos jovens com cancro, devam receber treino básico em questões relativas à preservação da fertilidade.

*Partridge et al.* mostraram que preocupações relativas à fertilidade afectaram as escolhas do tratamento em 28% da sua amostra em jovens sobreviventes de cancro da mama (Duffy and Allen, 2009).

## Conclusões

Os métodos mais precisos para avaliação da função ovárica como são os doseamentos hormonais (FSH, estradiol, inibina B, HAM) e estudos ecográficos, são também mais dispendiosos e laboriosos, nem sempre exequíveis em estudos com grandes amostras, que não podem contudo ser negligenciados sob pena de se perder muita informação. Devem ser considerados como mais um indicador que suporta as evidências. Estas apontam para a ciclofosfamida como o mais tóxico destes agentes, estando esta toxicidade directamente relacionada com a sua dose cumulativa. A incidência de amenorreia nos regimes baseados em antraciclinas é muito variável, sendo a idade um protagonista decisivo, bem como as associações com os outros citostáticos que parecem potenciar os seus efeitos. O efeito dos taxanos na função ovárica é um assunto controverso. A maioria dos trabalhos posiciona-os numa situação de risco de amenorreia intermédio. O metotrexato e o 5-fluorouracilo parecem não afectar de modo significativo a reserva ovárica. A hormonoterapia não se associa a toxicidade ovárica significativa, mas se prolongada por um longo período de tempo pode revelar-se prejudicial.

Muitas mulheres continuam a desejar uma gravidez depois de um cancro da mama. Os efeitos da gravidez no prognóstico da doença ainda não foram prospectivamente estudados, sendo que existem actualmente muitos estudos tranquilizadores. A ciência tem trazido algum colorido às opções disponíveis para preservação da fertilidade. A criopreservação de embriões é a única técnica estabelecida. Tal como a criopreservação de ovócitos, requer estimulação ovárica sujeitando-se a algumas preocupações relativas aos altos níveis de estrogénios séricos resultantes da técnica tradicional com FSH. A utilização concomitante de tamoxifeno ou letrozole tem sido estudada. Um protocolo letrozole-FSH é geralmente preferido, resultando em níveis menores de estradiol e numa maior taxa de obtenção de ovócitos. Estes métodos parecem ser seguros, contudo, é necessário que um estudo prospectivo com uma amostra e tempo de follow-up maiores o confirmem. Relativamente à utilização de análogos GnRH, existem argumentos válidos que desafiam a plausibilidade biológica da eficácia destes agentes. Adicionalmente, não se sabe exactamente qual poderá ser o seu efeito na progressão da doença. Na verdade, a maioria dos estudos prova a eficácia e segurança destes agentes, mas a comunidade científica mantêm-se muito crítica relativamente à maneira como a maioria destes estudos são desenhados. Depositam-se esperanças em estudos futuros,

mas deve entretanto ser invocada a responsabilidade ética na aplicação de técnicas que não estão absolutamente provadas.

### **Bibliografia**

- 1) Anderson RA, Cameron DA (2007) Assessment of the Effect of Chemotherapy on Ovarian Function in Women with Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 25:1630-1632.
- 2) Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K (2008) Safety of Fertility Preservation by Ovarian Stimulation With Letrozole and Gonadotropins in Patients With Breast Cancer: A Prospective Controlled Study. *Journal of Clinical Oncology* 26:2630-2635.
- 3) Beck-Fruchter R, Weiss A, Shalev E (2008) GnRH agonist therapy as ovarian protectants in female patients undergoing chemotherapy: a review of the clinical data. *Human Reproduction Update* 14:553-561.
- 4) Bines J, Oleske DM, Cobleigh A (1996) Ovarian Function in Premenopausal Women Treated With Adjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 14:1718-1729.
- 5) Blumenfeld Z (2003) Gynaecologic concerns for women exposed to gonadotoxic chemotherapy. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 15:359-370.
- 6) Blumenfeld Z, Wolff M (2008) GnRH-analogues and oral contraceptives for fertility preservation in women during chemotherapy. *Human Reproduction Update* 1-10.
- 7) Brinton LA, Scoccia B, Moghissi KS, Westhoff CL, Althuis MD, Mabie JE, Lamb EJ (2004) Breast Cancer risk associated with ovulation stimulating drugs. *Human Reproduction* 1-9.
- 8) Chabbert-Buffet N, Uzan C, Gligorov J, Delalogue S, Rouzier R, Uzan S (2009) Pregnancy after breast cancer: A need for global patient care, starting before adjuvant therapy. *Surgical Oncology* 20:1-9.
- 9) Chasle S, How CC (2003) The effect of cytotoxic chemotherapy on female fertility. *European Journal of Oncology Nursing* 7:91-98.
- 10) Cosimo SD, Alimonti A, Ferretti G, Sperduti I, Carlini P, Papaldo P, Fabi A, Gelibter A, Ciccarese M, Giannarelli D, Mandala M, Milella M, Ruggeri EM, Cognetti F (1990) Incidence of chemotherapy-induced amenorrhea depending on the timing of treatment by menstrual cycle phase in women with early breast cancer. *Annals of Oncology* 15:1065-1071.

