



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Mestrado Integrado em Medicina - Trabalho Final

JOANA RITA OLIVEIRA NÉVOA

**PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE POR INDICAÇÃO
MÉDICA (NÃO ONCOLÓGICA) EM IDADE PEDIÁTRICA**

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA DA REPRODUÇÃO

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA ANA TERESA MOREIRA ALMEIDA SANTOS

DOUTORA ANA SOFIA PAIS

Fevereiro/2023

Preservação Da Fertilidade Por Indicação Médica (Não Oncológica) Em Idade Pediátrica

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA DA REPRODUÇÃO

Joana Rita Oliveira Névoa^{1,2}

Ana Sofia Pais, MD^{1,4}

Ana Teresa Moreira Almeida Santos, MD, PhD^{1,3}

¹ FMUC- Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

² jnevoa9@gmail.com, FMUC - Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal.

³ anateresasantos.tas@gmail.com, Centro de Preservação da Fertilidade, Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E.P.E., Portugal; FMUC - Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal; CNC - Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, Portugal.

⁴ asfpais@uc.pt, Centro de Preservação da Fertilidade, Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E.P.E., Portugal; FMUC - Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal; Instituto de Biofísica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal; Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR), Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal; Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), Universidade de Coimbra, Portugal; Centro de Investigação em Meio Ambiente, Genética e Oncobiologia (CIMAGO), Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal; Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), Portugal; CNC - Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, Portugal.

ÍNDICE

ÍNDICE	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	11
MÉTODOS	13
DISCUSSÃO	14
Capítulo I - TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO DE FERTILIDADE EM IDADE PEDIÁTRICA	14
Capítulo II - DOENÇAS HEMATOLÓGICAS BENIGNAS	16
II.I – ANEMIA FALCIFORME	16
II.II – TALASSEMIA MAJOR	18
Capítulo III - DOENÇAS AUTOIMUNES	19
III.I – DOENÇAS DA TIROIDE	19
III.II – LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO	20
III.III – OUTRAS DOENÇAS AUTOIMUNES	22
Capítulo IV - PATOLOGIAS DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO	23
IV.I TUMORES BENIGNOS DO OVÁRIO e TORÇÃO DO OVÁRIO	23
IV.II ENDOMETRIOSE	24
Capítulo V - DOENÇAS GENÉTICAS	26
V.I - SÍNDROME DE KLINEFELTER	26
V.II - SÍNDROME DE TURNER	27
V.III - SÍNDROME DE X FRÁGIL	29
V.IV - GALACTOSÉMIA	30
CONCLUSÃO	33
AGRADECIMENTOS	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE ABREVIATURAS

AINEs - anti-inflamatórios não esteróides

ESHRE - *European Society of Human Reproduction and Embryology*

FMR1- *Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1*

FSH - hormona folículo-estimulante

GALT - galactose-1-fosfato uridiltransferase

GnRH - hormona libertadora de gonadotrofinas

HAM - hormona anti-Mülleriana

IOP - insuficiência ovárica prematura

LES - lúpus eritematoso sistémico

LH - hormona luteinizante

PF - preservação de fertilidade

TSH - hormona estimulante da tiroide

RESUMO

As neoplasias malignas são as indicações mais frequentes para a preservação da fertilidade (PF), no entanto, existem várias condições médicas não oncológicas com incidência revelante que devem ser igualmente encaminhadas para a medicina da reprodução. A infertilidade futura relacionada com o próprio mecanismo da doença, assim como com o tratamento requerido, sobretudo com impacto gonadotóxico, devem ser reconhecidas como relevantes na qualidade de vida futura. Portanto, estas patologias devem ser abordadas junto das crianças, adolescentes e respetivos encarregados como indicações para preservarem o seu potencial reprodutivo. Existem equipas multidisciplinares responsáveis de fornecer informação a estes doentes, de discutir os riscos e benefícios da PF, bem como esclarecer o funcionamento das respetivas técnicas atualmente utilizadas.

A literatura existente relativamente à PF em doentes pediátricos oncológicos é vasta. Assim, neste artigo foi realizada uma revisão narrativa que aborda essencialmente patologias não oncológicas e a respetiva necessidade de PF em idade pediátrica, bem como as técnicas a ponderar em cada situação.

Para este artigo foi realizada uma pesquisa nas bases de dados eletrónicas “PubMed” e “Web of Science”, com a finalidade de identificar todos os artigos publicados nos últimos 5 anos (entre 2017 e 2022), em língua inglesa, espanhola e portuguesa. Da pesquisa obtiveram-se 155 artigos, dos quais 86 foram usados na elaboração deste artigo de revisão narrativa.

Assim, serão abordadas as doenças hematológicas benignas (anemia falciforme e talassemia major), doenças autoimunes (doenças da tiroide e lúpus eritematoso sistémico), as patologias do aparelho reprodutor feminino (tumores benignos do ovário, torção do ovário e endometriose), as doenças genéticas (síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome de X frágil e galactosémia). Para os doentes com doenças hematológicas benignas há recomendação para PF, tal como em situações de lúpus eritematoso sistémico em que esta está indicada para todos os que têm doença sistémica em qualquer fase de progressão e antes de serem utilizados fármacos gonadotóxicos. Nas restantes situações, a PF é aconselhada mediante avaliação das situações específicas de cada paciente, dependendo das condições clínicas, do sexo e da idade. Já nas doenças da tiroide, apesar dos efeitos a nível das gónadas, não estão recomendadas técnicas para preservação do potencial reprodutivo. De igual forma, na galactosémia poderá ser considerada a avaliação da reserva ovárica, porém, atualmente, não existe consenso relativamente à conduta para PF.

Apesar das doenças descritas serem patologias não oncológicas, verifica-se também a necessidade de abordar a importância da PF em idade pediátrica, sendo que em algumas das patologias aqui referidas a recomendação depende de fatores específicos e aplicáveis

mediante a análise da situação concreta. Independentemente da (in)existência de recomendação para PF importa referir que é, muitas vezes, difícil para uma criança ou adolescente tomar uma decisão informada sobre a fertilidade futura.

Palavras-Chave: Preservação da fertilidade; Idade Pediátrica; Criopreservação; Azoospermia; Insuficiência Ovárica Prematura; Quimioterapia.

ABSTRACT

Malignant tumors are the most frequent indications for fertility preservation, however, there are several non-oncologic medical conditions with revealing incidence that should also be referred to reproductive medicine. Future infertility related to the disease mechanism itself, as well as the required treatment, especially with gonadotoxic impact, should be recognized as relevant to future quality of life. Therefore, these pathologies must be discussed with children, adolescents and their parents as indications to preserve their reproductive potential. There are multidisciplinary teams responsible for providing information to these patients, discussing the risks and benefits of fertility preservation, and clarifying how the respective techniques currently used work.

The existing literature regarding fertility preservation in pediatric oncology patients is extensive. So, this article present a narrative review addressing mainly non-oncologic pathologies and the consequent need to preserve fertility in pediatric age, as well as the techniques to be considered in each situation.

For this review article, a search was conducted in the electronic databases "PubMed" and "Web of Science", to identify all articles published in the last 5 years (between 2017 and 2022), in English, Spanish and Portuguese. From the search 155 articles were obtained, of which 86 were used in the preparation of this narrative review article.

Thus, benign hematological diseases (sickle cell anemia and thalassemia major), autoimmune diseases (thyroid diseases and systemic lupus erythematosus), pathologies of the female reproductive system (benign ovarian tumors, ovarian torsion and endometriosis), genetic diseases (Klinefelter syndrome, Turner syndrome, fragile X syndrome and galactosemia) will be addressed. For patients with benign hematological diseases there is a recommendation for fertility preservation, such as in systemic lupus erythematosus situations in which it is indicated for all with systemic disease at any stage of progression and before being treated with gonadotoxic drugs. In other situations, fertility preservation is advised by evaluating the specific situations of each patient, depending on the clinical conditions, gender, and age. In thyroid diseases, despite the effects on the gonads, techniques to preserve reproductive potential are not recommended. Similarly, in galactosemia, an evaluation of the ovarian reserve may be considered, but currently there are no recommendations.

Although the diseases described are non-oncological pathologies, there is also a need to address the importance of fertility preservation in pediatric age, and in some of the pathologies mentioned here the recommendation depends on specific and applicable factors through the analysis of the concrete situation. Regardless of the (non)existence of a

recommendation for fertility preservation, it is important to remark that it is often difficult for a child or adolescent to make an informed decision about future fertility.

Keywords: Fertility Preservation; Pediatrics; Cryopreservation; Azoospermia; Premature Ovarian Failure; Chemotherapy.

INTRODUÇÃO

A preservação da fertilidade (PF) é uma disciplina na área da medicina da reprodução que consiste em assegurar a capacidade reprodutiva através do armazenamento de gâmetas, recorrendo a técnicas específicas.¹

As diretrizes internacionais afirmam que as informações sobre os métodos para PF devem ser fornecidas a todos os pacientes de idade jovem no planeamento de tratamentos potencialmente gonadotóxicos, bem como aos seus pais ou responsáveis.²

Assim, o risco de infertilidade e a possibilidade de PF devem ser abordados quando o efeito intrínseco de uma patologia ou do seu tratamento põem em risco a capacidade reprodutiva e/ou condicionam elevado risco de insuficiência ovárica prematura (IOP). Embora a principal população em risco seja constituída por doentes oncológicos jovens que necessitam de realizar quimioterapia e radioterapia pélvica ou craniana, as patologias benignas representam 8% a 13% das indicações para PF.³

As crianças e os adolescentes representam um grupo especial que deve ser abordado com ponderação. Para ajudar na discussão sobre a PF, juntamente com os seus riscos e benefícios, existem equipas constituídas por membros multidisciplinares encarregados de fornecer o aconselhamento aos doentes, bem como a coordenação dos procedimentos de PF. Uma equipa de fertilidade pediátrica pode integrar diferentes áreas médicas, nomeadamente, oncologia pediátrica, ginecologia de adolescentes, urologia pediátrica, cirurgia pediátrica, endocrinologia reprodutiva, genética e psicologia.⁴

Infelizmente, há vários fatores que dificultam a preservação do potencial reprodutivo nesta faixa etária, incluindo a falta de programas de PF disponíveis nas instalações de cuidados de saúde pediátricos, falta de conhecimento sobre a vulnerabilidade destes indivíduos aos tratamentos gonadotóxicos, e o desconforto em discutir questões de saúde reprodutiva com estes doentes e os seus pais. Dado que se trata de uma população particularmente vulnerável, é especialmente recomendado um aconselhamento cuidadoso e o consentimento informado.⁵

