



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

Indutores da Ovulação e Risco Oncológico

Margarida S. Rocha

Maio'17



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

Indutores da Ovulação e Risco Oncológico

Margarida S. Rocha

Orientado por:

Dr. Joaquim Nunes

Maio'17



Abstract

An increasing number of couples are seeking medical assistance to conceive. The use of substances that induce ovulation alone or in the aim of assisted reproduction technologies is now a whole reality as a public health problem – infertility. It has become crucial to investigate possible nefasts effects of these treatments so one can give saffer and better advice to women that look for help.

In this paper, we focused at cancer risk and we present a literature’s review about ovulation-inducing drugs, used alone or at an In Vitro Fertilization onset, and their biologically possible association with ovarian, uterine and breast cancers.

The literature is not wide and remains confusing. Earlier studies showed an association between these treatments and an increased cancer risk. More recent studies, already corrected for confounding factors, do not note a link. All these studies are limited by small samples, short follow up times – given the latter age of diagnosis of these neoplasms – and few details about doses, protocols and drugs used, and the indications for use – the cause of infertility itself may be a factor that independently affect cancer risk.

We conclude that there are no statistically significant change in cancer risk with the recourse to fertility drugs in hormonally sensitive sites of cancer except, possibly, in women who remain nulligravid. It is expected, indeed, that women who achieve a pregnancy after these treatments are at a reduced cancer risk compared to those who remain nulligravid, because it is ovarian stimulation, with an incessant ovulation and elevated serum hormonal levels that seems to be associated with the oncogenesis of breast, ovarian and endometrial tissues.

Keywords: cancer risk; ovulation-inducing drugs, fertility drugs, in vitro fertilization

Resumo

Cada vez mais casais procuram ajuda médica para engravidar. O recurso a substâncias que induzem a ovulação ou que incluem estas últimas em contexto de procriação medicamente assistida é uma realidade abrangente num problema que é de



saúde pública- a infertilidade. Assim sendo, torna-se crucial a investigação de possíveis efeitos nefastos destes tratamentos para um melhor e mais seguro aconselhamento das mulheres que a eles recorrem.

Neste contexto, focamo-nos no risco oncológico e apresentamos uma revisão da literatura disponível sobre o tópico dos fármacos indutores de ovulação, usados sozinhos ou em contexto de Fertilização in Vitro, e a sua possível relação com o desenvolvimento de neoplasias ováricas, uterinas e mamárias.

A literatura não é vasta e os resultados são aparentemente contraditórios. Se os primeiros estudos desenvolvidos mostravam uma associação entre estes tratamentos e o aumento do risco de cancro, os mais recentes, já corrigidos para factores confundidores, não estabelecem uma associação. Estes estudos são globalmente limitados pelo reduzido tamanho da amostra, tempos de follow up pouco adequados dada a idade com que estas neoplasias costumam ser diagnosticadas, e imprecisão quer nas doses, protocolos e agentes usados, bem como na causa da infertilidade – que pode ser um factor de risco independente dos tratamentos.

Concluimos que não há uma associação estatisticamente significativa entre o recurso a fármacos indutores de ovulação e o risco de desenvolvimento de neoplasias que se sabe terem um background hormonal a não ser, possivelmente, em mulheres que permanecem nuligestas. É de esperar que as mulheres que após estes tratamentos conseguem engravidar estejam em risco inferior às que permanem nuligestas, já que a gravidez parece ser um factor protector para neoplasias do ovário, endométrio e mama.

Palavras-chave: risco oncológico, fármacos indutores da ovulação, fertilização in vitro.

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.



Índice

Introdução	4
Metodologia	6
Resultados	7
Discussão.....	8
Infertilidade	8
Tratamento da Infertilidade.....	9
Agentes Indutores da Ovulação.....	9
Indução da Ovulação.....	9
Fertilização in Vitro	11
Agentes Indutores da Ovulação e Neoplasia do Ovário.....	13
Agentes Indutores da Ovulação e Neoplasia do Útero.....	17
Agentes Indutores da Ovulação e Neoplasia da Mama.....	20
Conclusão.....	23
Agradecimentos.....	24
Bibliografia	25



Introdução

O adiamento da maternidade tem levado a um aumento da procura de assistência médica para conceber. [1] É um factor, mas não único, para um problema considerado de saúde pública pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que é a Infertilidade.

Estima-se que a Infertilidade, definida como a incapacidade de atingir uma gravidez após 12 meses de relações sexuais regulares sem recurso a métodos contraceptivos, afecte 15% dos casais [2] [3] a nível mundial. Dados do estudo AFRODITE para a caracterização da infertilidade em Portugal, apontam para que 8.9% das mulheres entre os 25 e os 69 anos tiveram problemas nesta esfera ao longo da vida [4], pelo que não é de espantar que recorram à consulta de infertilidade em busca de tratamento.

