



UNIVERSIDADE DE  
**COIMBRA**

FACULDADE  
DE  
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

MARGARIDA DAS NEVES MACIEL DA SILVA

***AVALIAÇÃO DA RESERVA OVÁRICA NUMA POPULAÇÃO DE  
MULHERES PORTADORAS DE MUTAÇÕES BRCA***

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA DA REPRODUÇÃO

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA ANA TERESA MOREIRA DE ALMEIDA SANTOS

DRA ANA FILIPA RODRIGUES FERREIRA

MAIO 2020

**Faculdade de Medicina da Universidade de  
Coimbra**

***AVALIAÇÃO DA RESERVA OVÁRICA NUMA  
POPULAÇÃO DE MULHERES PORTADORAS DE  
MUTAÇÕES BRCA***

Margarida das Neves Maciel da Silva<sup>1</sup>

Ana Filipa Rodrigues Ferreira<sup>1,2</sup>

Ana Teresa Moreira de Almeida Santos <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

<sup>2</sup>Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Morada institucional:

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra - Serviço de Medicina da Reprodução. Edifício  
de São Jerónimo, Praceta Professor Mota Pinto - 3000-075 Coimbra

Endereço eletrónico: [almeidasantos@med.uc.pt](mailto:almeidasantos@med.uc.pt)

## Índice

Índice de Figuras e Tabelas .....	3
Abreviaturas .....	4
Resumo.....	5
Abstract.....	6
Introdução .....	7
Materiais e Métodos .....	9
População em estudo .....	9
Identificação da Mutação BRCA .....	9
Recolha dos dados .....	10
Variáveis do estudo .....	10
Análise.....	11
Resultados .....	12
Discussão.....	18
Conclusão .....	22
Agradecimentos .....	23
Referências Bibliográficas .....	24
Anexos .....	28
Anexo I   Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do CHUC (CHUC-079-19).....	28

## Índice de Figuras e Tabelas

### Figuras

FIGURA 1   Antecedentes Obstétricos da população em estudo.....	12
FIGURA 2   Motivo de Referenciação das doentes ao Serviço de Medicina da reprodução. ....	14
FIGURA 3   Valores séricos de HAM em relação a valores específicos para a idade.....	15
FIGURA 4   Contagem de Folículos Antrais. ....	15
FIGURA 5   Número de ovócitos obtidos após estimulação ovárica. ....	16
FIGURA 6   Classificação dos ovócitos obtidos após estimulação ovárica. ....	16

### Tabelas

TABELA 1   Indicações para testes genéticos para genes BRCA1 e BRCA2. ....	9
TABELA 2   Caracterização das mutações.....	12
TABELA 3   Informação clínica da população em estudo. ....	13
TABELA 4   Dados laboratoriais da população em estudo. ....	14
TABELA 5   Dados laboratoriais de referência e seguimento. ....	17

## Abreviaturas

AE	Aborto espontâneo
AMH	Anti-Mullerian Hormone – Hormona Anti-Mulleriana
AT	Atrésicos
<i>BRCA</i>	Breast cancer susceptibility gene
C.	Cancro
CFA	Contagem de Folículos Antrais
CHUC	Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra
CP	Criopreservados
DEG	Degenerados
DGPI	Diagnóstico Genético Pré-Implantação
E2	Estradiol
EO	Estimulação Ovária
FSH	Follicle Stimulating Hormone – Hormona Estimuladora de Folículos
HAM	Hormona Anti-Mülleriana
HUC	Hospitais da Universidade de Coimbra
L.	Linhagem
MI	Metáfase I
MII	Metáfase II
PE	Parto eutócico
PF	Preservação da fertilidade
QTA	Quimioterapia adjuvante
QTNA	Quimioterapia neoadjuvante
RT	Radioterapia
VG	Vesícula Germinativa
VSD	Variante de Significado Desconhecido

## Resumo

**Introdução:** As mutações nos genes *BRCA* estão associadas a uma maior predisposição para o desenvolvimento de cancro da mama e ovário. Tem sido sugerido que portadoras destas mutações podem apresentar uma reserva ovárica diminuída. Contudo, os resultados de diversos estudos são inconsistentes. O objetivo deste estudo foi avaliar a reserva ovárica e a resposta à estimulação ovárica controlada em mulheres jovens portadoras da mutação *BRCA1* ou *BRCA2*, referenciadas para aconselhamento ou preservação da fertilidade.

**Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo através da análise dos processos clínicos de 10 doentes com diagnóstico de mutação *BRCA*, referenciadas ao Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC). Foi realizada uma análise descritiva dos dados clínicos e demográficos, da reserva ovárica e da resposta à estimulação ovárica. A reserva ovárica foi determinada de acordo com os níveis de hormona anti mülleriana (HAM), da hormona estimuladora de folículos (FSH) e a contagem de folículos antrais (CFA).

**Resultados:** Foram estudadas 10 mulheres, oito portadoras da mutação *BRCA1*, e duas da mutação *BRCA2*. Duas mulheres (25%) tiveram níveis séricos de HAM inferiores ao percentil 5 quando comparados com valores específicos para a idade, ambas portadoras da mutação *BRCA1*. A resposta à estimulação ovárica controlada foi subótima (número de ovócitos obtidos inferior a 10) em 60% das doentes que realizaram criopreservação de ovócitos, todas portadoras da mutação *BRCA1*. O número de ovócitos em metáfase II foi inferior a oito ovócitos em todas as doentes, tanto *BRCA1* como *BRCA2*. Uma diminuição dos níveis de HAM superior a 80% foi verificada após tratamento do cancro da mama.

**Discussão:** A reserva ovárica encontrou-se diminuída em 25% das mulheres estudadas e a maioria apresentou uma resposta subótima à estimulação ovárica controlada realizada no contexto de preservação da fertilidade. O número de ovócitos maduros foi igualmente inferior ao valor ótimo. As mulheres que realizaram tratamentos para o cancro da mama, após preservação de fertilidade, desenvolveram insuficiência ovárica prematura. Apesar da amostra ser pequena, estes resultados estão de acordo com vários estudos publicados e reforçam a importância do aconselhamento em relação à preservação da fertilidade. São necessários estudos adicionais para esclarecer o efeito destas mutações no potencial reprodutivo das portadoras.

**Conclusão:** As portadoras de mutações *BRCA* devem ser aconselhadas em relação ao risco de diminuição do seu potencial reprodutivo e esclarecidas quanto às estratégias de preservação da fertilidade.

**Palavras chave:** Reserva ovárica, Genes *BRCA1*, Genes *BRCA2*, Hormona Anti-Mulleriana. Preservação da Fertilidade.

## **Abstract**

**Introduction:** Mutations in the *BRCA* genes are associated with an increased predisposition to the development of breast and ovarian cancer. It has been suggested that carriers of these mutations may have a decreased ovarian reserve. However, the results of several studies are inconsistent. The aim of this study was to evaluate the ovarian reserve and the response to controlled ovarian stimulation in young women carrying a *BRCA1* or *BRCA2* mutation, referred for counseling or fertility preservation.

**Methods:** A retrospective study was conducted through the analysis of the clinical files of 10 patients diagnosed with *BRCA* mutation, referred to the Reproductive Medicine Service of the Hospital and University Center of Coimbra (CHUC). A descriptive analysis of the clinical and demographic data, the ovarian reserve and the response to ovarian stimulation was performed. The ovarian reserve was determined according to the levels of anti-Müllerian hormone (HAM), follicle stimulating hormone (FSH) and antral follicle count (CFA).