A IOP é uma condição heterogénea e multifatorial, que corresponde a amenorreia devido à perda de função ovárica antes dos 40 anos.⁶ O esgotamento prematuro do *pool* de folículos pode ser devido à destruição de folículos primordiais por agentes tóxicos, respostas autoimunes, ativação de vias pro-apoptóticas, ou recrutamento folicular acelerado.⁷ Existem causas iatrogénicas e não iatrogénicas. Dentro das iatrogénicas, importa mencionar a quimioterapia em doentes oncológicos ou com doenças benignas, como o lúpus eritematoso sistémico, bem como a ooforectomia bilateral, realizada quer por patologia maligna como

benigna. Como causas não iatrogénicas há a salientar doenças genéticas, como a síndrome do X frágil e a síndrome de Turner e ainda doenças autoimunes.⁸

As técnicas usadas em idade pediátrica no sexo feminino incluem a criopreservação de ovócitos e a criopreservação de tecido ovárico. Já no sexo masculino, recorre-se à criopreservação de esperma e à criopreservação de tecido testicular.⁹

As doenças malignas são as indicações mais frequentes para PF, nomeadamente, as neoplasias hematológicas, como o linfoma de Hodgkin, o linfoma não Hodgkin e a leucemia, bem como o cancro da mama. É importante referir que os principais diagnósticos oncológicos em idade pediátrica compreendem as leucemias, os neuroblastomas e os linfomas. Nestes doentes a necessidade de quimioterapia, sobretudo com agentes alquilantes, assim como com radioterapia, nomeadamente pélvica, condiciona um elevado risco de IOP.¹⁰

No entanto, para além das doenças oncológicas, a PF também deve ser equacionada em diversas condições médicas não oncológicas. Desta forma, este artigo de revisão centrar-se-á nas doenças que requerem quimioterapia, radioterapia ou transplante de medula óssea, nomeadamente, doenças hematológicas benignas (anemia falciforme e talassemia major) e doenças autoimunes refratárias à terapia imunossupressora (como o lúpus eritematoso sistémico). Também serão abordadas doenças ginecológicas como os tumores benignos bilaterais dos ovários, a torção ovárica e a endometriose ovárica severa e recorrente. Por fim, abordar-se-á a importância da PF também nas doenças genéticas.¹¹

A literatura existente relativamente à PF em doentes pediátricos oncológicos é vasta, porém estão menos sistematizadas as restantes indicações. Assim, esta revisão narrativa abordará essencialmente indicações médicas, não oncológicas, para PF na idade pediátrica, bem como as técnicas a ponderar em cada situação.

MÉTODOS

Para este artigo de revisão foi realizada uma pesquisa nas bases de dados eletrônicas “PubMed” e “Web of Science”, com a finalidade de identificar todos os artigos publicados nos últimos 5 anos (entre 2017 e 2022), em língua inglesa, espanhola e portuguesa. Foram utilizados os seguintes termos de pesquisa: “Fertility Preservation” AND “Pediatrics” AND “Sickle Cell Anemia” AND “Hemoglobinopathies” AND “Beta Talassemia” AND “Autoimmune Disease” AND “Systemic Lupus Erythematosus” AND “Thyroid Disease” AND “Benign Ovarian Tumors” AND “Ovarian Torsion” AND “Endometriosis” AND “Genetic Disease” AND “Turner Syndrome” AND “Klinefelter Syndrome” AND “Fragile X Syndrome” AND “Galactosemia”. Através da pesquisa bibliográfica obtiveram-se 155 artigos. Após a leitura dos seus resumos, foram selecionados 86 artigos para a elaboração desta revisão narrativa. Todos os artigos de interesse foram analisados, assim como as referências destes mesmos artigos que evidenciaram relevância para o cumprimento dos objetivos deste artigo de revisão. Foram incluídos artigos sobre PF em idade pediátrica; artigos sobre técnicas de PF; artigos sobre IOP; artigos sobre doenças hematológicas benignas; artigos sobre doenças autoimunes; artigos sobre patologias ginecológicas não oncológicas em idade pediátrica; artigos sobre síndrome de Turner, síndrome de Klinefelter e síndrome do X frágil e, por fim, artigos sobre galactosémia. Dos artigos selecionados, foram excluídos os que incluíam indicações exclusivamente oncológicas. Recorreu-se ainda a alguns livros e *guidelines* considerados relevantes para este trabalho.

DISCUSSÃO

Capítulo I - TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO DE FERTILIDADE EM IDADE PEDIÁTRICA

As técnicas de PF preconizadas no sexo feminino em idade pediátrica são a criopreservação de ovócitos e a criopreservação de tecido ovárico. A criopreservação de ovócitos destina-se a raparigas pós púberes e baseia-se na estimulação hormonal, seguida de punção folicular e, por fim, realiza-se a criopreservação dos ovócitos obtidos por vitrificação. Esta técnica de congelação por vitrificação aumenta a sobrevivência dos ovócitos, as taxas de fertilização e a proporção de embriões de elevada qualidade, face à congelação lenta. Quando pretendido, os gâmetas preservados são descongelados e fecundados com recurso a fertilização in vitro ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides. Os embriões obtidos são então transferidos para o útero da mulher.⁹

Por outro lado, a criopreservação de tecido ovárico é a única opção para raparigas pré-púberes, estando também indicada em situações em que é indesejável estimulação hormonal e/ou há necessidade de iniciar tratamentos com urgência em raparigas pós púberes. Nesta técnica, por cirurgia laparoscópica, procede-se à colheita, de um fragmento ou da totalidade do ovário. O tecido ovárico é posteriormente preparado, isolando-se fragmentos do córtex para criopreservação. Quando a mulher pretender, os fragmentos são descongelados e poderão ser transplantados no ovário remanescente (transplante ortotópico) ou noutra localização (transplante heterotópico). Há vantagem em remover o ovário completo, pois permite obter maior quantidade de tecido para criopreservação e ainda repetir o transplante, caso o primeiro enxerto não seja bem-sucedido. Após transplante, o tecido ovárico pode repor a função endócrina e a fertilidade, possibilitando uma conceção natural.⁹

A criopreservação de espermatozoides e a criopreservação de tecido testicular são as opções atualmente disponíveis para o sexo masculino. A primeira destina-se a rapazes pós púberes, na qual se colhem amostras de espermatozoides por masturbação, biópsia testicular ou eletroejaculação, que serão posteriormente criopreservadas. Quando pretendido, o espermatozoides poderá ser usado para a criação de embriões, por inseminação intrauterina, fertilização in vitro ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides. Já a criopreservação de tecido testicular está indicada em rapazes pré-púberes e naqueles em quem a recolha de espermatozoides no ejaculado não é possível (p. ex. em casos de azoospermia), colhendo-se amostras de tecido testicular através de biópsia, que são posteriormente preparadas e criopreservadas. Quando o jovem assim pretender, as amostras podem ser descongeladas e os

espermatozoides utilizados para fecundação por injeção intracitoplasmática de espermatozoides.⁹

As técnicas para PF em idade pediátrica estão sumarizadas na tabela I.

TABELA I- TÉCNICAS PARA PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE EM IDADE PEDIÁTRICA

	TÉCNICA	GRUPO ETÁRIO
SEXO FEMININO	<p>CRIOPRESERVAÇÃO DE OVÓCITOS</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Estimulação hormonal; 2. Punção folicular; 3. Criopreservação dos ovócitos por vitrificação; 4. Descongelamento e fecundação dos gâmetas preservados com recurso a fertilização <i>in vitro</i> ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides; 5. Transferência dos embriões. 	Raparigas pós púberes.
	<p>CRIOPRESERVAÇÃO DE TECIDO OVÁRICO</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Biópsia ovárica ou ooforectomia unilateral por laparoscopia; 2. Preparação do tecido ovárico, isolando-se fragmentos do córtex para criopreservação; 3. Descongelamento dos fragmentos e transplante ortotópico ou heterotópico. 	Raparigas pré-púberes (única opção); Raparigas pós púberes nas situações em que é indesejável estimulação hormonal e/ou há necessidade de iniciar tratamentos com urgência.
SEXO MASCULINO	<p>CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMA</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Colheita de amostras de esperma por masturbação, biópsia testicular ou eletroejaculação; 2. Criopreservação das amostras; 3. Utilização do esperma para a criação de embriões, por inseminação intrauterina, fertilização <i>in vitro</i> ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides. 	Rapazes pós púberes.
	<p>CRIOPRESERVAÇÃO DE TECIDO TESTICULAR</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Colheita de amostras de tecido testicular através de biópsia; 2. Criopreservação das amostras; 3. Descongelamento das amostras para fecundação por injeção intracitoplasmática de espermatozoides. 	Rapazes pré-púberes (única opção, embora experimental); Rapazes pós púberes nos quais a recolha de espermatozoides no ejaculado não seja possível (p. ex. em casos de azoospermia).

Capítulo II - DOENÇAS HEMATOLÓGICAS BENIGNAS

As doenças hematológicas benignas que mais afetam a fertilidade, quer no sexo feminino, como no sexo masculino, são essencialmente as hemoglobinopatias, como a anemia falciforme e a talassemia major. Neste capítulo será abordado o impacto destas patologias na fertilidade, bem como o impacto do transplante de células estaminais hematopoiéticas, que é o tratamento de eleição nestas condições.¹²⁻¹⁴

II.1 – ANEMIA FALCIFORME

A anemia falciforme ou drepanocitose refere-se a um grupo de hemoglobinopatias caracterizadas por mutações ou supressões em dois genes da β -globina, o que leva à produção de hemoglobina S (HbS). Esta alteração na hemoglobina potencia a modificação da forma do eritrócito, tornando-o em forma de foice, o que dificulta a sua passagem nos vasos sanguíneos. Esta hemoglobinopatia é, assim, caracterizada por anemia hemolítica, disfunção vascular, lesões crónicas de órgãos terminais, e morte precoce devido à obstrução do fluxo sanguíneo provocada pelos drepanócitos.¹⁵

O risco de infertilidade relacionado com a fisiopatologia da doença surge quer por hipogonadismo hipergonadotrófico pelo efeito vaso oclusivo, que induz isquemia a nível das gónadas, como pelo hipogonadismo hipogonadotrófico induzido pelas transfusões crónicas com a deposição de ferro no hipotálamo e na hipófise.¹³ Na mulher, a drepanocitose pode cursar com inflamação crónica e stress oxidativo, que por sua vez podem afetar a capacidade reprodutiva.¹⁶ No homem pode ocorrer um atraso na maturação sexual de um a dois anos.¹³ Adicionalmente a infertilidade também pode ocorrer como resultado de disfunção erétil grave. A vaso oclusão dos corpos cavernosos pode resultar em priapismo e episódios repetidos podem resultar em altas taxas de disfunção erétil.¹⁷ Por fim, a espermatogénese é frequentemente afetada, devido a alterações de níveis normais da hormona folículo-estimulante (FSH), da hormona luteinizante (LH) e testosterona, possivelmente devido ao enfarte testicular.¹³

A disfunção gonadal nestes doentes também está relacionada com a necessidade de terapêutica crónica com terapia transfusional regular, hidroxiureia, anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), e opióides.¹⁶