Os tratamentos de infertilidade são vários e adaptados às causas de infertilidade e, conseqüentemente, às necessidades do casal. Estima-se que 20% dos casais apresentam uma disfunção ovulatória como causa de infertilidade. Nestes casos, a indução da ovulação com recurso a fármacos como o citrato de clomifeno ou as gonadotrofinas poderá ser suficiente para aumentar as taxas de sucesso na obtenção de uma gravidez. Noutras situações, o recurso a técnicas de procriação medicamente assistida, como a inseminação artificial ou a fertilização in vitro, poderá estar indicado e, na maior parte das vezes, associam-se fármacos indutores da ovulação, em doses variáveis, com o propósito de aumentar as taxas de sucesso das mesmas. As doses destes fármacos são, geralmente, elevadas neste contexto, para induzir uma superestimulação ovárica com foliculogénese múltipla – cuja colheita e fertilização em maior número aumenta a probabilidade de obtenção de uma gravidez num dado ciclo de tratamento ou posteriormente por conservação de embriões excedentes (Venn et al 1999) [5]. Esta superestimulação expõe os ovários a níveis suprafisiológicos de gonadotrofinas, que se sabe induzirem vários efeitos biológicos a nível do epitélio, mudanças na proliferação celular, apoptose, adesão celular e quimiossensibilidade (Konishi et al 2006) [6] bem como níveis muito elevados de estradiol sem oposição (Saso et al 2015) [7]. Stewart et al descreveram níveis de estrogénios de 3000-4000 pg/ml num ciclo de FIV quando os níveis fisiológicos são de 300 pg/ml [8]. Encontramo-nos, assim, perante mecanismos de oncogénese estudados da neoplasia do



ovário, como o papel do número de ciclos ovulatórios [9] e a exposição a elevados níveis hormonais [10], pelo que é biologicamente plausível que estes tratamentos de fertilidade exerçam um efeito promotor oncológico.

Os elevados níveis de estradiol são um factor para hiperplasia do endométrio, considerada por vários autores uma condição pré-maligna, podendo predispor a cancro do endométrio [11]. Sabe-se que esta neoplasia está associada a agentes hormonais, apresentando factores de risco intimamente relacionados com o aumento dos níveis séricos de hormonas como o estradiol e as gonadotrofinas (Cramer, 2012) [12], ao passo que os níveis aumentados de progesterona são protectores. Assim, estes fármacos que induzem ovulação poderão aumentar a incidência de cancro do endométrio devido ao aumento da produção de estrogénio, ou poderão diminuir esta incidência em casos de disfunção ovulatória graças ao efeito protector da progesterona produzida após a ovulação [13].

Por outro lado, o papel da progesterona na carcinogénese do tecido mamário é contraditório. Se no endométrio, os níveis de progestagénios aparecem como factor protector, na mama parece surgir como factor mitogénico [14] [15]. No entanto, a paridade, com níveis aumentados de progesterona, está associada a diminuição do risco de cancro. Se o uso de fármacos indutores da ovulação leva ao aumento sérico de estrogénios, associado *per se* ao aumento do risco de cancro de mama, leva também a uma ovulação incessante, como acontece na menarca precoce e na menopausa tardia que também surgem associados a esta neoplasia (Brinton et al 2014,2012) [16][17]. Importa lembrar que a nuliparidade, o aumento da idade materna, a menopausa tardia e a infertilidade são considerados factores de risco para o desenvolvimento de neoplasia da mama, sendo características frequentes na população infértil – pelo que esta já estará sujeita a um risco oncológico superior ao da restante população [18].

Deste modo, e dado o elevado número de casais que recorrem a tratamentos de fertilidade, torna-se de extrema importância perceber se há um aumento significativo do risco oncológico, bem como, a confirmar-se, o acompanhamento sistemático das mulheres que a eles se submetem numa perspectiva de prevenção, nomeadamente secundária com rastreios direccionados. Neste trabalho, procurei, numa primeira fase explorar os variados tratamentos de fertilidade, com destaque para os fármacos indutores da ovulação, e acesso aos mesmos e, posteriormente, os mecanismos fisiopatológicos das neoplasias do ovário, endométrio e mama, resumidamente, com



apresentação dos diversos estudos que procuraram a relação entre indução/superestimulação ovárica com a incidência destas neoplasias.

A lesão da punção ovárica efectuada em contexto de FIV/Injecção Intra-citoplasmática de Espermatozóides (ICSI), por vezes inferida como potencial factor de risco oncológico, não parece ser, nos poucos estudos realizados, uma lesão precursora de cancro, pelo que não é destacada neste trabalho.

Foi utilizado o Acordo Ortográfico de 1945.

Metodologia

Foi realizada uma revisão da literatura científica relativa ao uso de tratamentos de infertilidade e a sua associação com o risco oncológico para o ovário, endométrio e mama com recurso à plataforma Pubmed. A pesquisa foi efectuada com as palavras-chave “infertility”, “ovarian stimulation”, “ovarian cancer risk”, “breast cancer risk”, “endometrial cancer risk”, “gynaecological cancer”, “gynaecological cancer risk”, “fertility drugs”, “cancer risk”, “assisted reproductive techniques” em associação.

Não foram aplicados filtros relativos a período, língua, ou formato do estudo nesta fase. Foram seleccionados por título e abstract os que se enquadravam no contexto desta revisão. Foram excluídos múltiplos estudos em que se abordava fundamentalmente a preservação da fertilidade no contexto de tratamento oncológico e estudos em animais.

Esta revisão não inclui case reports nem case series. São destacados estudos com amostra maior, significância populacional dos tratamentos efectuados e adequação, tanto quanto possível, dos tempos de follow-up.