- 11) Davis M (2005) Fertility Considerations for Female Adolescent and Young Adult Patients Following Cancer Therapy: A Guide for Counseling Patients and Their Families. *Clinical Journal of Oncology Nursing* 10:213-219.
- 12) Duffy C, Allen S (2009) Medical and Psychosocial Aspects of Fertility After Cancer. *The Cancer Journal* 15:27-33.
- 13) Dunn L, Fox K R (2009) Techniques for fertility preservation in patients with breast cancer. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 21:68-73.
- 14) Fossa S D, Dahl A A (2008) Fertility and Sexuality in Young Cancer Survivors Who Have Adult-Onset Malignancies. *Hematology Oncology Clinics* 22:291-303.
- 15) Ganz PA, Greendale GA, Petersen L, Kahn B, Bower JE (2003) Breast Cancer in Young Women: Reproductive and Late Health Effects of Treatment. *Journal of Clinical Oncology* 21:4184-4193.
- 16) Gerber B, Dieterich M, Muller H (2007) Controversies in preservation of ovary function and fertility in patients with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 108:1-7.
- 17) Goldhirsh A, Gelber RD, Castiglione M (1990) The magnitude of endocrine effects of adjuvant chemotherapy for premenopausal breast cancer patients. *Annals of Oncology* 1:183-188.
- 18) Gurgan T, Salman C, Demiroglu A (2008) Pregnancy and Assisted Reproduction Techniques in Men and Women after treatment. *Placenta* 29:152-159.
- 19) Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ, Sutton PD, Menacker F (2004) Births: Preliminary Data from 2003. *National Vital Statistics Reports* 54:1-17.
- 20) Hensley M, Reichman BS (1998) Fertility and pregnancy after adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 28:121-128.
- 21) Hickey M, Peate M, Saunders CM, Friedlander M (2009) Breast Cancer in young women and its impact on reproductive function. *Human Reproduction Update* 15:323-339.
- 22) Jensen A, Sharif H, Svare EI, Frederiksen K, Kjaer SK (2007) Risk of Breast Cancer After Exposure to Fertility Drugs: Results from a Large Danish Cohort Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 16:1400-1407.
- 23) Jones AL (2006) Fertility and pregnancy after breast cancer. *The Breast* 25:41-46.
- 24) Klapouszczak D, Bertozzi-Salamon A, Grandjean H, Arnaud C (2006) La fertilité des adolescents atteints d'un cancer. *Bull Cancer* 94:636-646.

- 25) Knobf MT (2006) The Influence of Endocrine Effects of Adjuvant Therapy on Quality of Life Outcomes in Younger Breast Cancer Survivors. *The Oncologist* 11:96-110.
- 26) Langmár Z, Iványi k, Bánhidý F, Torgík L, Dank M (2009) Procedures in Fertility Preservation in Female Cancer Patients. *Clinical and Experimental Medical Journal* 3:15-24.
- 27) Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, Beck LN, Brennan LV, Oktay K (2006) American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients. *Journal of Clinical Oncology* 24:2917-2931.
- 28) Liebens F, Carly B, Pastijn A, Fastrez M, Vandromme J (2008) Desire for a Child and Breast Cancer. *Acta Chirurgica Belgica* 108:83-87.
- 29) Maltaris T, Boehm D, Dittrich R, Seufert R, Koelbl H (2006) Reproduction beyond cancer: A message of hope for young women. *Gynecologic Oncology* 103:1109-1121.
- 30) Maltaris T, Weigel M, Mueller A, Schmidt M, Seufert R, Fischl F, Koelbl H, Dittrich (2008) Cancer and fertility preservation: fertility preservation in breast cancer patients. *Breast Cancer Research* 2008, 10:206-17.
- 31) Mastro LD, Catzeddu T, Venturini M (2006) Infertility and pregnancy after breast cancer: Current Knowledge and future perspectives. *Cancer Treatment Reviews* 32:417-422.
- 32) Mathelin C, Brettes JP, Diemunsch P (2007) Insuffisance Ovarienne après chimiothérapie pour cancer mammaire. *Bull Cancer* 95: 403-12.
- 33) Meiorow D (2000) Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Molecular and Cellular Endocrinology* 169:123-131.
- 34) Meiorow D, Nugent D (2001) The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Human Reproduction Update* 7:535-543.
- 35) Mignot L (2000) Désir d'enfant après un cancer du sein. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 28:547-51.
- 36) Mispelaere B, Van de Werf E, D'Hooghe T, Dieudonné AS (2009) Reproduction Rates after Cytotoxic Therapy. *Journal of Clinical Oncology* 27:118-119.
- 37) Oktay K (2005) Further Evidence on the Safety and Success of Ovarian Stimulation With Letrozole and Tamoxifen in Breast Cancer Patients Undergoing In Vitro Fertilization to Cryopreserve Their Embryos for Fertility Preservation (2005) *Journal of Clinical Oncology* 3858-3859.