Relativamente às transfusões de sangue, estas diluem a hemoglobina das células falciformes e assim reduzem a probabilidade das lesões isquémicas. Apesar dos benefícios

claros, as transfusões crônicas conduzem frequentemente à sobrecarga de ferro, que têm impacto direto e indireto na função gonadal. Como impacto direto, verifica-se que a deposição de ferro no hipotálamo, na hipófise e nos órgãos reprodutivos, assim como o stress oxidativo, levam ao hipogonadismo hipogonadotrófico. Os danos na hipófise anterior levam a perturbações nas hormonas gonadotróficas que podem levar a atrasos pubertais.¹³

O uso de AINEs pode ter impacto na fertilidade através da inibição da ciclo-oxigenase 2 com conseqüente redução da síntese de prostaglandinas. As prostaglandinas para além de mediar o processo de inflamação, também têm grande importância no ciclo reprodutivo da mulher, estando envolvidas quer na rotura do folículo como no aumento da permeabilidade vascular do endométrio. Assim, o facto de os AINEs interferirem com a síntese de prostaglandinas, irão ter impacto quer na ovulação, fertilização e implantação. Embora estudos tenham relacionado a ovulação e infertilidade com o uso de AINEs, o impacto do uso crónico de AINEs na reserva ovária e na fertilidade não é bem compreendido.¹⁶

Em relação aos opióides, foi demonstrado que suprimem o eixo hipotálamo-hipófise-gónada através da inibição da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH). De facto, as mulheres têm uma redução de aproximadamente 50% de estradiol e de testosterona, uma redução de 30% nos níveis de gonadotrofinas, e podem apresentar alterações no ciclo menstrual. Também se verifica uma redução da testosterona no sexo masculino, levando a astenozoospermia e teratozoospermia.¹⁸

O tratamento curativo desta doença baseia-se no transplante de células estaminais hematopoiéticas e está recomendado quando os sintomas já não são controlados com medicação ou para aqueles que têm complicações severas. Desta forma, os doentes são expostos a terapias gonadotóxicas, incluindo agentes alquilantes, como a ciclofosfamida e o busulfan, e irradiação corporal total. Estas exposições estão associadas a um risco de até 80% de IOP.¹⁵

A irradiação corporal total pode causar infertilidade por três mecanismos no sexo feminino: alteração do eixo hipotálamo-hipófise, lesão ovária direta, e danos no útero, com diminuição do crescimento e da distensão uterina, danos vasculares, e compromisso da função endometrial.^{16,19} Já no sexo masculino, Sidsel *et al* constataram que o risco de azoospermia aumenta com o aumento da radiação testicular.²⁰

A exposição a regimes gonadotóxicos utilizados para curar a anemia falciforme é a indicação mais clara para PF. É importante referir que a puberdade é também uma consideração relevante, uma vez que o útero pré-púbere pode ser mais sensível à radiação.¹⁹ Assim, técnicas de PF devem ser oferecidas antes da realização do transplante de células estaminais hematopoiéticas.

Os fatores mais importantes que determinam a escolha da técnica para PF no sexo feminino dependem do aparecimento da menarca e da urgência do tratamento gonadotóxico. O transplante de células estaminais hematopoiéticas em hemoglobinopatias geralmente não é urgente e, por esse motivo, aguardar pela primeira menstruação pode permitir o recurso à hiperestimulação ovárica controlada e, conseqüentemente, à criopreservação de ovócitos. No entanto, nas meninas pré-púberes em que a espera pelo tratamento não é viável, por exemplo, devido à gravidade da doença, a criopreservação de tecido ovárico é a única opção.¹³ Nas raparigas pós púberes, quer a criopreservação de tecido ovárico como a de ovócitos são escolhas viáveis, no entanto, importa referir que em 2019, a criopreservação de tecido ovárico tornou-se a opção padrão de PF para pacientes que recebem tratamento gonadotóxico.¹⁹

No sexo masculino, como opções de PF existe a criopreservação de esperma para os rapazes pós-púberes e a criopreservação de tecido testicular naqueles com idade inferior a 13 anos ou pré-púberes.²¹

II.II – TALASSEMIA MAJOR

A talassemia β major é causada por mutações no gene da globina β e resulta da deleção de ambos os genes (β^0/β^0) ou de uma deleção emparelhada com uma mutação que diminui severamente a expressão da globina β .²²

Esta hemoglobinopatia é caracterizada por anemia severa que necessita de transfusões crónicas, sendo a deposição de ferro decorrente destas transfusões o principal causador de alterações na fertilidade e não o mecanismo da doença em si, ao contrário da anemia falciforme. Nos adolescentes, o impacto de acumulação de ferro no hipotálamo, leva ao atraso no desenvolvimento sexual e hipogonadismo hipogonadotrófico.²³ Estima-se que 70% dos rapazes com talassemia major desenvolverá hipogonadismo hipogonadotrófico e mais de 50% das raparigas não atingirão a menarca espontânea.²⁴

Para além da deposição de ferro no hipotálamo e na hipófise, este também se pode acumular nas gónadas e no tecido adiposo, perturbando a produção de leptina, que é uma hormona essencial para o desenvolvimento puberal. Apesar de se verificar que existem altas taxas de oligospermia e azoospermia, a conceção ainda é possível.^{13,25}

Tal como descrito no capítulo anterior, também o tratamento desta hemoglobinopatia se baseia no transplante de células estaminais hematopoiéticas, pelo que, estes jovens têm as mesmas indicações e técnicas anteriormente descritas para PF dado o risco de gonadotoxicidade provocado pelos agentes quimioterapêuticos.

Capítulo III - DOENÇAS AUTOIMUNES

As doenças autoimunes são mais comuns no sexo feminino do que no masculino e as suas consequências na fertilidade dependem sobretudo da idade reprodutiva, sendo a probabilidade de IOP tanto maior quanto mais velha a doente.²⁶ Nos doentes com doenças autoimunes existem vários fatores que influenciam a função reprodutiva. A inflamação crónica interfere com o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, levando à libertação anormal da GnRH, por outro lado, o próprio mecanismo da doença pode ser responsável pela produção de anticorpos que medeiam lesões no tecido ovárico e induzem ooforite autoimune, resultando na diminuição da reserva ovárica.²⁷ Para além destes fatores, existe ainda o impacto das terapêuticas imunossupressoras comumente usadas para tratar estas patologias.

III.I – DOENÇAS DA TIROIDE

As doenças autoimunes da tiroide são as doenças autoimunes mais comuns e afetam cerca de 5% da população em geral, com predomínio no sexo feminino.²⁸ Apesar da sua prevalência atingir o pico na idade adulta, é a causa mais comum de doenças autoimunes adquiridas da tiroide na infância e na adolescência. Neste grupo incluem-se a tiroidite de Hashimoto e a doença de Graves, ambas caracterizadas pela infiltração por linfócitos T e B, que reagem contra os antígenos da tiroide, e pela produção de autoanticorpos da tiroide. A lesão autoimune da glândula é responsável por alterações clínicas e bioquímicas (hipertiroidismo na doença de Graves e hipotiroidismo na tiroidite de Hashimoto).²⁹

A disfunção da tiroide interfere com a função ovárica, pelo que a concentração sérica de hormonas da tiroide é de extrema importância para o bom funcionamento do sistema reprodutor feminino. O epitélio de superfície ovárica contém recetores da hormona estimulante da tiroide (TSH) e da triiodotironina (T3).³⁰ A T3 afeta diretamente as gónadas, por modulação na ação da FSH e da LH, nomeadamente na biossíntese de esteróides.³¹ A zona pelúcida expressa ainda antígenos partilhados pelos tecidos da tiroide, e é, portanto, considerada um alvo de anticorpos da tiroide, tendo-se detetado a presença destes anticorpos em folículos e relacionado a redução da qualidade e potencial de fertilização de ovócitos pela citotoxicidade provocada pelos mesmos.³²

Assim, o hipotiroidismo influencia a função ovárica através da diminuição dos níveis de tiroglobulina e do aumento da secreção de prolactina. A hiperprolactinemia vai interferir na secreção pulsátil da GnRH e causar disfunções ovulatórias por secreção inadequada de progesterona, desencadeando uma fase lútea curta. Para além de provocar tipicamente um

atraso na puberdade, pode também induzir a puberdade precoce, manifestada com aumento testicular nos rapazes, desenvolvimento mamário, e/ou metrorragias nas raparigas.²⁸

Apesar destes efeitos a nível das gónadas, não existem recomendações para PF, a literatura refere apenas que nas mulheres em idade reprodutiva, o hipotireoidismo pode ser revertido através do tratamento com tiroxina, reduzindo a probabilidade de infertilidade.³²

III.II – LÚPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

O lúpus eritematoso sistémico (LES) na infância corresponde a 10% a 20% de todos os casos, é uma doença autoimune grave, crónica e sistémica que tem grande impacto na criança ou no adolescente afetado. Em comparação com o LES no adulto, na idade pediátrica é geralmente caracterizado por um fenótipo clínico mais severo, resultando num tratamento mais agressivo e maior morbimortalidade.³³

O próprio mecanismo da doença, com libertação de citocinas inflamatórias, ativação de células T, produção de autoanticorpos e deposição de complexos imunitários, contribui para a inflamação dos tecidos e danos nos órgãos, incluindo as gónadas, tendo sido descrito ooforite autoimune nestas pacientes.³⁴

O atraso no crescimento e na puberdade são características do LES juvenil, causadas pela atividade da doença a longo prazo mas também pelos efeitos secundários dos fármacos utilizados para tratamento. As crianças em risco de terem a altura e desenvolvimento pubertário afetados são crianças pré e peri-púberes tratadas com uma dose cumulativa superior a 400 mg/kg de corticosteróides. Assim, a dose de corticosteróide administrado ao longo do tempo no LES juvenil, especialmente nestas idades mais jovens, deve ser monitorizada.^{35,36}

No sexo masculino, verificou-se, num estudo prévio realizado por Soares *et al*, a presença de autoanticorpos anti-espermatozóides, anomalias do esperma e volumes testiculares inferiores em comparação com rapazes que não tinham LES e ainda níveis mais elevados de gonadotrofinas, sobretudo naqueles expostos a ciclofosfamida.³⁷ A elevação da FSH foi significativamente associada a astenozoospermia e teratozoospermia, sugerindo que as terapias imunossupressoras contribuem para as anomalias observadas e causam lesões no epitélio dos túbulos seminíferos. Uma meta-análise realizada em crianças e adolescentes sob terapêuticas citotóxicas (principalmente ciclofosfamida) portadoras da síndrome nefrótica sugere que não existe um limiar seguro para a dose de ciclofosfamida oral e que existe um risco acentuado com doses cumulativas de ciclofosfamida superiores a 300 mg/kg.³⁸