Resultados

Através da metodologia descrita foram encontrados 1395 artigos. A apreciação dos títulos e abstracts mostrou que 1347 artigos não eram relevantes – estudos em animais, estudos que não se encaixavam no tema, case reports, case series, amostras pequenas ou que não eram representativas. Os restantes 48 foram lidos e analisados na íntegra e 27 foram excluídos por serem artigos de revisão ou porque as metodologias levavam a óbvios viéses dos resultados. Dos sobrantes, 4 tinham dados duplicados em artigos posteriores, os quais foram incluídos neste trabalho. Menciono, no texto, 16 nomes de autores de estudos de coorte e meta-análises sobre a temática aqui discutida, aparecendo todos os restantes com a referência devida no texto e correspondência para as Referências Bibliográficas.



Discussão

Infertilidade

A infertilidade é definida pela OMS como a incapacidade de um casal em conseguir uma gravidez clínica após um período de 12 meses ou mais de relações sexuais desprotegidas e regulares. [19] Não é considerada, em si, uma doença mas uma consequência de múltiplas condições, nomeadamente endócrinas, anatómicas, auto-imunes e outras. [20]

A infertilidade é, por definição, conjugal, afectando 5-15% dos casais que estão a tentar conceber e em 40% dos casos são identificadas causas femininas [20][21][22]. A infertilidade feminina atinge o 5º lugar no ranking global das Incapacidades Graves (abaixo dos 60 anos) [23].

Importa definir condições base para o sucesso reprodutivo:

- O esperma tem de ser depositado na área envolvente do cérvix numa altura próxima da da ovulação, e deve ser capaz de progredir até às trompas e fertilizar o oócito;
- O cérvix deve poder capturar e filtrar o esperma, libertando-o para a cavidade uterina;
- As trompas têm de se apresentar permeáveis, capturando o oócito libertado e possibilitando a progressão dos espermatozoides e do embrião, em sentido contrário;
- Tem de ocorrer ovulação de um oócito maduro, preferencialmente de forma regular e previsível;
- O embrião tem de ser implantado no útero e este último deve reunir as condições necessárias para suporte e desenvolvimento de uma gravidez.



Tratamento da Infertilidade

O aumento das taxas de infertilidade [11][24] que se tem verificado nos últimos anos leva ao aumento do número de casais que recorrem à procriação medicamente assistida (PMA). Estima-se que entre 42 e 76% dos casais diagnosticados com infertilidade irão procurar ajuda médica [22] e que por altura do ano 2025, só nos EUA, entre 5,4 e 7,7 milhões de mulheres com idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos terão procurado ajuda médica por problemas de fertilidade. [25]

Em Portugal, só no ano de 2013, foram registados 9948 ciclos de PMA, em comparação com 6065 ciclos do ano de 2009, segundo os Relatórios Sobre a Actividade em PMA dos respectivos anos.

No entanto, o tratamento apresentado ao casal que recorre à consulta de Infertilidade será o mais adequado à causa da infertilidade. Se se verificar que há uma disfunção ovulatória a solução poderá passar por indução da ovulação.

Agentes Indutores da Ovulação

Os agentes indutores da ovulação têm sido amplamente usados para tratar situações de infertilidade [11]. Há variadas medicações, quer sob a forma oral, quer injectável, e que podem ser usados sozinhos ou em combinação. Usamos, então, a expressão Indução da Ovulação (IO) para designar a estimulação ovárica na doente anovulatória, com vista ao crescimento de um folículo e libertação do respectivo oócito. Superovulação (SO) é o termo usado quando o objectivo é a sobrestimulação do ovário, com crescimento de múltiplos folículos e amadurecimento de múltiplos oócitos, no sentido de aumentar a taxa de sucesso de técnicas como a inseminação intrauterina e a FIV/ICSI/TEC. [26]

Indução da Ovulação

Citrato de Clomifeno

O citrato de clomifeno (CC) é um dos fármacos indutores de ovulação mais prescritos, estando no mercado desde os anos 60 mas sendo ainda considerado um dos agentes mais importantes para mulheres com infertilidade anovulatória e inexplicada.



Comparado com outros agentes indutores da ovulação, o CC é barato, de fácil administração e não requer uma monitorização intensiva. A taxa de gravidez múltipla é de 11%, sendo a maioria gémeos e apenas 1% trigémeos. [27]

Trata-se de um modulador selectivo dos receptores de estrogénio, tendo propriedades químicas semelhantes às do tamoxifeno. Este fármaco aumenta quer os níveis de estradiol quer os de progesterona [28] e também estimula a proliferação celular. Assim, tem sido levantada a hipótese de uma associação entre o uso do CC e o aumento do risco de cancro, nomeadamente, do ovário e do endométrio.

O CC é um agonista estrogénico fraco e liga-se por longos períodos aos receptores hipotalâmicos de estrogénio, o que diminui a disponibilidade dos mesmos. O hipotálamo responde a este estado pseudo-hipoestrogénico aumentando a secreção de GnRH que, por sua vez, aumenta a secreção de FSH e de LH pela adenohipófise de modo prolongado. Nos ciclos onde o tratamento é bem sucedido, a janela de FSH é tão extensa que torna possível o desenvolvimento de múltiplos folículos. [29].