**Results:** Ten women were studied, eight with the *BRCA1* mutation and two with the *BRCA2* mutation. Two women (25%) had serum HAM levels below the 5th percentile when compared to age-specific values, both with the *BRCA1* mutation. The response to controlled ovarian stimulation was suboptimal (number of oocytes obtained less than 10) in 60% of patients who underwent oocyte cryopreservation, all carrying the *BRCA1* mutation. The number of oocytes in metaphase II was less than eight oocytes in all patients, both *BRCA1* and *BRCA2*. A decrease in HAM levels of more than 80% was seen after treatment for breast cancer.

**Discussion:** Ovarian reserve was reduced in 25% of the women studied and the majority showed a suboptimal response to controlled ovarian stimulation performed in the context of fertility preservation. The number of mature oocytes was also less than the optimal value. Women who underwent breast cancer treatments, after fertility preservation, developed premature ovarian failure. Although based on a small sample, these results are in accordance with several published studies and reinforce the importance of counseling regarding fertility preservation. Additional studies are needed to clarify the effect of these mutations on the reproductive potential of carriers.

**Conclusion:** Carriers of *BRCA* mutations should be informed about the risk of a decreased reproductive potential and counselled about fertility preservation strategies.

**Keywords:** Ovarian reserve; Genes, *BRCA1*; Genes, *BRCA2*; Anti-Müllerian Hormone; Fertility Preservation.

## Introdução

As mutações germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (breast cancer susceptibility genes 1 e 2) estão associadas a uma maior predisposição para o desenvolvimento de cancro da mama e ovário, sendo os principais responsáveis pela síndrome hereditária de cancro da mama e ovário.<sup>1</sup>

As portadoras destas mutações apresentam um risco cumulativo de desenvolver cancro da mama e do ovário que pode variar entre os 45-65% e 11-39%, respetivamente. O risco é superior para portadores da mutação *BRCA1* e pode depender também do tipo de cancro do caso índice, ou seja, o primeiro caso documentado numa família, neste caso, e da idade do mesmo.<sup>2,3</sup>

Outros cancros foram também associados a estas mutações, nomeadamente cancro da mama masculino, cancro pancreático, cancro da próstata, cancro colorretal e melanoma, entre outros.<sup>4,5</sup>

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são genes supressores tumorais, estão envolvidos na manutenção da estabilidade genómica e preservação da integridade dos telómeros, através da reparação de danos da dupla cadeia do DNA.<sup>6,7</sup>

Para além do risco aumentado para doença maligna, tem sido sugerido que mulheres em idade reprodutiva portadoras destas mutações podem apresentar uma reserva ovárica diminuída, com conseqüente impacto na fertilidade. Alguns estudos sugerem que portadoras destas mutações apresentam uma menopausa natural em idades mais precoces, quando comparadas com mulheres não portadoras.<sup>8-10</sup> Tendo em conta a paridade, os resultados diferem entre estudos, sendo que alguns estudos referem uma menor paridade<sup>10</sup> e outros não encontraram diferenças entre portadoras e não portadoras.<sup>11</sup> O compromisso da reparação dos danos da dupla cadeia de DNA tem sido proposto como mecanismo determinante da diminuição da função ovárica. O encurtamento dos telómeros tem sido também associado à diminuição da reserva ovárica e senescência reprodutiva.<sup>12-14</sup>

A hormona anti mülleriana (HAM) é um marcador endócrino útil para avaliação da reserva ovárica: diminui com a idade (após atingir um pico aos 20 anos), é independente do ciclo menstrual, relaciona-se com a idade de menopausa, correlaciona-se com a contagem de folículos antrais e pode prever a resposta ovárica à estimulação ovárica controlada.<sup>15-18</sup> Vários estudos têm demonstrado níveis séricos diminuídos de HAM em mulheres portadoras destas mutações, quando comparadas com não portadoras<sup>19-23</sup>, em alguns esta diferença é significativa para ambas as mutações<sup>19,20</sup>, noutros apenas para *BRCA1* ou *BRCA2*.<sup>21-23</sup> No entanto, estes resultados não têm sido confirmados por outros estudos, em que os níveis de HAM foram comparáveis entre portadoras e não portadoras.<sup>24,25</sup>



Uma resposta inadequada à estimulação ovárica é considerado um indicador de baixa reserva ovárica.<sup>26,27</sup> Em mulheres submetidas a estimulação ovárica, foi encontrada uma resposta à estimulação ovárica reduzida em mulheres portadoras da mutação *BRCA1*, com um número de ovócitos significativamente mais baixo, sendo estes resultados não confirmados para portadoras da mutação *BRCA2*.<sup>28,29</sup> Porém, outros estudos não demonstraram diferenças entre portadoras de variantes *BRCA* e não portadoras saudáveis.<sup>30,31</sup>

As portadoras destas mutações apresentam vários desafios a nível reprodutivo, decorrentes das várias intervenções a que podem ser sujeitas. Estas intervenções incluem: intervenções cirúrgicas e tratamentos adjuvantes (radioterapia e quimioterapia), no contexto de neoplasia, bem como intervenções profiláticas, com o intuito de diminuir o risco de neoplasia.<sup>32,33</sup> Estes tratamentos podem estar associados a uma diminuição do potencial reprodutivo, em mulheres que poderão previamente já apresentar uma diminuição da reserva ovárica.

Assim, o objetivo deste estudo foi a avaliar a reserva ovárica e a resposta à estimulação ovárica controlada em mulheres jovens portadoras da mutação *BRCA1* ou *BRCA2*, que realizaram estudo da fertilidade ou preservação da mesma.

## Materiais e Métodos

### População em estudo

Foi realizado um estudo retrospectivo e descritivo, através da análise dos processos clínicos de doentes do sexo feminino com diagnóstico de mutação *BRCA*, referenciados ao Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) até 2019, para aconselhamento reprodutivo. A população em estudo foi constituída por dez doentes do sexo feminino portadoras das mutações *BRCA1* ou *BRCA2*.

### Identificação da Mutação *BRCA*

A identificação da mutação *BRCA* foi realizada por estudo molecular dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Perante história pessoal ou familiar que sugira uma predisposição hereditária para cancro da mama e ovário, deve ser considerada uma referenciação para consulta de aconselhamento genético. As indicações para testes genéticos para genes de suscetibilidade ao cancro da mama e ovário de alta penetrância, onde estão incluídos os genes *BRCA1* e *BRCA2*, estão referidas na tabela 1.<sup>33</sup>

**TABELA 1 | Indicações para testes genéticos para genes *BRCA1* e *BRCA2*.**

Adaptado de *National Comprehensive Cancer Network*<sup>33</sup>

Testes genéticos estão clinicamente indicados, nas seguintes situações:		
1. Indivíduos com familiares com uma variante patogénica de um gene suscetível de cancro		
2. Indivíduos que não preenchem os critérios abaixo mas com estudo prévio limitado (por exemplo, pesquisa de apenas um gene) e interessados em realizar teste multigene		
3. História pessoal de cancro	a. Cancro da mama com pelo menos um dos seguintes	i. Diagnosticado com $\leq 45$ anos ii. Diagnosticado com 46 - 50 anos com história familiar desconhecida ou limitada, um segundo cancro da mama diagnosticado em qualquer idade ou $\geq 1$ familiar com cancro da mama, ovário ou da próstata (de alto grau ou intraductal) iii. Diagnosticado $\leq 60$ anos, triplo negativo iv. Diagnosticado em qualquer idade com ascendência de Judeus Ashkenazi, $\geq 1$ familiar com cancro da mama $\leq 50$ anos ou cancro ovário, pancreático ou da próstata (intraductal ou metastático) em qualquer idade v. Diagnosticado em qualquer idade no sexo masculino
	b. Cancro do ovário epitelial em qualquer idade	
	c. Cancro pancreático em qualquer idade	
	d. Cancro da próstata intraductal ou metastático em qualquer idade	
	e. Cancro da próstata de alto grau (gleason $\geq 7$ ) com com ascendência de Judeus Ashkenazi, $\geq 1$ familiar com cancro da mama $\leq 50$ anos ou cancro	

	ovário, pancreático ou $\geq 2$ familiares com cancro da mama ou da próstata em qualquer idade
	f. Uma mutação identificada no estudo genómico do tumor que tem implicações clínicas se identificada na linha germinativa
	g. Para ajudar na tomada de decisão terapêutica, como na do cancro da mama metastático HER2-negativo
<b>e. História Familiar de Cancro</b>	a. Indivíduo com familiar de 1º ou 2º grau que preencha qualquer dos critérios referidos em cima (exceto se apenas o da tomada de decisão terapêutica)
	b. Indivíduo que não preenche os critérios referidos em cima mas tem uma probabilidade $>5\%$ de mutação patogénica <i>BRCA1</i> ou <i>BRCA2</i> segundo os modelos de cálculo de risco (ex.: Tyrer-Cuzick, BRCAPro, Pennil)