No sexo feminino, há risco de anovulação e desregulação menstrual provocadas pela doença ativa, enquanto o atraso na menarca se correlaciona não só com a duração da doença como também com a dose cumulativa de prednisolona utilizada. A função reprodutiva feminina pode estar comprometida pela ooforite autoimune e presença de anticorpos anti-corpo lúteo e anticorpos anti-endométrio, resultando em IOP. No entanto, a diminuição da reserva ovárica no LES juvenil é mais comum após exposição a fármacos alquilantes, particularmente a ciclofosfamida, enquanto com outros medicamentos imunossupressores, como a azatioprina, não parece haver maior probabilidade de IOP. É de notar que a IOP após terapia com ciclofosfamida aumenta com a idade do doente e com a dose cumulativa utilizada para o tratamento.³⁸

A PF está indicada para todos os que têm doenças sistémicas em qualquer fase de progressão e antes de serem tratados com fármacos citotóxicos.³⁸ Nos rapazes pós púberes, está preconizada a criopreservação de esperma e para os pré-púberes a criopreservação do tecido testicular.³⁸ As raparigas, por outro lado, para além da criopreservação de tecido ovárico e da criopreservação de ovócitos, têm também como opção o tratamento com agonistas da GnRH.³⁹ Os elevados níveis de estrogénio e de progesterona podem agravar o LES, pelo que a estimulação ovárica não é considerada um procedimento seguro nestas doentes no caso de doença ativa⁴⁰ e, portanto, deve optar-se por uma terapia de combinação mensal com agonistas da GnRH.⁴¹ Se o tratamento tiver de iniciar rapidamente ou se a doente não puder submeter-se a procedimentos mais invasivos, pode-se recorrer à supressão ovárica com agonistas da GnRH, como o leuprolide, que leva a uma diminuição de LH e FSH.⁴²

Segundo as *guidelines* da *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE), a eficácia e a segurança da administração dos agonistas de GnRH como estratégia para proteção ovárica foi investigada através de estudos realizados por Marder *et al* em mulheres com doenças autoimunes sob tratamento com ciclofosfamida. Confirmaram-se níveis de hormona antimulleriana (HAM) mais elevados nas que, sob ciclofosfamida, fizeram tratamento com os agonistas da GnRH.^{43,44}

Wen Li *et al* sugerem que doentes com risco intermédio a alto de IOP e sob tratamento gonadotóxico com duração inferior a uma semana devem realizar terapêutica com agonistas da GnRH. Por outro lado, se puderem aguardar uma semana pelo tratamento, devem realizar criopreservação do tecido ovárico, no entanto, se puderem aguardar mais de duas semanas pelo tratamento com fármacos gonadotóxicos deve proceder-se à criopreservação de ovócitos.⁴⁵

III.III – OUTRAS DOENÇAS AUTOIMUNES

Além do LES, outras doenças reumáticas, como a artrite reumatóide, esclerose sistêmica, glomerulonefrites mediadas por complexos imunes, miopatias inflamatórias, síndrome de Sjögren e vasculite sistêmica, bem como a esclerose múltipla, requerem tratamento com fármacos gonadotóxicos.

É de realçar que os fármacos tipicamente usados estão associados a uma diminuição da capacidade reprodutiva, nomeadamente a ciclofosfamida, mitoxantrona e AINEs.⁴⁵ A maioria das conclusões sobre o impacto das terapêuticas antirreumáticas gerais na fertilidade derivam de estudos observacionais sem grupo de controlo e, para alguns fármacos, só estão disponíveis estudos com animais.⁴¹

Como já referido anteriormente, a ciclofosfamida tem impacto gonadotóxico com elevado risco de IOP.³⁰ Os seus efeitos gonadotóxicos são permanentes e estão relacionados com a dose total, a idade de exposição e a duração do tratamento. Uma dose total superior a 10g representa um risco acrescido de IOP.⁴¹ O seu efeito tóxico é potenciado pela diminuição dos níveis séricos de estradiol, que leva ao aumento dos níveis da FSH e da LH e uma redução da HAM. A HAM é o marcador da função ovárica serológico mais fiável, devido aos seus níveis constantes ao longo do ciclo menstrual, da maior sensibilidade aquando de disfunção ovárica e da melhor correlação com os folículos primordiais. Histologicamente também se constata que a ciclofosfamida conduz a uma destruição dos folículos ováricos e a fibrose das áreas intersticiais.^{46,47}

O impacto dos AINEs na capacidade reprodutiva foi também já referido no capítulo II, sendo a infertilidade induzida pelos mesmos transitória e reversível, não provocando a diminuição da reserva ovárica.⁴¹

A mitoxantrona é um fármaco de segunda linha usado na esclerose múltipla avançada e com recidivas que não responde a terapêutica com interferão β nem com acetato de glatiramer. Estudos prospetivos concluíram que uma das consequências a longo prazo foi o desenvolvimento de amenorreia persistente.⁴⁷

A *Tripterygium wilfordii* é uma erva chinesa atualmente utilizada para tratar grande variedade de doenças inflamatórias e autoimunes⁴⁸, no entanto, pode causar distúrbios da menstruação e até mesmo amenorreia, quer por inibição da função ovárica quer por inibição da função endócrina.⁴⁵

A função ovárica deve ser monitorizada regularmente durante o tratamento com estes fármacos, de forma a proporcionar medidas de proteção e preservação atempadas. É de extrema importância avaliar o risco e benefício de cada doente com doenças autoimunes

antes de oferecer qualquer procedimento invasivo para PF. Estes procedimentos não são, geralmente, recomendados durante a fase aguda da doença, especialmente se lesões vasculares e/ou orgânicas graves estiverem presentes (por exemplo, glomerulonefrite, hipertensão pulmonar, isquemia).⁴⁷

Capítulo IV - PATOLOGIAS DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO

As doenças ginecológicas benignas mais comuns em idade pediátrica que têm indicação para PF são os tumores benignos do ovário, a torção ovárica e a endometriose.

IV.I TUMORES BENIGNOS DO OVÁRIO e TORÇÃO DO OVÁRIO

A maioria dos tumores benignos do ovário corresponde a formações quísticas funcionais que regridem espontaneamente, sem necessitar de intervenção terapêutica.¹⁰

Os tumores sólidos do ovário são diagnosticados mais raramente. Destes, os mais frequentes são os quistos dermóides ou teratomas quísticos maduros, que correspondem a 60% dos tumores ováricos benignos.¹⁰ Importa realçar que os tumores ováricos constituem apenas 1% de todos os tumores infantis⁴⁹, no entanto, os teratomas ováricos são os mais frequentes neste grupo etário. O tratamento dos teratomas depende do tamanho, dos sintomas associados e do risco cirúrgico e de malignidade. Apesar da evolução para malignidade ser rara, a excisão cirúrgica deverá ser ponderada devido ao risco acrescido de torção ovárica ou rotura.¹⁰

A torção anexial é rara, mas representa 2,7% dos casos de dor abdominal nas crianças e adolescentes e é a quinta emergência ginecológica mais comum.^{50,51} A torção anexial em crianças e adolescentes representa aproximadamente 15% de todos os casos de torção. Embora possa ocorrer em qualquer idade pediátrica, 52% dos casos de torção em crianças ocorrem entre os 9 e os 14 anos de idade. A torção anexial envolve a torção quer das trompas de Falópio como dos ovários, que se reflete numa diminuição do fluxo sanguíneo. A torção anexial é mais comum do que a torção ovárica isolada, estando presente em cerca de 67% dos casos de torção. A torção é mais comum do lado direito, devido à hipermobilidade do cego e do íleo e ao facto da mesossalpinge e do ligamento útero-ovárico serem ligeiramente mais longos do lado direito, o que favorece uma maior mobilidade e justifica a maior propensão a torção anexial nesta faixa etária.⁵¹

Aproximadamente 51% a 84% dos casos de torção anexial em idade pediátrica ocorre devido a tumores benignos, incluindo teratomas (31%), quistos foliculares ou hemorrágicos dos ovários (23%-33%), e menos frequentemente, cistadenomas ou hidrossalpinge. O risco de torção anexial aumenta quando a massa é benigna e o tamanho é igual ou superior a 5cm.⁵² Contudo, a torção do ovário também pode ocorrer num ovário normal, por laxidez ligamentar ou, mais frequente, por alterações da pressão intra-abdominal na pré-puberdade.⁵³

Apesar de não haver um *gold standard* para avaliar a viabilidade do ovário e escolher entre cirurgia conservadora ou cirurgia radical, em casos de torção ovárica pode-se tentar preservar os ovários que não tenham complicações clínicas graves, como infeção abdominal ou doenças trombóticas.⁵⁴ O impacto na função ovárica deve-se essencialmente a cirurgias realizadas por tumores bilaterais e/ou recorrentes ou por cirurgias secundárias a torção ovárica com diagnóstico tardio.

Neste contexto, a cirurgia conservadora com resolução da torção é essencial para PF devido à elevada taxa de recuperação da função ovárica, especialmente na idade pediátrica e deve ser associada à remoção imediata ou subsequente do tumor de forma a prevenir a recorrência.⁵⁵

As técnicas de PF para os tumores benignos do ovário e para a torção ovárica devem ser consideradas quando há necessidade de cirurgia ovárica bilateral; cirurgias ou torções bilaterais ou contralaterais repetidas; anexectomia unilateral por suspeita de tumor maligno ou por ovário necrótico secundário a torção com duração prolongada com ovário único residual.^{56,2}

É importante considerar que estas pacientes têm má resposta à estimulação ovárica devido à baixa reserva ovárica que apresentam, secundária à patologia ou à cirurgia prévia. As técnicas de PF disponíveis para estas pacientes em idade fértil são a criopreservação de ovócitos e para as adolescentes pré-púberes a única técnica disponível é a criopreservação do tecido ovárico. Esta também pode ser aplicada na mulher em idade fértil através do tecido ovárico saudável removido concomitantemente com a remoção dos tumores benignos.⁵⁷

IV.II ENDOMETRIOSE

A endometriose é uma doença crónica que consiste na presença de glândulas endometriais e estroma fora da cavidade uterina.⁵⁸ Cerca de 25 a 50% das mulheres com infertilidade podem apresentar endometriose e 30 a 50% das mulheres com endometriose têm infertilidade.⁵⁸ A prevalência nas mulheres em idade reprodutiva é de cerca de 6 a 10%, sendo

desconhecida em adolescentes. Nestas, os locais mais comuns de endometriose são o peritoneu e a superfície ovárica.⁵⁹

A patogênese da endometriose não está estabelecida, mas as teorias mais aceites baseiam-se na menstruação retrógrada, disseminação sanguínea e linfática, metaplasia do epitélio celómico e de origem em células estaminais. Os depósitos ectópicos provocam uma resposta inflamatória local, acompanhada de angiogénese, aderências, fibrose, infiltração neuronal, e distorção anatómica. As principais manifestações clínicas são a dor e a infertilidade.⁷ Aproximadamente 2/3 das mulheres com endometriose apresentam sintomas antes dos 20 anos de idade.⁶⁰