Inibidores da Aromatase

Os inibidores da aromatase (IA) têm sido sugeridos como alternativa ao tratamento com CC devido à discrepância entre as taxas de ovulação e de gravidez deste último, atribuída à sua acção anti-estrogénica periférica (com diminuição do muco cervical e da estrutura do endométrio). Os IA suprimem a produção estrogénica e mimetizam, assim, a redução a nível central do feedback negativo, através do qual o CC exerce a sua acção. O Letrozole, o IA mais usado para esta indicação, mostrou ser eficaz, nos primeiros estudos, na indução da ovulação e gravidez em mulheres com síndrome do ovário poliquístico anovulatório e resposta inadequada ao CC e em aumentar a resposta ovárica à FSH em pessoas com baixa resposta. O Anastrozole tem sido alvo de testes como possível alternativa.

Gonadotrofinas

Gonadotrofinas são substâncias injectáveis eficazes na correcção de disfunções ovulatórias e aparecem mais profusamente descritas abaixo por serem mais usadas no



contexto da superovulação. Pelo risco de gravidez múltipla só devem ser administradas com controle.

Fertilização in Vitro

A Fertilização in Vitro (FIV) é uma técnica de Procriação Medicamente Assistida na qual a fecundação dos oócitos ocorre em laboratório, realizando-se, posteriormente, transferência dos embriões para o útero. Para tal, os ovários são estimulados com administração de gonadotrofinas diariamente para otimizar o desenvolvimento dos folículos, a ser monitorizado por ecografia endocavitária. Depois, por punção ovárica guiada também por ecografia transvaginal, é aspirado o fluido folicular e, portanto, os oócitos. Os oócitos maduros serão, então, fertilizados in vitro, por cultura com muitos espermatozoides móveis. A fertilização dos oócitos pode também ocorrer por injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), uma técnica na qual um espermatozoide é injectado directamente no oócito, em situações de infertilidade secundária a factor masculino. Idealmente, obtemos múltiplos embriões, dos quais os de melhor qualidade morfológica serão transferidos para a cavidade uterina ou criopreservados.

Gonadotrofinas

As gonadotrofinas, neste contexto de tratamentos de fertilidade, correspondem a hormonas injectáveis usadas quer para indução da ovulação per se – em casos de hipogonadismo hipogonadotrófico, anovulação resistente a CC e infertilidade inexplicada -, bem como em técnicas como a IIU e a FIV.

Podem ser administrados dois tipos de gonadotrofinas: FSH recombinante e as gonadotrofinas menopáusicas humanas. O primeiro tipo contém apenas FSH e é o mais prescrito em situações de indução da ovulação. O seu uso nestas circunstâncias implica, como já foi referido, o controlo ecográfico da resposta ovárica. Quanto às gonadotrofinas menopáusicas humanas, correspondem a gonadotrofinas urinárias altamente purificadas, FSH e LH. Não há uma evidência clara da superioridade de um dos tipos relativamente a outro [30]. A dose necessária deve ser definida para cada



doente, com base nos seus factores individuais como a idade, valor sérico da FSH de base, IMC, hábitos tabágicos e número de folículos antrais. A suplementação de LH está reservada para situações especiais e as vantagens do seu uso não estão devidamente esclarecidas.

A gonadotrofina coriónica humana (hCG) existe também na forma recombinante e urinária e tem uma acção semelhante à da LH, nomeadamente, na maturação dos oócitos, permitindo a fertilização. Esta administração é necessária em mulheres no contexto de IIU e FIV.

Agonistas e antagonistas da GnRH

O agonista dos receptores da GnRH é administrado por via subcutânea causando, numa primeira fase, a libertação de FSH e LH pela hipófise. No entanto, com o continuar da administração, ocorre uma diminuição dos receptores da GnRH, o que irá diminuir a libertação das gonadotrofinas e prevenir um pico de LH. Estes agentes são prescritos com as gonadotrofinas em mulheres em tratamentos de FIV.

Os agentes antagonistas da GnRH ligam-se aos receptores desta e impedem a libertação de FSH e de LH, prevenindo, tal como os agonistas, o pico desta última. Contrariamente aos agonistas GnRH, a acção dos antagonistas é imediata, pelo que previne muito mais rapidamente o pico de LH.

Expostas as opções de tratamento de fertilidade relevantes para este trabalho, resta destacar que o potencial risco oncológico dos mesmos se deverá mais aos fármacos indutores da ovulação, pela estimulação ovárica e níveis hormonais séricos elevadíssimos em comparação com os fisiológicos, e menos ao trauma resultante das possíveis múltiplas punções na superfície epitelial ovárica, contrariamente ao que poderíamos esperar. A punção dos folículos pode conduzir a infecção, hemorragia, inflamação ou até a algum grau de fibrose – deixando, portanto uma lesão do epitélio ovárico. Não está, no entanto, descrita que essa lesão seja precursora de cancro e os poucos estudos realizados afastam esta possibilidade. [31][32][33]



Agentes Indutores da Ovulação e a Neoplasia do Ovário

A neoplasia do ovário é uma entidade complexa e multifactorial, detectada, geralmente, numa fase avançada da doença. É raro [13] mas na grande maioria dos casos, na altura do diagnóstico já há envolvimento loco-regional ou à distância, com taxas de sobrevida a 5 anos de 72% e 27% respectivamente. [34].