### Recolha dos dados

Os dados foram recolhidos em duas etapas: na primeira foi identificada a amostra de estudo através da base de dados do Serviço de Medicina da Reprodução do CHUC; de seguida foi feita a revisão dos respetivos processos clínicos recolhendo os dados relevantes para o estudo.

### Variáveis do estudo

Foram extraídos dos processos clínicos dados clínicos e demográficos, nomeadamente: idade à data de referenciação, data de referenciação, índice de massa corporal [IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )], tipo de mutação *BRCA*, motivo de referenciação, história da doença atual, antecedentes pessoais e antecedentes familiares de relevo.

Quanto aos antecedentes pessoais foram recolhidos dados relativos à história reprodutiva: gestações, partos, abortos, história de infertilidade e tratamento de fertilidade prévio. Nas doentes estudadas com história atual ou prévia de neoplasia foram registados os tratamentos efetuados previamente e após preservação da fertilidade. Nas doentes estudadas que iriam realizar intervenções profiláticas, para diminuição do risco de neoplasia foi registado qual o tratamento realizado.

Relativamente ao estudo da fertilidade da população do estudo, foram recolhidos os seguintes dados: contagem de folículos antrais (CFA), níveis de FSH (Follicule Stimulating Hormone – Hormona Estimuladora de Folículos) e HAM de referenciação. Nas doentes em estudo submetidas a estimulação ovárica e criopreservação de ovócitos foram recolhidos dados relativos ao protocolo de estimulação ovárica realizado, bem como os níveis máximos de estradiol durante a estimulação ovárica. Os níveis de estradiol são monitorizados durante a estimulação ovárica, os níveis máximos de estradiol correspondem ao valor mais elevado registado. Foram registados ainda o número de ovócitos obtidos e criopreservados e

classificação dos mesmos. Foram recolhidos dados referentes ao seguimento das doentes, nomeadamente, níveis de FSH e HAM após tratamento e utilização de ovócitos criopreservados e paridade.

### **Análise**

Foi realizada uma análise descritiva das variáveis em estudo. Os valores de FSH e de HAM de referência das doentes foram comparados com valores específicos para a idade.<sup>34,35</sup> De acordo com a contagem de folículos antrais (CFA) realizada por ecografia, a reserva ovárica foi considerada: normal (CFA igual ou superior a 9), baixa reserva (CFA entre 5 e 8) e muito baixa reserva (CFA inferior a 5).<sup>36</sup> Nas mulheres que realizaram criopreservação de ovócitos, o número de ovócitos obtidos foi considerado: ótimo (número de ovócitos obtidos igual ou superior a 10), subótimo (entre 4 e 9) e baixo (inferior a 4).<sup>37</sup> O número de ovócitos maduros obtidos e criopreservados foi considerado ótimo quando superior ou igual a 8.<sup>38</sup>

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra (CHUC). (Anexo I). Foi assegurada a confidencialidade através da anonimização dos dados dos doentes.

## Resultados

Foram estudadas dez doentes do sexo feminino portadoras de mutações *BRCA*, oito das doentes apresentavam mutação no gene *BRCA1* (80%), e duas no gene *BRCA2* (20%). Quanto à classificação das mutações, três doentes apresentavam variantes patogénicas no gene *BRCA1*, duas doentes apresentavam variantes provavelmente patogénicas, uma no gene *BRCA1* e uma no *BRCA2*, e uma doente apresentava uma variante de significado desconhecido (VSD) no gene *BRCA1*. (Tabela 2)

**TABELA 2 | Caracterização das mutações**

Caso	Gene	Descrição	Tipo	Classificação
1	<i>BRCA1</i>	-	-	-
2	<i>BRCA1</i>	-	-	-
3	<i>BRCA2</i>	c.1588A>T (p.Lys530*)	-	Provavelmente patogénica
4	<i>BRCA1</i>	-	-	VSD
5	<i>BRCA1</i>	Duplicação exões 5, 6 e 7	-	Provavelmente patogénica
6	<i>BRCA2</i>	-	-	-
7	<i>BRCA1</i>	c.3331_3334del (p.Gln1111Asnfs*5)	-	Patogénica
8	<i>BRCA1</i>	c.5153-2A>C	Intrónica	Patogénica
9	<i>BRCA1</i>	-	-	-
10	<i>BRCA1</i>	c.4186-?_4357+?dup (Duplicação exão13)	-	Patogénica

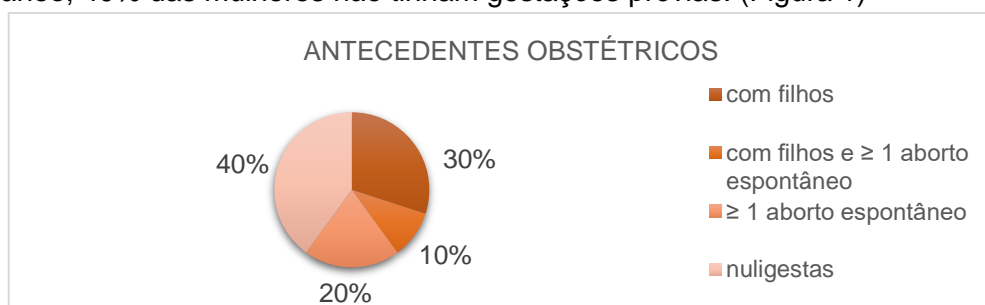
VSD – Variante de Significado Desconhecido.

Na tabela 3, está resumida a informação clínica relevante referente a estas doentes.

À data da referenciação, todas as doentes tinham idade compreendida entre 28 e 38 anos. Três doentes (30%) tinham idade igual ou superior a 35 anos.

Da população estudada, seis das doentes apresentavam um peso normal (IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>), duas doentes apresentavam excesso de peso (IMC entre 25 e 29,99 kg/m<sup>2</sup>) e duas doentes apresentavam um baixo peso (IMC inferior a 18,49 kg/m<sup>2</sup>). Todas as doentes apresentavam hábitos tabágicos e alcoólicos irrelevantes.