- 38) Oktay K, Oktem O, Reh A, Vahdat L (2006) Measuring the Impact of Chemotherapy on Fertility in Women With Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 24:4044-4046.
- 39) Oktay K, Sonmezer M, Oktem O, Fox K, Emons G, Bang H (2007) Absence of Conclusive Evidence for the Safety and Efficacy of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue Treatment in Protecting Against Chemotherapy-Induced Gonadal Injury. *The Oncologist* 12:1055-1066.
- 40) Oktay K, Sonmezer M (2007) Fertility Preservation in gynecologic cancers. *Current Opinion in Oncology* 19:506-511.
- 41) Partridge AH, Ruddy KJ (2007) Fertility and Adjuvant Treatment in young women with breast cancer. *The Breast* 16: 175-181.
- 42) Partridge AH (2008) Fertility Preservation: A Vital Survivorship Issue for Young Women With Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 26:2612-2613
- 43) Patel A, Screedevi M, Malapati R, Sutaria R, Schoenhage MB, Patel AR, Radeke EK, Zaren HA (2009) Reproductive health assessment for women with cancer: a pilot study. *American Journal of Obstetrics Gynecology* 201:191-194.
- 44) Petrek JA, Naughton MJ, Case LD, Paskett ED, Naftalis EZ, Singletary SE, Sukumvanich P (2006) Incidence, Time Course, and Determinants of Menstrual Bleeding After Breast Cancer Treatment: A Prospective Study. *Journal of Clinical Oncology* 24:1045-1051.
- 45) Pritchard KI (2007) Adjuvant therapy of the very young women. *The Breast* 16: 136-146
- 46) Reichman B, Green KB (1994) Breast Cancer in Young Women : Effect of Chemotherapy on Ovarian Function, Fertility, and Birth Defects. *Monogr. National Cancer Institute* 16:125-129.
- 47) Requena A, Herrero J, Landeras J, Navarro E, Neyro JL, Salvador C, Tur R, Callejo J, Checa MA, Farré M, Espinós JJ, Fábregues F, Grãna-Barcia (2008) Use of letrozole in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 14:571-582.
- 48) Revel A, Laufer N (2002) Protecting female fertility from cancer therapy. *Molecular and Cellular Endocrinology* 187:83-91.
- 49) Rippey EE, Karat IF, Kissin MW (2009) Pregnancy after breast cancer: The importance of active counselling and planning. *The Breast* 28:345-350.
- 50) Sánchez M, Novella-Maestre E, Teruel J, Ortiz E, Pellicer A (2008) The Valencia Programme for Fertility Preservation. *Clinical and Translational Oncology* 10:433-438.

- 51) Schattman GL, Navarro J (2008) Breast Cancer and Fertility Preservation. *Placenta* 29: 147-151.
- 52) Shannon C, Smith IE (2003) Breast Cancer in adolescents and young women. *European Journal of Cancer* 39:2632-2642.
- 53) Singh KL, Davies M, Chatterjee R (2004) Fertility in female cancer survivors: pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. *Human Reproduction Update* 11:69-89.
- 54) Sonmezer M, Oktay K (2006) Fertility Preservation in Young Women Undergoing Breast Cancer Therapy. *The Oncologist* 11: 422-434.
- 55) Sonmezer M, Bang H, Oktay K (2008) Can GnRH Analogues Preserve Gonadal Function Without Preserving Fertility. *The Oncologist* 13:615-617 .
- 56) Stearns v, Schneider B, Henry B, Henry NL, Hayes DF, Flockhart DA (2006) Breast Cancer treatment and ovarian failure: risk factors and emerging genetic determinants. *Nature* 6:886-893.
- 57) Stricker CT (2007) Endocrine Effects of Breast Cancer Treatment. *Seminars in Oncology Nursing* 23:55-70.
- 58) This P (2008) Breast cancer and fertility: critical review, considerations and perspectives. *Bull Cancer* 95:17-25.
- 59) Tomao F, Miele E, Spinelli GP, Tomao S (2006) Anticancer Treatment and Fertility Effects, Literature Review. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 25:475-481.
- 60) Wildiers H, Neven P, Amant F, D'hooghe T, Paridaens R (2006) Fertility Preservation in (Breast) Cancer Patients: Is it Safe?. *Journal of Clinical Oncology* 5335-5336.
- 61) Wolff M, Donnez J, Hovatta O, Keros V, Maltaris T, Montag M, Salle B, Sonmezer M, Andersen CY (2008) Cryopreservation and autotransplantation of human ovarian tissue prior to cytotoxic therapy- A technique in its infancy but already successful in fertility preservation. *European Journal of Cancer* 45:1547-1553.
- 62) Yap JKW, Davies M (2007) Fertility Preservation in female cancer survivors. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 27:390-400.