O cancro do ovário é classificado de acordo com a sua localização no tecido ovárico em epitelial e não-epitelial. 80-90% tem origem no epitélio e corresponde à neoplasia ginecológica mais mortal no Ocidente.[35]

É, portanto, de grande importância identificar as mulheres em risco para podermos detectar e intervir precocemente na doença. Factores como infertilidade, a nuliparidade, a menarca precoce e a menopausa tardia têm mostrado estar associados a risco aumentado para cancro do ovário independentemente dos tratamentos de fertilidade. Por outro lado, o uso de anticoncepcionais orais e o tempo de amamentação parecem constituir factores protectores para esta patologia. [36][37]

Oncogénese ovárica

Algumas teorias têm sido formuladas para explicar como estes vários factores, de risco ou protectores, afectam a oncogénese ovárica. A teoria da ovulação incessante postula que as lesões e consequentes reparações da superfície epitelial decorrentes da ovulação contribuem para a alteração do DNA celular e para um risco aumentado de cancro do ovário. Os efeitos protectores da diminuição do número de ovulações conseguidos com a gravidez e com o aleitamento materno suportam esta teoria. [9][38]

Já a teoria dos níveis aumentados de gonadotrofinas propõe que a exposição a elevados níveis de FSH e LH circulantes - que sobreestimulam a superfície epitelial ovárica e que aumentam o risco de transformação maligna – tem um papel importante no desenvolvimento do cancro do ovário. [10] [39] A diminuição do risco a cada gravidez e com os contraceptivos orais apoiam esta teoria. Observa-se, também, um aumento da incidência de cancro ovárico após a menopausa, quando os níveis de FSH e LH aumentam, o que também suporta esta hipótese.



A infertilidade, per se, aumenta o risco de cancro do ovário segundo estas duas teorias já que mulheres que não conseguem conceber não vão atingir estados de gravidez ou amamentação que lhes permitam reduzir a quantidade de ciclos ovulatórios. Provavelmente, também farão menos períodos de anticoncepcionais orais porque estão a tentar engravidar. Por outro lado, é preciso ressaltar que determinadas condições que justifiquem a infertilidade podem também ser factor de risco para o desenvolvimento de neoplasia do ovário [2][10][12][13][21].

Posto isto, ambas as teorias sugerem, também, que o uso de fármacos indutores da ovulação, pela estimulação incessante ovárica e pelos elevados níveis de gonadotrofinas que induzem, podem aumentar o risco do cancro do ovário. Importa destacar que baseado nisto deverá haver uma preocupação especial com mulheres que passam por tratamentos de infertilidade sem conseguirem engravidar.

Indução da Ovulação e Risco de Neoplasias do Ovário

Em 1994, um estudo com uma coorte de 3837 mulheres de Rossing et al. levou a mudanças significativas na administração de citrato de clomifeno (CC) como indutor da ovulação por concluir que este último agente aumentava o risco de tumores borderline e invasivos do ovário. Este risco seria de 11,1 relativamente a mulheres inférteis não tratadas se considerássemos apenas mulheres submetidas a 12 ou mais ciclos de CC [40]. Da mesma forma, Sanner et al. (2009) concluíram, com base numa coorte de 2768 mulheres inférteis com um follow up médio de 33 anos, que havia um risco aumentado de neoplasia do ovário após tratamento com gonadotrofinas e de tumores invasivos após tratamento com CC. [41]

Por outro lado, estudos com coortes mais alargadas têm mostrado não haver uma associação entre tratamentos de indução da ovulação e cancro ovárico. Num estudo retrospectivo de Brinton et al. (2004) com uma coorte de 12193 doentes tratadas com CC e/ou gonadotrofinas e um follow up médio de 19,4 anos apenas foram identificados 45 casos de neoplasia do ovário. Após correcção de dados de acordo com características das pacientes, não foi encontrada uma associação significativa entre o cancro ovárico e os fármacos indutores da ovulação [42].

O estudo com amostra mais vasta, 54362 mulheres seguidas em todos os centros de fertilidade dinamarqueses entre 1963 e 1998, da autoria de Jensen et al. (2009), mostrou não haver um risco aumentado de carcinoma do ovário em mulheres tratadas



com gonadotrofinas (RR 0.83), CC (1.14) ou agonista GnRH (RR 0.80), quer individualmente quer em combinação [43].

Em 2016 foi publicado um estudo populacional israelita conduzido por Kessous et al., com um follow up médio de 12 anos e uma amostra de 106031 mulheres, de entre as quais 4363 foram submetidas a tratamentos de fertilidade – 3214 submetidas a indução da ovulação e 1124 a sobrestimulação ovárica e FIV. Os autores concluíram que, ao contrário da FIV, os tratamentos de indução da ovulação não são um factor de risco independente para desenvolvimento de neoplasias ováricas (nem uterinas). [44]

	FIV (n =1149) (%)	IO (n =3214) (%)	Não tratadas (n =101 668) (%)	p value
Ovário (n =58)	0.26	0.03	0.05	0.009
Útero (n =61)	0.30	0.12	0.05	0.004
Mama (n=528)	0.4	0.5	0.5	0.926

Tabela 1 Incidência de neoplasias em doentes com ou sem história de tratamentos de fertilidade (Kessous et al. 2016)

FIV e Risco de Neoplasias do Ovário

Em 1995, Venn et al. observaram 29666 mulheres, das quais 10358 foram referenciadas para FIV, com um follow up máximo de 14 anos. Destas últimas, 5564 mulheres foram submetidas a tratamentos de sobrestimulação ovárica enquanto que 4794 não fizeram FIV ou fizeram sem recorrer a fármacos estimuladores ováricos. Com as muitas limitações que lhe são apontadas, este estudo sugere que, havendo um aumento do risco de desenvolver cancro ovárico após estimulação ovárica e FIV, este não é estatisticamente significativo [45]. Num estudo posterior, publicado em 1999, Venn et al. não confirmam estes resultados, apontando apenas para um aumento do risco de diagnóstico de cancro ovárico em mulheres cuja infertilidade é inexplicada, não fazendo uma associação disto com o tratamento de FIV [5].