Quanto aos antecedentes obstétricos, seis mulheres (60%) apresentavam gestações prévias: três (30%) destas tinham filhos, uma (10%) doente tinha um filho e antecedentes de abortamento espontâneo, e duas (20%) doentes apresentava antecedentes de aborto espontâneo; 40% das mulheres não tinham gestações prévias. (Figura 1)



**FIGURA 1 | Antecedentes Obstétricos da população em estudo.**

**TABELA 3 | Informação clínica da população em estudo.**

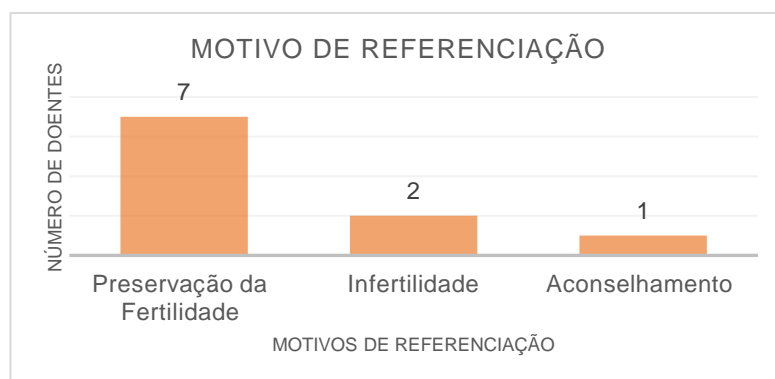
<b>Caso</b>	<b>Idade<sup>a</sup></b>	<b>Mutação</b>	<b>Motivo de Referenciação</b>	<b>Antecedentes Pessoais e História da Doença Atual</b>	<b>Antecedentes Obstétricos</b>	<b>Antecedentes Familiares Oncológicos</b>	<b>Decisões Reprodutivas</b>
1	35	<i>BRCA1</i>	Preservação da Fertilidade	Recomendação de mastectomia total bilateral e ooforectomia bilateral profiláticas.	G0	L. Materno: Avó e duas tias-avós - c. ovárico. Mãe - realizou mastectomia profilática. Irmã portadora <i>BRCA1</i> .	Criopreservação de ovócitos
2	31	<i>BRCA1</i>	Preservação da Fertilidade	C. da mama aos 28 anos, realizou mastectomia direita. Recomendação de mastectomia total esquerda e ooforectomia bilateral profiláticas.	G1P1	L. Paterno: Duas tias e duas primas - c. da mama; tio - c. pancreático, tio - c. do cólon; prima - c. ovárico e do peritoneu.	Criopreservação de ovócitos
3	31	<i>BRCA2</i>	Preservação da Fertilidade	C. da mama, submetida a mastectomia radical. Proposta para QTA.	G0	L. Paterno: Tia - c. da mama aos 50 anos. Pai portador <i>BRCA2</i> .	Criopreservação de ovócitos
4	30	<i>BRCA1</i>	Aconselhamento	Sem antecedentes de relevo.	G1P0 (1AE)	L. Materno: Mãe - c. da mama (38 anos) e da mama contralateral, c. renal e femoral; tia - leucemia; tia - c. da mama; tia, tio e avô - c. do cólon.	Sem desejo de gravidez.
5	38	<i>BRCA1</i>	Infertilidade	Cancro da mama aos 35 anos, realizou QTNA + cirurgia conservadora + RT.	G0	L. Paterno: Pai - c. próstatico; 1 tia - c. da mama. L. Materno: Mãe - c. da mama. Irmã - c. do cólon.	Conceção natural
6	29	<i>BRCA2</i>	Infertilidade	Amenorreia secundária	G0	L. Paterno: Pai - c. pancreático. Avó - c. da mama. L. Materno: Tia-avó e tia - c. da mama; prima - c. do cólon.	Conceção natural
7	35	<i>BRCA1</i>	Preservação da Fertilidade	C. da mama, submetida a cirurgia conservadora. Proposta para QTA.	G2P1 (1 AE, 1 PE)	L. Materno: Mãe - c. ovárico; avô - linfoma da língua; avó - c. pancreático.	Criopreservação de ovócitos
8	32	<i>BRCA1</i>	Preservação da Fertilidade	C. da mama com indicação para QTNA.	G1P1	L. Materno: Mãe (50 anos) e prima (35 anos) - c. da mama	Criopreservação de ovócitos
9	28	<i>BRCA1</i>	Preservação da Fertilidade	C. da mama com indicação para QTNA.	G1P1	L. Materno: Mãe (40 anos) e três tias - c. da mama.	Sem desejo de realizar técnica de PF.
10	31	<i>BRCA1</i>	Preservação da Fertilidade	C. da mama com indicação para QTNA.	G1P0 (1 AE)	L. Materno: Mãe e avó - c. ovárico aos 46 anos, Tia - c. pulmonar, fez ooforectomia profilática.	Criopreservação de ovócitos

<sup>a</sup>Idade à data de referenciação.

AE – Aborto espontâneo; C. – cancro; L. – Linhagem; PE -parto eutócico; PF – Preservação da fertilidade; QTA – Quimioterapia adjuvante; QTNA – Quimioterapia neoadjuvante; RT – radioterapia.

Todas as doentes tinham antecedentes familiares oncológicos de pelo menos um familiar com cancro relacionado com as mutações *BRCA1* e *BRCA2*.

Os motivos de referência para o Serviço de Medicina da Reprodução foram: preservação da fertilidade (sete doentes), infertilidade (duas doentes) e aconselhamento (uma doente). Das sete doentes referenciadas para preservação da fertilidade, cinco iriam realizar tratamento de carcinoma da mama e duas iriam realizar cirurgia profilática. Das doentes referenciadas por infertilidade, ambas apresentavam infertilidade primária. (Figura 2)



**FIGURA 2 | Motivo de Referência das doentes ao Serviço de Medicina da reprodução.**

Duas das doentes apresentavam antecedentes pessoais de cancro da mama, cerca de 3 a 4 anos antes da data de referência, uma delas, além do tratamento cirúrgico, foi submetida a quimioterapia e radioterapia.

Na tabela 4 estão resumidos os dados relativos à reserva ovárica e resposta à estimulação ovárica.

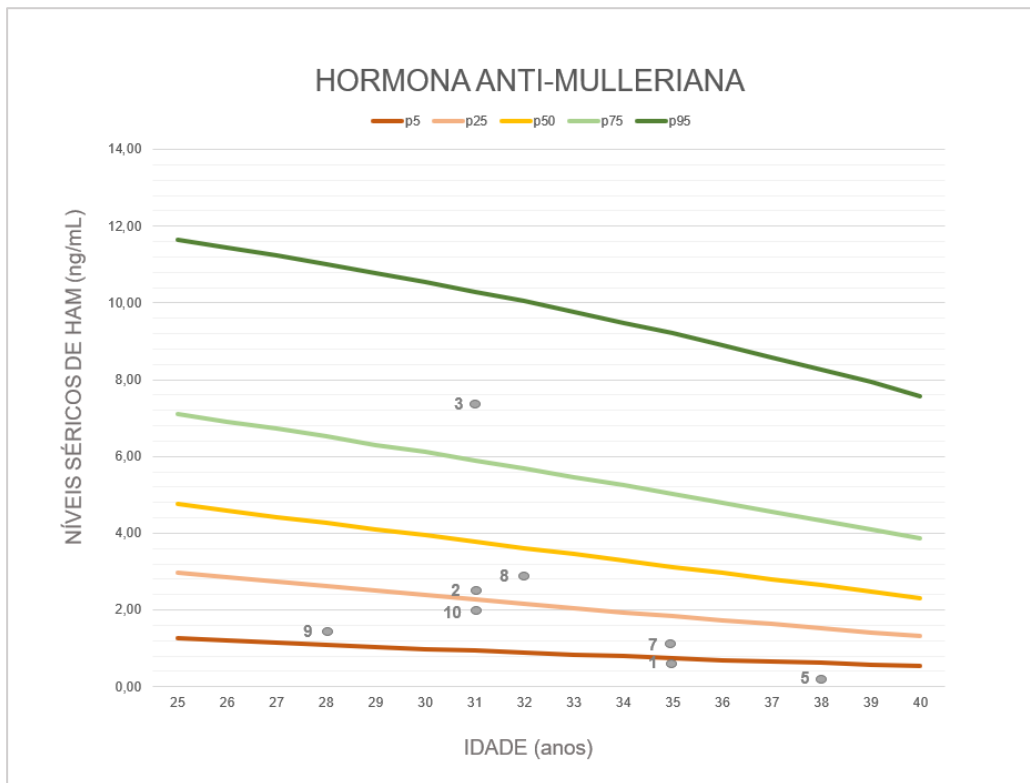
**TABELA 4 | Dados laboratoriais da população em estudo.**