Esta doença ginecológica tem impacto na foliculogénese, reduz a qualidade dos ovócitos e a reserva ovárica, afeta a função da trompa devido a aderências pélvicas e distorção tubária, altera o transporte dos gâmetas e/ou a recetividade endometrial, mantendo um ambiente inflamatório intraperitoneal.⁵⁸ A presença de endometriose ovárica parece danificar a reserva ovárica ao expor tecido ovárico saudável ao stress oxidativo e a um ambiente inflamatório que reduz o *pool* de folículos primordiais.⁶¹

O tratamento de primeira linha inclui analgesia e terapia hormonal. A endometriose é uma doença estrogénio-dependente e a maioria das terapias têm como objetivo suprimir a função ovárica.⁶⁰

Os benefícios da PF devem ser avaliados de acordo com a gravidade e localização da doença, o tipo de cirurgia previamente realizada, recidiva, e envolvimento ovárico ou peritoneal. Entre 17% e 44% das doentes com endometriose têm quistos ováricos (endometriomas), que são bilaterais em cerca de 19-28% dos casos.⁶² É recomendado que os endometriomas com mais de 4 cm sejam ressecados cirurgicamente e, durante a cirurgia, a resseção do tecido ovárico normal à volta dos quistos deve ser evitada tanto quanto possível.⁴⁵ A redução da reserva ovárica após cirurgia para resseção de endometriomas é inevitável, independentemente da técnica. Tanto as abordagens de excisão como de ablação levam a uma diminuição pós-cirúrgica de até 60% dos níveis da HAM. No entanto, quando comparadas as duas técnicas, verifica-se uma maior diminuição após a excisão (cistectomia), uma vez que o tecido ovárico saudável pode ser removido involuntariamente, resultando na perda de folículos. Isto justifica o motivo pelo qual a reserva ovárica é mais bem preservada pela ablação do que pela cistectomia.⁶³

Assim, a PF é recomendada nas mulheres jovens com envolvimento ovárico bilateral, que tenham recidiva contralateral após cirurgia, que apresentem endometriomas no ovário contralateral após ooforectomia ou que tenham endometriose profunda infiltrativa.⁶¹

A PF é recomendada em doentes com idade inferior a 35 anos e boa reserva ovárica (avaliada pela concentração sérica de AMH superior a 1,0 mg/L). A criopreservação de ovócitos após estimulação ovárica é a técnica mais apropriada⁴⁵, no entanto, a criopreservação de tecido ovárico é geralmente oferecida quando não é possível realizar estimulação ovárica e em casos de ooforectomia obrigatória, uma vez que esta técnica pode agravar a reserva ovárica se o córtex ovárico saudável for ressecado do ovário restante.⁶¹

Capítulo V - DOENÇAS GENÉTICAS

As doenças genéticas são responsáveis por 10% das causas de IOP.⁶⁴ Neste capítulo são abordadas as doenças mais comumente relacionadas com IOP, nomeadamente a síndrome de Turner, a síndrome de Klinefelter, a síndrome do X frágil e, por fim, a galactosémia.

V.I - SÍNDROME DE KLINEFELTER

A síndrome de Klinefelter corresponde ao cariótipo 47, XXY e representa a anomalia cromossómica mais prevalente no sexo masculino. Esta é a anomalia mais comumente diagnosticada em homens inférteis e cerca de 10% dos homens com azoospermia possuem este cariótipo.⁶⁵ Estes doentes apresentam clinicamente testículos pequenos hialinizados, ginecomastia e azoospermia, gonadotrofinas elevadas e testosterona baixa.⁶⁶ O diagnóstico quando é feito durante a infância é geralmente na sequência de problemas cognitivos e/ou comportamentais.⁶⁷

Já na adolescência os sinais clínicos, nomeadamente, testículos pequenos e/ou hipogonadismo sintomático, são indicadores que levam ao diagnóstico. O tecido testicular dos doentes com síndrome de Klinefelter evidencia depleção das células germinativas antes da puberdade e hialinização dos túbulos seminíferos, hiperplasia das células de Leydig e fibrose extensa após a puberdade. Esta degeneração testicular progressiva resulta na regressão do volume testicular, no aumento das concentrações séricas de FSH e na diminuição das concentrações séricas de inibina B e de HAM.^{68,69}

No início da puberdade, os níveis de LH e FSH sobem acima dos níveis normais, enquanto os níveis de testosterona diminuem, contudo, os níveis de testosterona podem ainda estar dentro do valor normal em até 60% dos pacientes com síndrome de Klinefelter durante a puberdade. Desta forma, a terapia de reposição com testosterona não é necessária para a

indução da puberdade, mas é muitas vezes iniciada na presença de sinais de hipogonadismo ou após demonstração do déficit de testosterona.⁶⁵

A gestão adequada destes adolescentes continua a ser controversa, particularmente no que diz respeito à terapia de reposição com testosterona e PF, pois os mecanismos subjacentes à perturbação do desenvolvimento gonadal e da espermatogénese continuam por descobrir.⁷⁰

Existem dados limitados sobre o momento e as técnicas ideais para PF nestes rapazes. Dada a depleção de células germinativas, muitos especialistas defendem a criopreservação de esperma ou tecido testicular no início da puberdade, e até mesmo a realização de microTESE (*Microsurgical Testicular Sperm Extraction*) antes de iniciar a suplementação com testosterona.⁷⁰

No entanto, outros autores sugeriram que a cirurgia para extração de esperma dos túbulos seminíferos pode não ser necessária e que o esperma ejaculado pode ser suficiente para a criopreservação, especialmente no Síndrome de Klinefelter sem mosaicismo. Em contexto pediátrico, a presença de espermatozoides no ejaculado pode depender de vários fatores incluindo o nível de maturação sexual, tratamento hormonal prévio, e mosaicismo genético. Outro argumento importante contra a realização da colheita de espermatozoides em idade pediátrica é o potencial dano testicular, nomeadamente, a subsequente perda do parênquima testicular e o declínio da função das células de Leydig no pós-operatório.⁶⁵

A preservação do tecido testicular deve ser idealmente realizada antes da hialinização, mas é importante referir que mesmo no período pré-púbere apenas cerca de 50% destes adolescentes terá células germinativas. Atualmente não existe consenso quanto à idade ideal para a tentativa de colheita de espermatozoides. Enquanto alguns dados mostraram que o aumento da idade pode ter um impacto negativo na colheita de espermatozoides, outros não encontraram qualquer diferença entre os resultados da *Testicular Sperm Extraction* em idades entre os 15 e os 33 anos de idade.⁷⁰

V.II - SÍNDROME DE TURNER

A síndrome de Turner é a anomalia cromossómica mais comum nas mulheres e caracteriza-se pela ausência total ou parcial de um cromossoma X. Das doentes afetadas, cerca de 50% têm uma monossomia para o cromossoma X (45,X), 20 a 30% apresenta mosaicismo (45,X/46,XX) e as restantes apresentam anomalias estruturais do cromossoma X.⁷¹

O fenótipo clínico é extremamente variável e depende também do genótipo, mas na sua forma típica, caracteriza-se por estatura baixa, morfologia facial e corporal característica (tórax largo, aumento da distância intermamilar com mamilos hipoplásicos, *cubitus valgus*, unhas hiperconvexas, pescoço curto e/ou alado, micrognatia, baixa implantação do cabelo na nuca, orelhas proeminentes e de implantação baixa, estrabismo e ptose palpebral), anomalias cardiovasculares e renais, possíveis alterações oculares e auditivas, e disgenesia gonadal.⁷² A consequente falta de esteróides sexuais pode ser expressa com diferentes graus de severidade, que vão desde a baixa reserva ovárica associada à infertilidade, até à IOP associada a uma puberdade tardia e amenorreia secundária ou a amenorreia primária.⁶⁴

A puberdade espontânea ocorre em 10 a 30% destas doentes, apenas 5 a 10% têm ciclos regulares após a menarca e a probabilidade de gravidez espontânea é descrita em 2 a 10%. A puberdade espontânea, menarca e gravidez são mais prováveis em doentes com um cariótipo em mosaico. Por outro lado, na monossomia X clássica completa, é frequentemente observada amenorreia primária, devido à degeneração de todos os folículos antes da puberdade.⁷³

A doação de ovócitos tem sido considerada a melhor hipótese de gravidez em doentes com síndrome de Turner. Devido ao desaparecimento precoce dos folículos ováricos, a PF é especialmente indicada na adolescência ou mesmo na infância, quando há maior probabilidade de reserva folicular nos ovários.⁷⁴

Para eleger a técnica mais adequada de PF, é necessário avaliar o cariótipo da doente, o desenvolvimento ou não da puberdade espontânea e menarca, e a função ovárica remanescente. No cariótipo monossómico, a técnica recomendada é a criopreservação de tecido ovárico.⁷⁴

Nos casos de mosaicismo, é preciso ter em conta o momento da puberdade e o doseamento da HAM. Oktay *et al* desenvolveram um algoritmo para a intervenção precoce antes do esgotamento da reserva ovárica, que requer uma avaliação inicial da reserva ovárica, incluindo o doseamento sérico da HAM.⁷⁵

Nas raparigas pré-púberes, se a reserva ovárica parecer adequada à idade e os níveis séricos de HAM forem superiores a 2 ng/mL, deve monitorizar-se periodicamente a concentração de sérica desta hormona. Se os níveis da hormona não mostrarem um declínio significativo, considera-se a criopreservação de ovócitos na idade apropriada. Se os níveis de HAM mostrarem um declínio acelerado em doentes antes da puberdade, recomenda-se a criopreservação de tecido ovárico combinada com a criopreservação dos ovócitos aspirados dos pequenos folículos antrais presentes no tecido.⁷⁵

Nas raparigas pós-púberes, sugere-se a criopreservação de ovócitos independentemente dos níveis de HAM, porque o risco de diminuição da reserva ovárica e IOP é extremamente elevado. Se a reserva ovárica for suficientemente elevada, podemos também considerar a criopreservação de tecido ovárico como suplemento à criopreservação de ovócitos, caso se deseje especificamente com o ulterior transplante repor a função endócrina ou possibilitar a conceção espontânea.⁷⁵

V.III - SINDROME DE X FRÁGIL

A premutação FMR1 (*Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1*) consiste na repetição de 55 a 200 cópias de tripletos de CGG na região 5' UTR do gene FMR1 do cromossoma X. A presença de mais de 200 repetições de CGG define a mutação completa, resultando na síndrome do X frágil.⁷⁶ Esta é uma doença autossómica dominante ligada ao X, pelo que, segue as regras tradicionais da herança ligada ao X: metade da descendência das mães portadoras receberá a mutação, relativamente aos pais portadores todas as filhas receberão a mutação e nenhum filho receberá. No entanto, o risco de expansão dos tripletos CGG de pré-mutação para mutação total sobrepõe-se ao padrão de transmissão. A expansão da pré-mutação para a mutação total durante a transmissão através de uma mulher portadora é correlacionada com o tamanho da repetição, sendo que, o menor número de repetições para expandir para uma mutação completa numa geração é 59 repetições.⁷⁷