Resultados diferentes foram atingidos por um estudo conduzido na Suécia, por Källén et al., que encontraram um aumento estatisticamente significativo do risco de neoplasia do ovário a seguir a tratamentos de FIV relativamente à população em geral. No entanto, o risco era inferior ao vigente antes do tratamento (Odds ratio 0.74). Esta diminuição do risco era ainda maior em mulheres que após o(s) tratamento(s) tinham mais do que um parto [46].

Num estudo retrospectivo, Van Leeuwen et al. identificaram uma coorte de 19146 mulheres que foram submetidas a FIV e um grupo de 6006 mulheres inférteis que não foram tratadas com FIV. Após um follow up médio de 14,7 anos, o risco de neoplasia do ovário estava aumentado na população submetida a FIV em comparação com o grupo infértil que não se submeteu a FIV [47].

Brinton et al. avaliaram o risco oncológico a longo prazo associado à FIV em 87403 mulheres submetidas a tratamento desde 1994 que foram avaliadas para detecção de cancro ginecológico em 2011. Foram identificados 45 casos, pelo que não se verificou uma ligação significativa entre FIV e o risco oncológico para neoplasias ginecológicas. No entanto, comparativamente a mulheres que não foram submetidas a tratamento verificou-se um aumento do risco em 1.58x, com risco superior nas mulheres submetidas a 4 ou mais ciclos (HR 1.78) [48].

Consideremos ainda duas meta-análises sobre este assunto. Siristatidis et al. analisaram nove estudos de coorte, correspondendo a um total de 109 969 mulheres expostas a FIV, com 76 casos de incidência de neoplasia do ovário e a conclusão de que há uma associação estatisticamente significativa entre a FIV e o aumento do risco para cancro do ovário quando comparado com o risco da população em geral mas não quando o grupo de referência é de mulheres inférteis [49]. Zhao et. Al recentemente analisaram doze estudos, 178 369 mulheres expostas a FIV, com um total de 175 casos reportados de cancro do ovário, e concluíram que não há um aumento do risco de cancro ovárico associado a tratamentos de FIV, apesar de alguns dos estudos considerados serem os mesmos da meta-análise anteriormente referida [31].

Contrariamente aos resultados obtidos no estudo referido acima para tratamentos de indução da ovulação, Kessous et al. descrevem um aumento significativo do risco de cancro do ovário em mulheres submetidas a protocolos para fertilização in vitro. Os autores consideram que estes resultados discordantes dos de todos os últimos



estudos publicados virão de protocolos muito diferentes dos utilizados no Ocidente em contexto de FIV, mais ciclos e maior exposição hormonal. [44]

Considerações Comuns

Como nota final importa realçar que um estudo em 9825 mulheres com diagnóstico de infertilidade que receberam tratamento com gonadotrofinas/CC mostrou não haver um aumento do risco para cancro invasivo do ovário excepto nas 517 mulheres que não atingiram uma gravidez [50]. Este conceito de infertilidade resistente que é apontado como potencial um factor de risco para cancro do ovário por vários outros autores como, tem ganho mais destaque já que não se verifica um aumento do risco de cancro ovárico em mulheres nulíparas submetidas a tratamentos de fertilidade que atingiram, pelo menos, uma gravidez. [36][42][50]

Agentes indutores da ovulação e mutações BRCA

Apenas um estudo investigou especificamente o efeito dos tratamentos de fertilidade sobre o risco oncológico ovárico em mulheres portadoras das mutações BRCA 1 e 2. Gronwald et al. (2015) sugerem que, quer tratamentos de indução da ovulação, quer de sobrestimulação ovárica não aumentam significativamente o risco de cancro do ovário numa mulher com uma mutação BRCA [51].

Agentes Indutores da Ovulação e Neoplasia do Útero

A neoplasia do útero é a mais comum do tracto genital feminino nos países desenvolvidos. Distinguem-se dois fenótipos, o sarcoma e o carcinoma do endométrio, e a infertilidade inexplicada tem sido associada a ambos. O cancro do endométrio tipo I é a neoplasia uterina mais comum e está relacionada com hiperestrogenismo sem oposição, pelo que a progesterona parece ser protectora. [13]

Oncogénese Uterina



Vários estudos têm mostrado um aumento da incidência da neoplasia do endométrio em mulheres inférteis, como referido anteriormente, nomeadamente nas que apresentam disfunção ovulatória, deficiência de progesterona ou obesidade. Os factores de risco conhecidos e comprovados são classicamente divididos em endógenos – história familiar, idade avançada (a média são os 60 anos), síndrome do ovário poliquístico e obesidade – e exógenos – níveis elevados de estrogénios sem oposição, terapêutica com tamoxifeno e radioterapia prévia. [7]

O cancro do endométrio, na sua maioria, hormono-dependente é uma das neoplasias que pode ter incidência aumentada em populações submetidas a tratamentos indutores de ovulação. Os níveis suprafisiológicos de estrogénio subjacentes à terapêutica com agentes indutores da ovulação podem levar a uma hiperplasia do endométrio, com aumento da actividade mitótica neste tecido e, portanto, a probabilidade de ocorrência de mutações aleatórias - o que pode levar a cancro [11]. No entanto, como referido acima, sendo a progesterona protectora, é igualmente plausível sugerir que os fármacos indutores da ovulação, graças à produção de progesterona conseguida após esta última, possam diminuir o risco oncológico do endométrio.