Caso	FSH (data da referenciação - mIU/mL)	CFA	HAM (data da referenciação - ng/mL)	E2 durante a EO (pg/mL)	Ovócitos	
					Obtidos	CP
1	6,00	4	0,62	625	9 (3MII, 4MI, 1VG, 1AT)	8 (3MII, 4MI, 1VG)
2	5,70	9	2,50	-	-	-
3	7,20	-	7,40	539	10 (7MII, 1AT, 2DEG)	7 (7MII)
4	4,90	-	-	-	-	-
5	4,60	0	0,11	-	-	-
6	6,90	-	-	-	-	-
7	7,60	-	1,10	399	1 (1MII)	1 (1MII)
8	6,70	-	2,90	440	16 (6MII, 4VG, 3AT, 3DEG)	6 (6MII)
9	5,50	10	1,50	-	-	-
10	4,49	-	2,00	552	3 (3MII)	3 (3MII)

AT – Atrésicos; CFA – Contagem de folículos antrais; CP – Criopreservados; DEG – Degenerados; E2 – Níveis máximos de estradiol; EO – Estimulação Ovárica; FSH – Hormona Estimuladora de Folículos; HAM – Hormona Anti-Mulleriana; MI – Metáfase I; MII – Metáfase II; VG – Vesícula Germinativa.

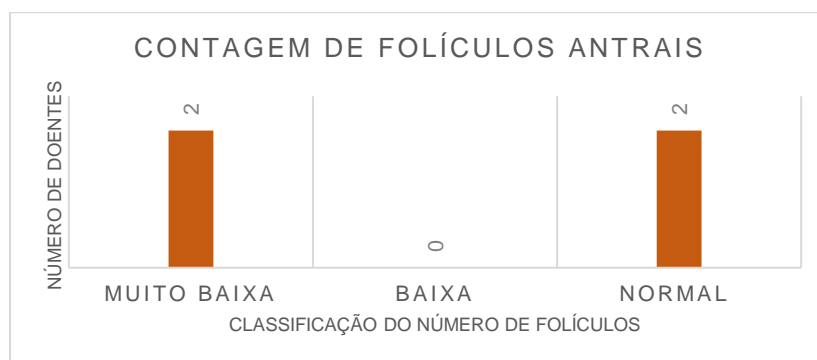
O doseamento sérico da FSH foi realizado em todas as doentes na primeira observação, revelando valores normais específicos para a idade em todas as doentes.

O doseamento sérico da HAM foi realizado em oito das dez doentes, revelando valores inferiores ao percentil 5 em duas das doentes (25%) quando comparado com valores específicos para a idade, ambas estas *BRCA1* positivas. Estes valores estão representados na figura 3.



**FIGURA 3 | Valores séricos de HAM em relação a valores específicos para a idade.**  
Adaptado de La Marca *et al* (2012).  
HAM – Hormona Anti-Mulleriana.

A contagem de folículos antrais (CFA) através de ecografia endovaginal foi realizada em 4 das doentes sendo que duas das doentes apresentavam um número de folículos antrais normal, e duas apresentavam uma contagem muito baixa. (Figura 4)

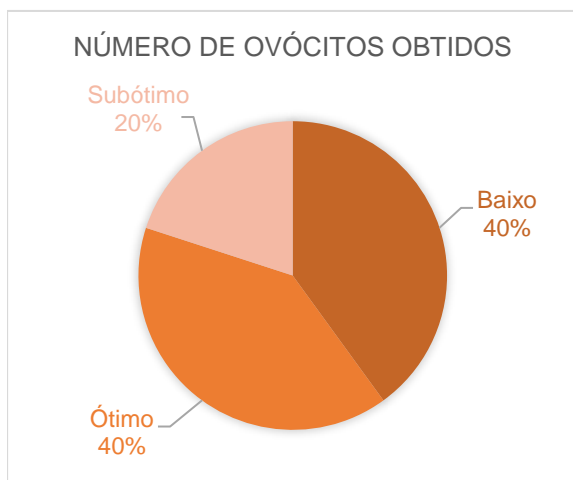


**FIGURA 4 | Contagem de Folículos Antrais.**

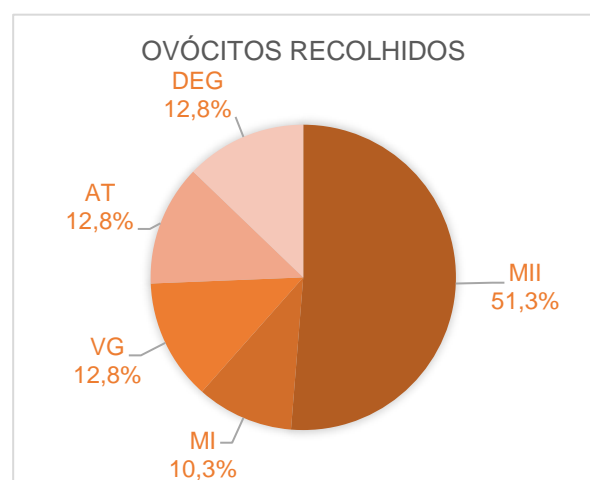


A criopreservação de ovócitos foi realizada em cinco das sete mulheres referenciadas com esse objetivo. Foi realizada estimulação ovárica, com ciclo curto com antagonista com FSH recombinante associado a letrozol (5mg/dia), durante doze dias em três das doentes e nove dias em duas. Os níveis máximos de estradiol são apresentados na tabela 4.

O número de ovócitos obtidos foi baixo (<4) em 40% das doentes, subótimo (4-9) em 20% e ótimo (10-15) em 40%. (Figura 5) Dos ovócitos obtidos no total, 51,3% apresentavam-se em metáfase II, 10,3% em metáfase I, 12,8% em prófase I (vesícula germinativa), 12,8% estavam atrésicos e 12,8 % degenerados. (Figura 6).



**FIGURA 5 | Número de ovócitos obtidos após estimulação ovárica.**



**FIGURA 6 | Classificação dos ovócitos obtidos após estimulação ovárica.**  
AT – Atrésicos; DEG – Degenerados; MI – Metáfase I; MII – Metáfase II; VG – Vesícula Germinativa.

Dos ovócitos recolhidos, foram selecionados 64,1% para criopreservação, destes, 80% encontravam-se em metáfase II. O número de ovócitos criopreservados em metáfase II foi inferior a oito ovócitos em todas as doentes.

Quanto ao tratamento realizado posteriormente, duas doentes realizaram cirurgia profilática (ooforectomia e mastectomia). Das cinco doentes com carcinoma da mama, duas realizaram quimioterapia adjuvante e três quimioterapia neoadjuvante e cirurgia da mama.

Os ovócitos criopreservados não foram utilizados por nenhuma das doentes até ao momento de realização do estudo, embora duas das doentes tenham manifestado interesse. Uma das doentes, caso 4, acompanhada para aconselhamento reprodutivo, encontrava-se grávida no momento de realização do estudo. Uma das doentes referenciada por infertilidade primária, caso 6, apresentava dois abortos espontâneos.