Esta mutação no cromossoma X está associada ao risco de diminuição da função ovárica e subsequente IOP, associada a perda precoce da fertilidade em 20% das mulheres portadoras, por redução do número de folículos nos ovários. É a causa genética mais comum de insuficiência ovárica, sendo responsável por 4-6% destes casos.⁷⁸ O mecanismo fisiopatológico exato subjacente à IOP é atualmente desconhecido, embora se sugira que possa ser causado por um efeito tóxico de RNA.⁷⁹

A pré-mutação FMR1 representa uma condição particular porque, embora a probabilidade de diminuição da função ovárica seja maior nas mulheres pré-mutadas, a maioria delas pode conceber espontaneamente.⁷⁴ Os primeiros indícios clínicos para o comprometimento da função ovárica podem ser encontrados durante a adolescência quando cerca de 3% das portadoras da pré-mutação apresentam ciclos menstruais irregulares.⁸⁰

O diagnóstico precoce pode ser feito através de história familiar positiva para pré-mutação. Neste caso, sugere-se acompanhamento destas adolescentes e monitorização da reserva ovárica, a fim de as informar sobre a possibilidade de PF e, se desejado, encaminhamento para um especialista em reprodução. A criopreservação de ovócitos pode

ser oferecida para PF em raparigas pós púberes⁸¹ apesar da falta de dados sobre os resultados nesta população.⁷⁴

Os poucos estudos disponíveis sugerem uma diminuição da resposta aos procedimentos de estimulação ovárica controlada nas portadoras da pré-mutação. Alguns autores relacionam o número de ovócitos recuperados com o número de repetições de CGG, com um nadir da resposta ovárica no intervalo de 80-120 repetições.⁷⁴

V.IV - GALACTOSÉMIA

A galactosémia é uma doença genética autossómica recessiva que afeta enzimas necessárias ao metabolismo da galactose. A enzima mais frequentemente alterada na galactosemia clássica é a galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT). O défice completo ou a redução severa da atividade da GALT provoca concentrações séricas elevadas da FSH e baixas concentrações da HAM, refletindo uma diminuição da reserva ovárica em mulheres jovens.⁸²

O tratamento da galactosémia inclui uma dieta com restrição de galactose para evitar a exposição ao açúcar. Isto resulta na redução, mas não na normalização dos metabolitos que se acumulam inadequadamente devido à deficiência da enzima GALT.⁸³

Estudos realizados por Hagen-Lillevik *et al* sugerem que crianças do sexo feminino têm ovários de aparência normal ao nascimento, mas que se vão deteriorando com o tempo.⁸³ Estima-se que até 80 a 100% das raparigas diagnosticadas com galactosémia clássica irá sofrer IOP, por uma redução inicial do *pool* de folículos primordiais ou por um esgotamento acelerado da reserva folicular primordial.⁸²

Os mecanismos subjacentes à IOP induzida pela galactosémia são ainda desconhecidos, no entanto há várias hipóteses fisiopatológicas que tentam justificar a insuficiência ovárica, nomeadamente: a apoptose de ovócitos e/ou de células do estroma ovárico pela galactose 1-fosfato e pelo galactitol ou pelos próprios metabolitos de galactose; a deficiência da difosfato de uridina galactose em ovócitos e/ou células do estroma ovárico que resulta na morte celular e na sua destruição progressiva; a função anormal da FSH e/ou do seu recetor secundários a anomalias na glicosilação e, por fim, mecanismos epigenéticos que afetam o desenvolvimento folicular.⁸⁴

A apresentação clínica pode manifestar-se com atraso ou ausência da puberdade, primária ou secundária, amenorreia, oligomenorreia ou infertilidade.⁸⁴

Nas doentes com galactosémia, Hagen-Lillevik *et al* propõem que antes dos 11 anos poderá ser considerada a avaliação da reserva ovárica, mas que as técnicas de PF devem ser enquadradas em protocolos de investigação. Propõem também o rastreio de IOP, através do doseamento de FSH e estradiol, se ausência de desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários aos 12 anos ou se se verificarem menstruações irregulares aos 14 anos. Dos 12 aos 14 anos deve monitorizar-se o desenvolvimento dos caracteres sexuais e da menarca e, caso se diagnostique IOP, devem-se iniciar técnicas de PF. Após os 14 anos deve realizar-se o doseamento de FSH se houver qualquer alteração nos ciclos menstruais ou sintomas de IOP e, caso se verifique IOP, as adolescentes devem ser aconselhadas a preservar a sua capacidade reprodutiva.^{83,84}

Uma vez que esta doença tem elevado risco de IOP, é comum que estas pacientes pretendam realizar técnicas para PF, geralmente antes do início de IOP. Atualmente, não existem recomendações para preservação do potencial reprodutivo neste grupo como prática comum. Uma das razões baseia-se no facto da fisiopatologia da IOP induzida pela galactosémia ainda não estar efetivamente estabelecida, assim como, a altura exata em que a reserva ovárica diminui, pelo que, torna-se difícil saber quando oferecer técnicas de PF.⁸³

Segundo as *guidelines* da ESHRE, a criopreservação de tecido ovárico é oferecida a pacientes jovens com distúrbios genéticos quando há um risco associado a IOP, como na galactosémia. Dada a ausência de dados sobre a segurança ou eficácia deste procedimento nestas doentes, a criopreservação de tecido ovárico não é realizada para tentar restabelecer a fertilidade destas jovens, mas deve ser oferecida dentro de um protocolo de pesquisa clínica que requer uma abordagem multidisciplinar, incluindo aconselhamento genético, dado o risco de transmissão da doença à descendência.⁴³

Thakur *et al* sugerem que os médicos devem salientar que as gravidezes espontâneas podem ocorrer em mulheres com galactosémia clássica, mesmo após o diagnóstico de IOP, embora sejam imprevisíveis e que, se a PF for desejada, a discussão deve ocorrer cedo para discutir todas as opções.⁸⁴

Em doentes com IOP induzida por galactosémia clássica, há a preocupação de que os danos nos ovários já sejam evidentes e ao realizar criopreservação do tecido ovárico esse tecido seja inviável, o que contribuiria ainda mais para a diminuição da reserva ovárica numa população com alto risco de IOP com possibilidade de conceção espontânea.⁷⁴ O risco de a doença subjacente afetar a viabilidade do enxerto de tecido ovárico e o período de função ovárica após o transplante em doentes com galactosémia não pode ser estimado. Embora a viabilidade do tecido ovárico possa ser curta, devido à possível influência negativa da situação metabólica na galactosémia, se este for viável durante 6 a 12 meses, este período poderá ser suficiente para o amadurecimento dos folículos que, depois, poderão ser utilizados para

reprodução medicamente assistida.⁸² Quanto maior for a reserva folicular, maiores são as hipóteses de sucesso, daí que seja recomendado que a preservação ocorra o mais cedo possível. É importante notar que a criopreservação de tecido ovárico neste grupo particular é experimental e o benefício do método é desconhecido, sendo necessário realizar mais estudos nesta área.⁸³

No sexo masculino, num estudo realizado por Gubbels *et al* foram examinados parâmetros reprodutivos, tendo-se identificado anomalias. A prevalência de criptorquidismo e a diminuição do volume de esperma foi maior naqueles que têm galactosémia quando comparados com a população em geral. A diminuição dos níveis de testosterona, dos níveis de inibina B e da contagem de esperma pode indicar defeitos ligeiros na função das células de Sertoli e Leydig, mas não prediz infertilidade severa, sendo necessários mais estudos de acompanhamento para determinar melhor as consequências clínicas destas anomalias.⁸⁵

Os efeitos da galactosémia clássica no sistema reprodutor masculino parecem menos óbvios do que os efeitos amplamente descritos nos ovários. Uma explicação sugerida baseia-se na resistência dos testículos aos metabolitos da galactose, verificando-se níveis de mRNA da GALT muito mais baixos nos testículos.⁸⁶

CONCLUSÃO

Muitas destas doenças descritas e tratamentos oferecidos têm impacto no desenvolvimento normal da puberdade bem como no potencial reprodutivo destas crianças. A necessidade de preservar a fertilidade deve ser discutida com todos os pacientes e familiares, devendo ter-se em consideração a doença em causa, o histórico de tratamento e o tratamento futuro. A preparação para PF deve incluir uma abordagem multidisciplinar para otimizar os resultados e reduzir os riscos dos procedimentos médicos e cirúrgicos. É importante acompanhar as adolescentes e monitorizar a reserva ovárica, a fim de as informar sobre a possibilidade de preservar a fertilidade e, se desejado, encaminhá-las para um especialista em reprodução.

Em idades pré-púberes ou com urgência em iniciar as terapêuticas gonadotóxicas, a criopreservação de tecido ovárico ou de tecido testicular são as técnicas atualmente recomendadas e disponíveis. Após a puberdade, a criopreservação de ovócitos ou de esperma são as técnicas mais instituídas.

Apesar destas opções para PF, é muitas vezes difícil para uma criança ou adolescente tomar uma decisão informada sobre a fertilidade futura que, devido à imaturidade para perceber estes assuntos, pode ainda parecer abstrata. Assim, estas questões devem ser precocemente abordadas pelos médicos responsáveis junto das famílias, de forma a assegurar o sucesso da função reprodutiva nestas idades pediátricas.

As indicações para PF em patologias não oncológicas e em idade pediátrica estão sumarizadas na tabela II.