Indução da Ovulação e Risco de Cancro do Útero

Sendo quimicamente semelhante ao tamoxifeno, não é de estranhar que se tenha encontrado um aumento do risco de cancro do endométrio com a utilização do citrato de clomifeno em variados estudos [52]. Chalderon-Margarit et al. reportaram um aumento significativo do risco (HR 4.56) e Althuis et al. foram os primeiros a apontar para um efeito relacionado com a dose e com factores como a nuliparidade e a obesidade [53][54]. Doses superiores a 900 mg, seis ou mais ciclos e o uso prolongado de CC surgem associados a um aumento do risco de cancro do útero.

O estudo conduzido por Jensen et al. concluiu que o recurso às gonadotrofinas está associado a aumento do risco oncológico para cancro do útero. Quanto maior a dose e o tempo de follow up, mais alto era o risco – especialmente após mais de 10 anos. Este estudo verificou também um aumento do risco com seis ou mais ciclos com o uso de CC ou de hCG [43].

Brinton et al. publicaram em 2013 os resultados de um estudo retrospectivo com uma coorte de 12193 mulheres avaliadas por infertilidade que considerou informações



relativas a possíveis factores confundidores e acerca do qual os investigadores concluíram que não havia uma relação substancial entre o recurso aos fármacos indutores da ovulação, que aqui foram o citrato de clomifeno e as gonadotrofinas, e o aumento do cancro do endométrio. Verificaram, no entanto, um risco significativamente aumentado em mulheres que iniciaram tratamentos indutores de ovulação antes dos 30 anos, o que pode estar mais relacionado com outros factores de risco, nomeadamente uma anovulação mais precoce e prolongada e a própria infertilidade [48].

FIV e Risco de Cancro do Útero

No que toca aos agentes indutores de ovulação e respectivas doses usadas em contexto de FIV os resultados continuam a ser discordantes ao que acresce um número limitado de estudos nesta área, contrariamente ao que sucede com as neoplasias do ovário e da mama – mais frequentes e bem estudadas. Nos estudos de que dispomos as coortes não são alargadas, o que pode reflectir que, por um lado, a FIV é uma técnica relativamente recente e, por outro, que a neoplasia do endométrio surge numa fase mais avançada da vida.

A meta-análise levada a cabo por Siristatidis et al. referida anteriormente identificou um risco aumentado de neoplasia do endométrio, baseados em cinco estudos e um total de 18 casos de cancro no grupo submetido a FIV, que desapareceu ao ajustar os números pelo efeito da infertilidade [49].

Uma meta-análise conduzida por Zhao et al. no mesmo ano não encontrou uma associação significativa entre FIV e o aumento do risco de cancro do endométrio. Esta meta-análise aponta ainda a FIV como um factor de protecção no caso da neoplasia do colo do útero [31].

Já foi referido um estudo israelita conduzido por Kessous et al. em que os investigadores concluem que a FIV é um factor de risco independente para o desenvolvimento, a longo prazo, de neoplasias do ovário e útero. Estes resultados discordantes podem advir de uma exposição hormonal superior – quer por doses mais altas, mais ciclos de FIV e protocolos diferentes [44].



Agentes indutores da ovulação e neoplasia da mama

O cancro da mama é mundialmente a neoplasia mais comum nas mulheres [11] e as suas causas são complexas e multifactoriais.

Oncogénese mamária

Uma teoria que parece ter aceitação geral é a de que a exposição aos estrogénios endógenos – menarca precoce, menopausa tardia – aumenta o risco de desenvolvimento de neoplasia mamária. Vários estudos têm demonstrado também a importância das hormonas exógenas (anticoncepcionais orais e terapêutica hormonal de substituição) na carcinogénese mamária. Por outro lado, a paridade – associada a estados de elevados níveis de progesterona - parece ser um factor protector, bem como o tamoxifeno e o raloxifeno que se têm mostrado eficazes na prevenção desta neoplasia.

Importa ainda considerar que factores que têm sido considerados de risco para o desenvolvimento desta neoplasia como a nuliparidade, idade avançada ao primeiro filho e a própria infertilidade são características da população infértil, pelo que é importante compreender se o tratamento de indução de ovulação é um factor de risco per se, ou se o risco aumentado a que as utilizadoras desta medicação possam estar sujeitas advém, fundamentalmente, do próprio estado de nuliparidade e da causa de infertilidade.