Os valores séricos de FSH e de HAM de referência e após seguimento de alguns casos são apresentados na tabela 5. O caso 1 após cirurgia profilática (mastectomia total bilateral e

ooforectomia profilática) e os casos 8 e 10 após tratamento do cancro da mama (quimioterapia neoadjuvante e cirurgia da mama). As doentes apresentaram uma redução da HAM superior a 80% após estes procedimentos.

**TABELA 5 | Dados laboratoriais de referência e seguimento.**

<b>Caso</b>	<b>FSH de referência (mIU/mL)</b>	<b>FSH após tratamento (mIU/mL)</b>	<b>HAM de referência (ng/mL)</b>	<b>HAM após tratamento (ng/mL)</b>	<b>% de diminuição da HAM</b>
<b>1</b>	6,00	57	0,62	0,02	96,8%
<b>8</b>	6,70	69	2,90	0,5	82,8%
<b>10</b>	4,49	84	2,00	0,01	99,5%

FSH – Follicle Stimulating Hormone (Hormona Estimuladora de Folículos); HAM – Hormona Anti-Mulleriana

## Discussão

No presente estudo, observou-se que duas (25%) das doentes que realizaram doseamento sérico de HAM apresentavam valores de HAM inferiores ao percentil 5 quando comparados com valores específicos para a idade<sup>35</sup>, ambas portadoras da mutação *BRCA1*. Nas restantes doentes, verificaram-se níveis séricos de HAM entre o percentil 5 e o 95, cinco portadoras da mutação *BRCA1* encontravam-se entre o percentil 5 e o 50 e uma portadora da mutação *BRCA2* entre o percentil 75 e o 95.

Os níveis de HAM diminuídos nas portadoras da mutação *BRCA1* vão ao encontro dos resultados de outros autores.<sup>12,21,22,39,40</sup> Num estudo de Wang E. *et al* (2014)<sup>22</sup> verificou-se que portadoras saudáveis da mutação *BRCA1* apresentavam níveis séricos de HAM mais baixos, ajustados ao BMI e idade, quando comparados com os de mulheres não portadoras. Nas portadoras da mutação *BRCA2* não foi encontrada uma diferença significativa. De igual modo, de Philips *et al* (2016)<sup>39</sup>, verificou níveis de HAM significativamente mais baixos nas portadoras da mutação *BRCA1*, mas não nas portadoras da mutação *BRCA2*.

Os valores de HAM mais baixos foram observados nas mulheres portadoras da mutação *BRCA1* com idade igual ou superior a 35 anos, sendo que duas destas apresentavam valores inferiores ao percentil 5, o que pode sugerir um maior impacto da mutação em idade mais avançadas. De forma semelhante ao presente estudo, o estudo de Giordano *et al* (2016)<sup>21</sup> indicou que as mulheres com idade superior a 35 anos portadoras da mutação *BRCA1* tinham um risco dez vezes superior de uma diminuição significativa de HAM, do que as portadoras com uma idade inferior a 35 anos. Também, Pavone *et al* (2014)<sup>40</sup> observou níveis de HAM significativamente mais baixos em mulheres portadoras da mutação *BRCA1* após os 35 anos.

A contagem de folículos antrais é outra medida de avaliação da reserva ovárica e correlaciona-se com os níveis séricos de HAM.<sup>18</sup> Na nossa amostra, observou-se uma CFA muito baixa em duas doentes, correspondendo às que apresentavam níveis de HAM inferiores ao percentil 5.

Quanto à resposta à estimulação ovárica, esta resposta pode ser definida pelo número de ovócitos obtidos. Como já referido, uma baixa resposta à estimulação ovárica pode ser considerada um indicador de baixa reserva ovárica e infertilidade.<sup>26,27</sup> Neste estudo, das cinco mulheres que realizaram estimulação ovárica, 40% apresentaram um número de ovócitos ótimo (número de ovócitos obtidos igual ou superior a 10), 20% subótimo (entre 4 e 9), e 40% baixo (inferior a 4). Assim, 60% das doentes apresentaram um número de ovócitos, e consequentemente uma resposta à estimulação ovárica, inferior ao normal, sendo que todas

estas eram portadoras da mutação *BRCA1*. Quanto às duas mulheres que apresentaram valores ótimos, uma era portadora da mutação *BRCA1* e outra da mutação *BRCA2*. Estes resultados são semelhantes a vários estudos, em que a resposta à estimulação ovárica foi mais baixa em portadoras da mutação *BRCA1*. Num estudo de Oktay *et al* (2010)<sup>28</sup> observou-se que as portadoras das mutações *BRCA* apresentavam taxas significativamente mais elevadas de baixa resposta à estimulação ovárica quando comparadas com os controlos, sendo que todas as portadoras com baixa resposta eram portadoras da mutação *BRCA1*.

O número de ovócitos maduros obtidos, ovócitos em metáfase II, está mais relacionado com sucesso da técnica do que o número total de ovócitos.<sup>38</sup> Quanto ao número de ovócitos maduros obtidos e criopreservados, este foi inferior a 8 em todas as doentes, portadoras da mutação *BRCA1* e *BRCA2*. A portadora da mutação *BRCA2* apresentava o valor mais elevado de ovócitos maduros do grupo, embora também apresentasse um valor subótimo. Noutros estudos, estes resultados apenas se observaram para a mutação *BRCA1*. No estudo de Derks-Smeets *et al* (2017)<sup>29</sup>, o número de ovócitos maduros foi significativamente mais baixo nas portadoras da mutação *BRCA1*. Também Porcu *et al* (2019)<sup>41</sup> observou, além de níveis de HAM mais baixos nas portadoras da mutação *BRCA1*, um número inferior de ovócitos maduros disponíveis para criopreservação.

A possibilidade de mutações *BRCA1* e *BRCA2* terem diferentes impactos na reserva ovárica pode relacionar-se com os diferentes efeitos das mutações a nível ovárico. A mutação *BRCA1* apresenta um risco cumulativo de cancro do ovário de duas a três vezes superior à mutação *BRCA2*, bem como uma idade de incidência de cancro do ovário cerca de 10 anos mais cedo<sup>2,3,32</sup> Também, os genes *BRCA1* e *BRCA2* apresentam diferentes funções a nível da reparação do DNA. O gene *BRCA1* tem uma atuação multifuncional, com funções ao nível da regulação de *checkpoints*, da recombinação homóloga, da recombinação não homóloga, bem como outros processos de reparação do DNA, enquanto o *BRCA2* atua principalmente ao nível da recombinação homóloga.<sup>7</sup>

Além disso, diferentes mutações no mesmo gene podem ter consequências diferentes. Neste estudo, cinco doentes que apresentavam variantes patogénicas ou provavelmente patogénicas, quatro no gene *BRCA1* e uma no gene *BRCA2*, apresentavam antecedentes pessoais ou história de cancro da mama em idade  $\leq 35$  anos, enquanto a doente que apresentava uma variante de significado desconhecido no gene *BRCA1*, não apresentava antecedentes pessoais de relevo, embora fossem necessários mais estudos para esclarecer o significado desta mutação.