TABELA II-INDICAÇÕES PARA PF EM PATOLOGIAS NÃO ONCOLÓGICAS EM IDADE PEDIÁTRICA

	PATOLOGIA	CAUSAS DE INFERTILIDADE	TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE
DOENÇAS HEMATOLOGICAS BENIGNAS	ANEMIA FALCIFORME	Efeito vaso oclusivo; Transfusões crônicas; Transplante de células estaminais hematopoiéticas.	Criopreservação de ovócitos (raparigas pós púberes) Criopreservação de tecido ovárico (raparigas pré-púberes e pós púberes) Criopreservação de esperma (rapazes pós púberes) Criopreservação de tecido testicular (rapazes pré-púberes)
	TALASSEMIA MAJOR	Transfusões crônicas; Transplante de células estaminais hematopoiéticas.	Criopreservação de ovócitos (raparigas pós púberes) Criopreservação de tecido ovárico (raparigas pré-púberes e pós púberes) Criopreservação de esperma (rapazes pós púberes) Criopreservação de tecido testicular (rapazes pré-púberes)
DOENÇAS AUTOIMUNES	DOENÇAS DA TIROIDE	Presença de anticorpos da tiroide na zona pelúcida que afetam a fertilização de ovócitos; Disfunção na liberação de hormonas.	Não existem recomendações para PF.
	LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO	Ooferite autoimune; Atraso na puberdade; Tratamento com corticosteróides e ciclofosfamida.	Criopreservação de ovócitos (se doença inativa) Criopreservação de tecido ovárico (raparigas pré-púberes e pós púberes) Agonistas da GnRH (raparigas) Criopreservação de esperma (rapazes pós púberes) Criopreservação de tecido testicular (rapazes pré-púberes)
PATOLOGIAS DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO	TUMORES BENIGNOS DO OVÁRIO e TORÇÃO DO OVÁRIO	Cirurgias recorrentes.	Criopreservação de ovócitos (raparigas pós púberes, apesar da má resposta à estimulação ovárica) Criopreservação de tecido ovárico (raparigas pré-púberes e pós púberes)
	ENDOMETRIOSE	Estado inflamatório persistente; Adesões pélvicas; Distorção tubária;	Criopreservação de ovócitos (raparigas pós púberes; é a técnica mais apropriada) Criopreservação de tecido ovárico (quando não é possível realizar estimulação ovárica ou ooforectomia obrigatória).
DOENÇAS GENÉTICAS	SÍNDROME KLINEFELTER	Degeneração testicular; Depleção de células germinativas;	Criopreservação de esperma; Criopreservação de tecido testicular no início da puberdade; MicroTESE.
	SÍNDROME DE TURNER	Degeneração folicular; Amenorreia primária.	Criopreservação de tecido ovárico se HAM<2ng/ml em raparigas pré-púberes; Criopreservação de ovócitos em raparigas pós púberes independentemente dos níveis de HAM.
	SÍNDROME DO X FRÁGIL	Diminuição da função ovárica; Diminuição do número de folículos dos ovários.	Poucos estudos realizados até à atualidade, mas em raparigas pós púberes pode recorrer-se à criopreservação de ovócitos.
	GALACTOSÉMIA	Diminuição dos folículos primordiais; Criptorquidismo e diminuição do volume do esperma.	Não existem recomendações para PF como prática comum.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Teresa Almeida Santos e à Doutora Ana Sofia Pais, pela paciência, disponibilidade e apoio constantes ao longo deste trabalho, mas sobretudo, por me terem transmitido o entusiasmo de concretizar algo de que realmente se gosta.

Aos meus pais, irmã e avós, os meus maiores exemplos de resiliência, força e dedicação, que sempre me motivaram a seguir os meus sonhos, ampararam nas múltiplas quedas e festejaram todas as vitórias, o meu maior suporte.

Às minhas amigas que me acompanham desde sempre, às da faculdade, com especial agradecimento à Catarina, à Inês e à Mariana, por todo o carinho desde o início, por me mostrarem inúmeras vezes do que sou capaz e nunca me deixarem desistir.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Denton J., Dunn C., Norton W., Wright E. Fertility Preservation: RCN guidance for nursing staff. London: Royal College of Nursing, 20 Cavendish Square, London, W1G 0RN; 2021.
2. Yasmin E, Balachandren N, Davies MC, Jones GL, Lane S, Mathur R, et al. Fertility preservation for medical reasons in girls and women: British fertility society policy and practice guideline. *Hum Fertil.* 2018 Jan 3;21(1):3–26.
3. Martinez F, Andersen CY, Barri PN, Brannigan R, Cobo A, Donnez J, et al. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation–ESHRE–ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives. In: *Fertility and Sterility.* Elsevier Inc.; 2017. p. 407-415.e11.
4. Burns K, Breech L. Setting Up a Pediatric Oncofertility Practice. In: Woodruff TK, Gosiengfiao YC, editors. *Pediatric and Adolescent Oncofertility: Best Practices and Emerging Technologies [Internet].* Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 231–41.
5. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2019 Dec 1;112(6):1022–33.
6. Management of women with premature ovarian insufficiency Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology 2 Disclaimer. 2015.
7. Petraglia F, Fauser BC. Female Reproductive Dysfunction [Internet].
8. Spath MA, Braat DDM. Iatrogenic and non-iatrogenic causes of female fertility loss that may indicate fertility preservation. Vol. 98, *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica.* Wiley-Blackwell; 2019. p. 559–62.
9. Almeida Santos AT., Miranda da Silva C. *Preservação da Fertilidade em Doentes Oncológicos.* 1ª Edição. 2015.
10. Areia AL, Neves AR, Pais AS, Rodrigues A, Vieira DN, Sousa FC, et al. *Lições de Ginecologia.* Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra; 2020.
11. Johnson EK, Finlayson C, Rowell EE, Gosiengfiao Y, Pavone ME, Lockart B, et al. Fertility Preservation for Pediatric Patients: Current State and Future Possibilities. Vol. 198, *Journal of Urology.* Elsevier Inc.; 2017. p. 186–94.

12. Forgeard N, Jestin M, Vexiau D, Chevillon F, Ricadat E, Peffault de Latour R, et al. Sexuality- and Fertility-Related Issues in Women after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2021 May 1;27(5):432.e1-432.e6.
13. Bedrick BS, Kohn TP, Pecker LH, Christianson MS. Fertility preservation for pediatric patients with hemoglobinopathies: Multidisciplinary counseling needed to optimize outcomes. Vol. 13, *Frontiers in Endocrinology.* Frontiers Media S.A.; 2022.
14. Ho C, Zacharin M. Fertility preservation in an adolescent boy: Inducing puberty and spermatogenesis prior to elective, non-urgent bone marrow transplantation. Vol. 52, *Bone Marrow Transplantation.* Nature Publishing Group; 2017. p. 792–3.
15. Pecker LH, Maher JY, Law JY, Beach MC, Lanzkron S, Christianson MS. Risks associated with fertility preservation for women with sickle cell anemia. *Fertil Steril.* 2018 Sep 1;110(4):720–31.
16. Ghafuri DL, Stimpson SJ, Day ME, James A, DeBaun MR, Sharma D. Fertility challenges for women with sickle cell disease. Vol. 10, *Expert Review of Hematology.* Taylor and Francis Ltd; 2017. p. 891–901.
17. Anele UA, Burnett AL. Erectile dysfunction after sickle cell disease-associated recurrent ischemic priapism: Profile and risk factors. *Journal of Sexual Medicine.* 2015 Mar 1;12(3):713–9.
18. Drobnis EZ, Nangia AK. Pain medications and male reproduction. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Springer New York LLC; 2017. p. 39–57.
19. Nickel RS, Maher JY, Hsieh MH, Davis MF, Hsieh MM, Pecker LH. Fertility after Curative Therapy for Sickle Cell Disease: A Comprehensive Review to Guide Care. Vol. 11, *Journal of Clinical Medicine.* MDPI; 2022.
20. Mathiesen S, Sørensen K, Nielsen MM, Suominen A, Ifversen M, Grell K, et al. Male Gonadal Function after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Childhood: A Cross-Sectional, Population-Based Study: Male Gonadal Function after Pediatric Allogeneic HSCT. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2020 Sep 1;26(9):1635–45.
21. Dalle JH, Lucchini G, Balduzzi A, Ifversen M, Jahnukainen K, MacKlon KT, et al. State-of-the-art fertility preservation in children and adolescents undergoing haematopoietic stem cell transplantation: A report on the expert meeting of the Paediatric Diseases Working Party (PDWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation

- (EBMT) in Baden, Austria, 29-30 September 2015. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Jul 1;52(7):1029–35.
22. Huo Y, Lockhart JR, Liu S, Fontenard S, Berlett M, Ryan TM. Allogeneic bone marrow transplant in the absence of cytoreductive conditioning rescues mice with β -thalassemia major. *Blood Adv*. 2017 Nov 28;1(25):2421–32.
 23. Chen MJ, Peng SSF, Lu MY, Yang YL, Jou ST, Chang HH, et al. Effect of iron overload on impaired fertility in male patients with transfusion-dependent beta-thalassemia. *Pediatr Res*. 2018 Mar 1;83(3):655–61.
 24. Roussou P, Tsagarakis NJ, Kountouras D, Livadas S, Diamanti-Kandarakis E. Beta-thalassemia major and female fertility: The role of iron and iron-induced oxidative stress. *Anemia*. 2013.
 25. de Sanctis V, Soliman AT, Yassin MA, Maio S di, Daar S, Elsedfy H, et al. Hypogonadism in male thalassemia major patients: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Acta Biomed [Internet]*. 2018; 89:6–15.
 26. Angum F, Khan T, Kaler J, Siddiqui L, Hussain A. The Prevalence of Autoimmune Disorders in Women: A Narrative Review. *Cureus*. 2020 May 13.
 27. Vanni VS, de Lorenzo R, Privitera L, Canti V, Viganò P, Rovere-Querini P. Safety of fertility treatments in women with systemic autoimmune diseases (SADs). Vol. 18, *Expert Opinion on Drug Safety*. Taylor and Francis Ltd; 2019. p. 841–52.
 28. Cappa M, Bizzarri C, Crea F. Autoimmune thyroid diseases in children. Vol. 2011, *Journal of Thyroid Research*. 2011.
 29. Casto C, Pepe G, Pomi AL, Corica D, Aversa T, Wasniewska M. Hashimoto's thyroiditis and graves' disease in genetic syndromes in pediatric age. Vol. 12, *Genes*. MDPI AG; 2021. p. 1–22.
 30. Khizroeva J, Nalli C, Bitsadze V, Lojaco A, Zatti S, Andreoli L, et al. Infertility in women with systemic autoimmune diseases. Vol. 33, *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. Bailliere Tindall Ltd; 2019.
 31. Poppe K, Velkeniers B, Glinde D. The role of thyroid autoimmunity in fertility and pregnancy. Vol. 4, *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism*. 2008. p. 394–405.

32. Wang JW, Liao XX, Li T. Thyroid autoimmunity in adverse fertility and pregnancy outcomes: Timing of assisted reproductive technology in AITD women. Vol. 9, *Journal of Translational Internal Medicine*. De Gruyter Open Ltd; 2020. p. 76–83.
33. Harry O, Yasin S, Brunner H. Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus: A Review and Update. *Journal of Pediatrics*. 2018 May 1;196:22-30.e2.
34. Smith EMD, Lythgoe H, Midgley A, Beresford MW, Hedrich CM. Juvenile-onset systemic lupus erythematosus: Update on clinical presentation, pathophysiology and treatment options. Vol. 209, *Clinical Immunology*. Academic Press Inc.; 2019.
35. Rygg M, Pistorio A, Ravelli A, Maghnie M, Iorgi N di, Bader-Meunier B, et al. A longitudinal PRINTO study on growth and puberty in juvenile systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2012 Apr;71(4):511–7.
36. Groot N, de Graeff N, Avcin T, Bader-Meunier B, Brogan P, Dolezalova P, et al. European evidence-based recommendations for diagnosis and treatment of childhood-onset systemic lupus erythematosus: The SHARE initiative. *Ann Rheum Dis*. 2017 Nov 1;76(11):1788–96.
37. Soares PMF, Borba EF, Bonfa E, Hallak J, Corrêa AL, Silva CAA. Gonad evaluation in male systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum [Internet]*. 2007;56(7):2352–61.
38. Silva C, Brunner HI. Gonadal functioning and preservation of reproductive fitness with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus [Internet]*. 2007;16:593–9.
39. Henes M, Henes JC, Neunhoeffler E, von Wolff M, Schmalzing M, Kötter I, et al. Fertility preservation methods in young women with systemic lupus erythematosus prior to cytotoxic therapy: Experiences from the FertiProtekt network. Vol. 21, *Lupus*. 2012. p. 953–8.
40. Stamm B, Barbhaiya M, Siegel C, Lieber S, Lockshin M, Sammaritano L. Infertility in systemic lupus erythematosus: what rheumatologists need to know in a new age of assisted reproductive technology. *Lupus Sci Med [Internet]*. 2022 Dec 13.
41. Østensen M. Sexual and reproductive health in rheumatic disease. Vol. 13, *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Publishing Group; 2017. p. 485–93.
42. Saraf AJ, Nahata L. Fertility counseling and preservation: Considerations for the pediatric endocrinologist. Vol. 6, *Translational Pediatrics*. AME Publishing Company; 2017. p. 313–22.