Na nossa amostra, a portadora da mutação *BRCA2* apresentou níveis de HAM normais para a idade e uma resposta ótima à estimulação ovárica. No entanto, este estudo pode

subestimar o efeito da mutação *BRCA2* na reserva ovárica, pelo facto da amostra ser pequena. De facto, ao analisar a portadora da mutação *BRCA2* que não realizou estes procedimentos, esta apresentava infertilidade primária, o que pode sugerir que a mutação *BRCA2* tenha também um impacto na reserva ovárica e fertilidade das portadoras. Este impacto da mutação *BRCA2* na reserva ovárica, é apoiado por vários autores.<sup>19,20</sup>

Tendo em conta outros fatores, nomeadamente a paridade, no presente estudo 60% das portadoras de *BRCA1* e *BRCA2* não tinham filhos, duas destas doentes referiam abortos prévios, e duas apresentavam infertilidade primária. No entanto, é de referir que estávamos perante uma população relativamente jovem, com 70% das doentes com idades inferiores a 35 anos. No *follow-up* realizado, uma das doentes sem filhos encontrava-se grávida e uma das doentes com infertilidade primária apresentava dois abortamentos espontâneos.

As mulheres portadoras das mutações *BRCA1* e *BRCA2* apresentam vários desafios a nível reprodutivo ao longo do seu acompanhamento clínico. Ao nível da prevenção primária, ou seja, na diminuição do risco de cancro, pode estar indicada a quimioprevenção (com tamoxifeno) e cirurgias, nomeadamente a mastectomia e a ooforectomia bilateral profiláticas.<sup>32,33</sup> Nas doentes que desenvolvem cancro da mama ou do ovário, pode estar indicado tratamento com quimioterapia, radioterapia (no caso do cancro da mama) e o tratamento cirúrgico, bem como outros tratamentos mais dirigidos. Na população estudada é possível verificar estas intervenções em várias doentes.

Estes procedimentos podem estar associados a uma diminuição do potencial reprodutivo. Tem sido sugerido que as doentes portadoras destas mutações podem apresentar uma menor recuperação da reserva ovárica após quimioterapia.<sup>42</sup> Neste estudo verificou-se que a doente com níveis de HAM mais baixos, apresentava antecedentes pessoais de cancro da mama, para o qual havia realizado quimioterapia neoadjuvante. No seguimento realizado, duas doentes que realizaram quimioterapia apresentavam uma diminuição dos níveis de HAM superior a 80%.

O aconselhamento reprodutivo torna-se por isso essencial nas portadoras de mutações *BRCA1* e *BRCA2*. Após o diagnóstico, as portadoras destas mutações devem ser esclarecidas quanto à possibilidade de perda do potencial reprodutivo, quer pela presença da mutação, quer pelos tratamentos que poderão ter de realizar. Além disso, deve ser discutida a possibilidade de diagnóstico genético pré-implantação (DGPI) com as portadoras destas mutações que desejam não transmitir a mutação à descendência. Sendo de salientar também a importância das técnicas de preservação de fertilidade nestas doentes, pelo risco de insuficiência ovárica prematura (iatrogénica), bem como nas mulheres que vão ser submetidas a tratamento de neoplasia ou que desejam DGPI.

O presente estudo apresentou alguns pontos fortes e limitações. As principais limitações baseiam-se no facto de ser um estudo descritivo com uma amostra de doentes muito pequena e heterogénea de apenas um centro de Medicina da Reprodução. Alguns dos pontos fortes incluem a avaliação de vários marcadores da reserva ovária, incluindo a HAM, a CFA e a avaliação da resposta à estimulação ovária, bem como o facto de ter sido realizado um *follow up* das doentes incluídas no estudo.

## **Conclusão**

Neste estudo, 25% das doentes apresentaram valores de HAM inferiores ao percentil 5 e a maioria apresentou uma resposta subótima à estimulação ovárica.

As mulheres que realizaram tratamento após preservação de fertilidade, no contexto de cancro da mama, desenvolveram insuficiência ovárica prematura, reforçando a importância do aconselhamento em relação à preservação da fertilidade.

As mulheres portadoras da mutação *BRCA1* e *BRCA2* enfrentam vários desafios relacionados com o planeamento familiar e fertilidade. São necessários estudos adicionais para esclarecer o efeito destas mutações no potencial reprodutivo das portadoras, permitindo aos clínicos um melhor aconselhamento nas decisões reprodutivas das mesmas.

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Ana Teresa Almeida e à Dra Ana Filipa Ferreira, agradeço todo o conhecimento partilhado, bem como o apoio, disponibilidade e orientação fundamentais para a elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, à minha irmã Leonor, e todos os meus familiares, o meu sincero agradecimento por estarem sempre presentes, por todo o apoio, dedicação e carinho.

Aos meus amigos por tornarem os últimos seis anos melhores.

A todos os que acreditaram em mim e contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.



## Referências Bibliográficas

- 1 Hawsawi YM, Al-Numair NS, Sobahy TM, Al-Ajmi AM, Al-Harbi RM, Baghdadi MA *et al.* The role of BRCA1/2 in hereditary and familial breast and ovarian cancers. *Mol. Genet. Genomic Med.* 2019; 7: 1–7.
- 2 Chen S, Parmigiani G. Meta- Analysis of BRAC1 and BRAC2 Penetrance. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1329–1333.
- 3 Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL *et al.* Average Risks of Breast and Ovarian Cancer Associated with BRCA1 or BRCA2 Mutations Detected in Case Series Unselected for Family History : A Combined Analysis of 22 Studies. 2003; : 1117–1130.
- 4 Ford D, Easton DF, Bishop DT, Narod SA, Goldgar DE. Risks of cancer in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Lancet (London, England)* 1994; 343: 692–5.
- 5 Consortium TBCL. Cancer Risks in BRCA2 Mutation Carriers. *JNCI J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1310–1316.
- 6 Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. *Nature* 2000; 408: 429–432.
- 7 Roy R, Chun J, Powell SN. BRCA1 and BRCA2: Different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 68–78.
- 8 Finch A, Valentini A, Greenblatt E, Lynch HT, Ghadirian P, Armel S *et al.* Frequency of premature menopause in women who carry a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Fertil Steril* 2013; 99: 1724–1728.
- 9 Rzepka-Górska I, Tarnowski B, Chudecka-Głaz A, Górski B, Zielińska D, Tołoczko-Grabarek A. Premature menopause in patients with BRCA1 gene mutation. *Breast Cancer Res. Treat.* 2006; 100: 59–63.
- 10 Lin WT, Beattie M, Chen LM, Oktay K, Crawford SL, Gold EB *et al.* Comparison of age at natural menopause in BRCA1/2 mutation carriers with a non-clinic-based sample of women in northern California. *Cancer* 2013; 119: 1652–1659.
- 11 Pal T, Keefe D, Sun P, Narod SA. Fertility in women with BRCA mutations: a case-control study. *Fertil Steril* 2010; 93: 1805–1808.
- 12 Titus S, Li F, Stobezki R, Akula K, Unsal E, Jeong K *et al.* Impairment of BRCA1-related DNA double-strand break repair leads to ovarian aging in mice and humans. *Sci Transl Med* 2013; 5: 172ra21-172ra21.
- 13 Oktay K, Turan V, Titus S, Stobezki R, Liu L. BRCA Mutations, DNA Repair Deficiency, and Ovarian Aging<sup>1</sup>. *Biol Reprod* 2015; 93. doi:10.1095/biolreprod.115.132290.
- 14 Keefe DL, Marquard K, Liu L. The telomere theory of reproductive senescence in

- women. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2006; 18: 280–285.
- 15 Oh SR, Choe SY, Cho YJ. Clinical application of serum anti-Müllerian hormone in women. *Clin. Exp. Reprod. Med.* 2019; 46: 50–59.
  - 16 Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WHB. A validated model of serum Anti-Müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS One* 2011; 6: 1–7.
  - 17 Broer SL, Eijkemans MJC, Scheffer GJ, Van Rooij IAJ, De Vet A, Themmen APN *et al.* Anti-Müllerian hormone predicts menopause: A long-term follow-up study in normoovulatory women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 2532–2539.
  - 18 Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P *et al.* Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2009; 92: 1586–1593.
  - 19 Son KA, Lee DY, Choi DS. Association of BRCA mutations and anti-Müllerian hormone level in young breast cancer patients. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; 10. doi:10.3389/fendo.2019.00235.
  - 20 Ben-Aharon I, Levi M, Margel D, Yerushalmi R, Rizel S, Perry S *et al.* Premature ovarian aging in BRCA carriers: a prototype of systemic precocious aging? 2018www.oncotarget.com.
  - 21 Giordano S, Garrett-Mayer E, Mittal N, Smith K, Shulman L, Passaglia C *et al.* Association of BRCA1 Mutations with Impaired Ovarian Reserve: Connection between Infertility and Breast/Ovarian Cancer Risk. *J Adolesc Young Adult Oncol* 2016; 5: 337–343.
  - 22 Wang ET, Pisarska MD, Bresee C, Chen YDI, Lester J, Afshar Y *et al.* BRCA1 germline mutations may be associated with reduced ovarian reserve. *Fertil Steril* 2014; 102: 1723–1728.
  - 23 Johnson L, Sammel MD, Domchek S, Schanne A, Prewitt M, Gracia C. Antimüllerian hormone levels are lower in BRCA2 mutation carriers. *Fertil Steril* 2017; 107: 1256-1265.e6.
  - 24 Van Tilborg TC, Derks-Smeets IAP, Bos AME, Oosterwijk JC, Van Golde RJ, De Die-Smulders CE *et al.* Serum AMH levels in healthy women from BRCA1/2 mutated families: Are they reduced? *Hum Reprod* 2016; 31: 2651–2659.
  - 25 Michaelson-Cohen R, Mor P, Srebnik N, Beller U, Levy-Lahad E, Eldar-Geva T. BRCA mutation carriers do not have compromised ovarian reserve. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2014; 24: 233–237.
  - 26 Nikolaou D. Is there a link between an extremely poor response to ovarian hyperstimulation and early ovarian failure? *Hum Reprod* 2002; 17: 1106–1111.

- 27 De Boer EJ, Den Tonkelaar I, Te Velde ER, Burger CW, Klip H, Van Leeuwen FE. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. *Fertil Steril* 2002; 77: 978–985.
- 28 Oktay K, Kim JY, Barad D, Babayev SN. Association of BRCA1 mutations with occult primary ovarian insufficiency: A possible explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. *J Clin Oncol* 2010; 28: 240–244.
- 29 Derks-Smeets IAP, van Tilborg TC, van Montfoort A, Smits L, Torrance HL, Meijer-Hoogeveen M *et al.* BRCA1 mutation carriers have a lower number of mature oocytes after ovarian stimulation for IVF/PGD. *J Assist Reprod Genet* 2017; 34: 1475–1482.
- 30 Shapira M, Raanani H, Feldman B, Srebnik N, Dereck-Haim S, Manela D *et al.* BRCA mutation carriers show normal ovarian response in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2015; 104: 1162–1167.
- 31 Gunnala V, Fields J, Irani M, D’Angelo D, Xu K, Schattman G *et al.* BRCA carriers have similar reproductive potential at baseline to noncarriers: comparisons in cancer and cancer-free cohorts undergoing fertility preservation. *Fertil Steril* 2019. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.10.014.
- 32 Peccatori FA, Mangili G, Bergamini A, Filippi F, Martinelli F, Ferrari F *et al.* Fertility preservation in women harboring deleterious BRCA mutations: Ready for prime time? *Hum Reprod* 2018; 33: 181–187.
- 33 National Comprehensive Cancer Network. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic. (Version 1.2020). 2019. Disponível em: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/genetics\\_bop.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_bop.pdf).
- 34 Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging. *Reprod Biol Endocrinol* 2011; 9: 23.
- 35 La Marca A, Spada E, Grisendi V, Argento C, Papaleo E, Milani S *et al.* Normal serum anti-Müllerian hormone levels in the general female population and the relationship with reproductive history. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 163: 180–184.
- 36 Coelho Neto MA, Ludwin A, Borrell A, Benacerraf B, Dewailly D, da Silva Costa F *et al.* Counting ovarian antral follicles by ultrasound: a practical guide. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018; 51: 10–20.
- 37 Polyzos NP, Sunkara SK. Sub-optimal responders following controlled ovarian stimulation: An overlooked group? *Hum Reprod* 2015; 30: 2005–2008.
- 38 Milachich T, Shterev A. Are there optimal numbers of oocytes, spermatozoa and embryos in assisted reproduction? *J Bras Reprod Assist* 2016; 20: 142–149.
- 39 Phillips KA, Collins IM, Milne RL, McLachlan SA, Friedlander M, Hickey M *et al.* Anti-Müllerian hormone serum concentrations of women with germline BRCA1 or BRCA2 mutations. *Hum Reprod* 2016; 31: 1126–1132.

- 40 Pavone ME, Mittal N, Smith K, Giordano SB. Amh values in reproductive aged women with and without the brca1 mutation. *Fertil Steril* 2014; 102: e156.
- 41 Porcu E, Cillo GM, Cipriani L, Sacilotto F, Notarangelo L, Damiano G *et al.* Impact of BRCA1 and BRCA2 mutations on ovarian reserve and fertility preservation outcomes in young women with breast cancer. *J Assist Reprod Genet* 2019; : 709–715.
- 42 Oktay K, Bedoschi G, Goldfarb S, Titus S, Palomaki G, Dickler M. Increased chemotherapy-induced ovarian reserve loss in women with BRCA mutations: a prospective longitudinal study with mechanistic confirmation. *Fertil Steril* 2018; 110: e430.

## Anexos

### Anexo I | Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do CHUC (CHUC-079-19)



SNS SERVIÇO NACIONAL  
DE SAÚDE



#### Comissão de Ética para a Saúde

Visto/ À U.D.  
para difusão

02/10/19

Dr. Francisco Parente  
Diretor Clínico  
C.H.U.C. - EPE

Exmo. Senhor  
Dr. Francisco Parente  
Digmº Diretor Clínico do CHUC

SUA REFERÊNCIA

SUA COMUNICAÇÃO DE

NOSSA REFERÊNCIA

DATA

N.º 225/CES

01-10-2019

Proc. N.º CHUC-079-19

#### ASSUNTO:

Estudo Observacional: **"Avaliação da Reserva Ovárica numa População de Mulheres Portadoras de Mutações BRCA"**  
Entrada na CES: 01-08-2019  
**Investigador/a/es:** Margarida das Neves Maciel da Silva, Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina; co - investigadora: Ana Teresa Moreira de Almeida Santos; Professora Auxiliar com agregação da FMUC  
**Serviço de Realização:** Medicina da Reprodução

Cumpramos informar Vossa Ex.<sup>a</sup> que a CES - Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, reunida em 26 de setembro de 2019, considerou que se encontram respeitados os requisitos éticos adequados à realização do estudo, pelo que emitiu parecer favorável ao seu desenvolvimento no CHUC.

Mais se informa que a CES do CHUC deverá ser semestralmente atualizada em relação ao desenvolvimento dos estudos favoravelmente analisados e informada da data da conclusão dos mesmos, com envio de relatório final.

Com os melhores cumprimentos,

A Comissão de Ética para a Saúde do CHUC, E.P.E.

Prof. Doutor João Pedroso de Lima  
Presidente

CES do CHUC: Prof. Doutor João Pedroso de Lima, Prof. Doutora Margarida Silvestre, Eniº Adélio Tinoco Mendes, Dra. Cláudia Santos, Dra. Isabel Ventura, Dr. José António Feio, Rev. Pe. Miguel Ferreira, sj, Dr. Pedro Lopes, Dra. Teresa Monteiro