43. Preservation TEGG on FF, Anderson RA, Amant F, Braat D, D'Angelo A, Chuva de Sousa Lopes SM, et al. ESHRE guideline: female fertility preservation. *Hum Reprod Open* [Internet]. 2020 Oct 3.
44. Marder W, McCune WJ, Wang L, Wing JJ, Fisseha S, McConnell DS, et al. Adjunctive GnRH-a treatment attenuates depletion of ovarian reserve associated with cyclophosphamide therapy in premenopausal SLE patients. *Gynecological Endocrinology*. 2012 Aug;28(8):624–7.
45. Li W, Chian RC, Cai LB, Chen H, Deng XH, Ding HX, et al. Chinese expert consensus on clinical practice of female fertility preservation. *Reproductive and Developmental Medicine*. 2022 Mar 1;6(1):42–50.
46. Sharma SK, Jain S, Bahl P, Potturi P, Rathi M, Naidu S, et al. Ovarian dysfunction with moderate-dose intravenous cyclophosphamide (modified NIH regimen) and mycophenolate mofetil in young adults with severe lupus: A prospective cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2020 Aug 14;22(1).
47. Condorelli M, Demeestere I. Challenges of fertility preservation in non-oncological diseases. Vol. 98, *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. Wiley-Blackwell; 2019. p. 638–46.
48. Liu R, Li X, Huang N, Fan M, Sun R. Toxicity of traditional Chinese medicine herbal and mineral products. In: *Advances in Pharmacology*. Academic Press Inc.; 2020. p. 301–46.
49. Łuczak J, Bałaj M, Dryjański P. What recent primary studies tell us about ovarian teratomas in children: a scoping review. Vol. 39, *Cancer and Metastasis Reviews*. Springer; 2020. p. 321–9.
50. Geimanaite L, Trainavicius K. Pediatric ovarian torsion: Follow-up after preservation of ovarian tissue. *J Pediatr Surg*. 2019 Jul 1;54(7):1453–6.
51. Oskayli MC, Gulcin N, Ozatman E, Gercel G, Mutus M, Aksu B, et al. Assessment of ovarian reserve using serum anti-Müllerian hormone after ovarian torsion surgery. *Pediatrics International*. 2019 May 1;61(5):504–7.
52. Childress KJ, Dietrich JE. Pediatric Ovarian Torsion. Vol. 97, *Surgical Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2017. p. 209–21.
53. Spinelli C, Tröbs RB, Nissen M, Strambi S, Ghionzoli M, Bertocchini A, et al. Ovarian torsion in the pediatric population: predictive factors for ovarian-sparing surgery-an

- international retrospective multicenter study and a systematic review. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022.
54. Wang Z, Zhang D, Zhang H, Guo X, Zheng J, Xie H. Characteristics of the patients with adnexal torsion and outcomes of different surgical Procedures: A retrospective study. *Medicine (United States)*. 2019;98(5).
 55. Bertozzi M, Esposito C, Vella C, Briganti V, Zampieri N, Codrich D, et al. Pediatric Ovarian Torsion and its Recurrence: A Multicenter Study. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2017 Jun 1;30(3):413–7.
 56. Donnez J, Dolmans MM. Fertility Preservation in Women. *New England Journal of Medicine*. 2017 Oct 26;377(17):1657–65.
 57. Mini-Review Article *J Reprod Infertil*; Sleiman Z, Karaman E, Terzic M, Terzic S, Falzone G, Garzon S. Fertility Preservation in Benign Gynecological Diseases: Current Approaches and Future Perspectives. Vol. 20, *J Reprod Infertil*. 2019.
 58. Nickkho-Amiry M, Savant R, Majumder K, Edi-O'sagie E, Akhtar M. The effect of surgical management of endometrioma on the IVF/ICSI outcomes when compared with no treatment? A systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2018 Apr 1;297(4):1043–57.
 59. Barnett R, Banks N, Decherney AH. Endometriosis and Fertility Preservation [Internet]. 2017.
 60. Sachedina A, Todd N. Dysmenorrhea, endometriosis and chronic pelvic pain in adolescents. Vol. 12, *JCRPE Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. Galenos Yayincilik,; 2020. p. 7–17.
 61. Llarena NC, Falcone T, Flyckt RL. Fertility Preservation in Women With Endometriosis. *Clin Med Insights Reprod Health*. 2019 Jan.
 62. Younis JS, Shapso N, Fleming R, Ben-Shlomo I, Izhaki I. Impact of unilateral versus bilateral ovarian endometriotic cystectomy on ovarian reserve: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2019 May 1;25(3):375–91.
 63. Pais AS, Flagothier C, Tebache L, Almeida Santos T, Nisolle M. Impact of surgical management of endometrioma on AMH levels and pregnancy rates: A review of recent literature. Vol. 10, *Journal of Clinical Medicine*. MDPI; 2021. p. 1–12.

64. Nguyen HH, Milat F, Vincent A. Premature ovarian insufficiency in general practice: Meeting the needs of women. Vol. 46. 2017.
65. Pook CJ, Cocca A, Grandone A, Al-Hussini M, Lam W. The Evidence for Fertility Preservation in Pediatric Klinefelter Syndrome. *Frontiers in Reproductive Health*. 2021 Aug 3;3.
66. Ly A, Sermondade N, Brioude F, Berthaut I, Bachelot A, Hamid RH, et al. Fertility preservation in young men with Klinefelter syndrome: A systematic review. Vol. 50, *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. Elsevier Masson s.r.l.; 2021.
67. Skakkebaek A, Gravholt CH, Chang S, Moore PJ, Wallentin M. Psychological functioning, brain morphology, and functional neuroimaging in Klinefelter syndrome. Vol. 184, *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*. Blackwell Publishing Inc.; 2020. p. 506–17.
68. van Saen D, Vloeberghs V, Gies I, Mateizel I, Sermon K, de Schepper J, et al. When does germ cell loss and fibrosis occur in patients with Klinefelter syndrome? *Human Reproduction*. 2018 Jun 1;33(6):1009–22.
69. Braye A, Böhler S, Vloeberghs V, de Boe V, de Schepper J, Gies I, et al. Testicular biopsy for fertility preservation in early-diagnosed Klinefelter patients: patient characteristics and long-term follow-up. *Reprod Biomed Online*. 2022 May 1;44(5):889–95.
70. Zganjar A, Nangia A, Sokol R, Ryabets A, Samplaski MK. Title: Fertility in Adolescents with Klinefelter Syndrome: A Survey of Current Clinical Practice. 2019.
71. Ito A, Katagiri Y, Tamaki Y, Fukuda Y, Oji A, Morita M. DuoStim: a new option for fertility preservation for a woman with Turner syndrome. *Gynecological Endocrinology*. 2020;36(12):1144–8.
72. Lígia Zuppi C. Suziganl, Andréa T. Maciel-Guerra, Roberto B. de Paiva e Silva. Aspectos Psicossociais da Síndrome de Turner. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2005 Feb;49.
73. Schleedoorn M, van der Velden J, Braat D, Beerendonk I, van Golde R, Peek R, et al. TurnerFertility trial: PROTOCOL for an observational cohort study to describe the efficacy of ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation in females with Turner syndrome. *BMJ Open*. 2019 Dec 11;9(12).

74. La Marca A, Mastellari E. Fertility preservation for genetic diseases leading to premature ovarian insufficiency (POI). Vol. 38, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2021. p. 759-777.
75. Oktay K, Bedoschi G. Fertility preservation in girls with Turner syndrome: limitations, current success and future prospects. Vol. 111, *Fertility and Sterility*. Elsevier Inc.; 2019. p. 1124–6.
76. Meraj N, Yasin M, Rehman ZU, Tahir H, Jadoon H, Khan N, et al. Fragile X premutation carrier screening in Pakistani preconception women in primary care consultation. *BMC Womens Health*. 2022 Dec 1;22(1).
77. Sherman S, Pletcher BA, Driscoll DA. Fragile X syndrome: Diagnostic and carrier testing. Vol. 7, *Genetics in Medicine*. 2005. p. 584–7.
78. Sodhi DK, Hagerman R. Fragile X Premutation: Medications, Therapy and Lifestyle Advice. Vol. 14, *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. Dove Medical Press Ltd; 2021. p. 1689–99.
79. Hoyos LR, Thakur M. Fragile X premutation in women: recognizing the health challenges beyond primary ovarian insufficiency. Vol. 34, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. Springer New York LLC; 2017. p. 315–23.
80. Man L, Lekovich J, Rosenwaks Z, Gerhardt J. Fragile X-associated diminished ovarian reserve and primary ovarian insufficiency from molecular mechanisms to clinical manifestations. Vol. 10, *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2017.
81. Condorelli M, Demeestere I. Challenges of fertility preservation in non-oncological diseases. Vol. 98, *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. Wiley-Blackwell; 2019. p. 638–46.
82. Mamsen LS, Kelsey TW, Ernst E, Macklon KT, Lund AM, Andersen CY. Cryopreservation of ovarian tissue may be considered in young girls with galactosemia. *J Assist Reprod Genet*. 2018 Jul 1;35(7):1209–17.
83. Hagen-Lillevik S, Rushing JS, Appiah L, Longo N, Andrews A, Lai K, et al. Pathophysiology and management of classic galactosemic primary ovarian insufficiency. Vol. 2, *Reproduction and Fertility*. BioScientifica Ltd.; 2021. p. R67–84.

84. Thakur M, Feldman G, Puscheck EE. Primary ovarian insufficiency in classic galactosemia: current understanding and future research opportunities. Vol. 35, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. Springer New York LLC; 2018. p. 3–16.
85. Gubbels CS, Welt CK, Dumoulin JCM, Robben SGF, Gordon CM, Dunselman GAJ, et al. The male reproductive system in classic galactosemia: Cryptorchidism and low semen volume. *J Inher Metab Dis*. 2013 Sep;36(5):779–86.
86. Rubio-Gozalbo ME, Gubbels CS, Bakker JA, Menheere PPCA, Wodzig WKWH, Land JA. Gonadal function in male and female patients with classic galactosemia. Vol. 16, *Human Reproduction Update*. 2009. p. 177–88.