Indução da ovulação e neoplasia da mama

Surpreendentemente, a possível associação entre o cancro de mama e o uso de fármacos indutores de ovulação tem sido pouco estudada - apesar dos seus reconhecidos efeitos na ovulação e nos níveis séricos hormonais e de alguns estudos terem sugerido essa associação. No entanto, apesar da plausibilidade biológica, os resultados têm sido confusos, já que, se alguns estudos mostram um possível aumento do risco associado ao uso de agentes indutores da ovulação, outros sugerem que estes agentes conferem um certo grau de protecção e outros estudos não demonstram qualquer relação substancial.

Em 1996, Rossing et al. descreveram uma diminuição não estatisticamente significativa do risco oncológico mamário associada ao uso do clomifeno. Baseada num pequeno número de exposições (12), esta diminuição não parecia variar com o tempo de utilização. Tendo em conta que o clomifeno, tal como tamoxifeno, é um modulador selectivo dos receptores de estrogénios, seria interessante e até plausível o seu efeito quimiopreventivo [56]. Contrariamente, Brinton et al. publicaram em 2014 um estudo



em 9892 mulheres que procuraram aconselhamento por infertilidade entre 1965 e 1988, com um follow up médio de 30 anos, acerca do qual concluíram que o aumento do risco oncológico do clomifeno só era significativo a partir dos 12 ciclos, o que excede largamente as exposições actualmente usadas. Concluíram ainda, relativamente às gonadotrofinas, que estas não estavam relacionadas com qualquer risco oncológico mamário excepto em mulheres que se mantiveram nuligrávidas, reflectindo a indicação para o uso – a própria causa da infertilidade [16].

Jensen et al. conduziram um alargado estudo de coorte, a mesma usada para para os estudos sobre a relação com os cancros do ovário e do útero, que não demonstrou uma associação entre a neoplasia da mama e o uso de agentes indutores da ovulação (CC, hCG e análogos da GnRH). No entanto, referem um aumento do risco num subgrupo de doentes que recorreram, simultaneamente, a progestagénios [43].

Já referido anteriormente, o estudo conduzido por Chalderon-Malgarit et al. incluiu 15030 puérperas tratadas com CC ou gonadotrofinas, descreveu um aumento significativo do risco oncológico mamário que aumentava se as mulheres tivessem demorado mais de 12 meses para conceber [53].

Gauthier et al., num estudo prospectivo que incluiu 6602 mulheres submetidas a tratamentos com indutores da ovulação, registaram um possível aumento do risco de cancro de mama após os tratamentos em mulheres com antecedentes familiares da doença, sendo que, no cômputo geral, não havia uma associação significativa entre o risco oncológico e o tratamento, qualquer que fosse o agente considerado [57].

FIV e neoplasia da mama

Em 1999, um estudo já referido conduzido por Venn et al. conclui que haveria um risco transitório de diagnóstico de cancro de mama ou do útero durante o primeiro ano após o tratamento. No entanto, a incidência não é superior ao esperado, e os autores sugerem a possibilidade de malignização de lesões pré-existentes [5].

Estudos mais recentes demonstram não haver uma influência dos tratamentos para sobreestimulação ovárica no risco oncológico mamário. Sergeantanis et al. procederam em 2014 a uma meta-análise que incluiu 3 estudos de coorte e um total de 14961 casos de cancro da mama. Não foi encontrada uma relação significativa com a FIV quer em comparação com a população em geral quer comparando com a população



infértil. Na verdade, parece haver uma redução do risco de cancro da mama nas mulheres grávidas pós FIV [58].

A meta-análise levada a cabo por Zhao et al. teve conclusões semelhantes. Não parece haver uma associação entre a sobreestimulação ovárica para FIV e um subsequente risco oncológico. Esta meta-análise incluiu 151702 mulheres e 866 casos de cancro de mama e teve um Odds Ratio combinado de 0.69 [31].

Agentes Indutores da Ovulação e Mutações BRCA

À semelhança do que Gronwald et al. estudaram relativamente à neoplasia do ovário, também Kotsopoulos et al, em 2008, concluíram que os tratamentos de fertilidade, incluindo a FIV, não aumentavam o risco de cancro da mama em mulheres com mutações BRCA 1 e 2 [59].



Conclusão

Os dados que existem sobre a associação entre os fármacos indutores da ovulação e o seu potencial risco oncológico são poucos e vêm, fundamentalmente, de estudos observacionais com limitações metodológicas importantes. Estas incluem amostras com poucos casos de cancro, protocolos heterogéneos, pouca informação acerca da duração e das doses dos tratamentos, viéses de memória em estudos com recurso a inquéritos retrospectivos e tempos de follow-up curtos.

Apesar de quase todos os estudos disponíveis serem focados em protocolos de tratamento mais antigos – como a exposição ao clomifeno – os mais recentes começam a focar-se em efeitos a longo-prazo dos agentes usados em contexto de FIV. A idade, em média, das mulheres que recorrem à FIV é de 35,3 anos [61] e a idade média para o diagnóstico de neoplasias do ovário e útero é 60 anos [62] pelo que a maioria das doentes tratadas ainda não chegou a essa fase. Assim, a vigilância actual é fundamental para compreender possíveis tendências futuras.

De modo geral, os estudos publicados até à data, não revelam um aumento significativo do risco de desenvolvimento de cancros ginecológicos e da mama. Importa lembrar que quer a própria infertilidade com as suas variadas causas, quer a nuliparidade decorrente da mesma, parecem ser importantes factores de risco oncológico, podendo limitar a aplicabilidade de estudos mais antigos que mostravam algum aumento desse risco atribuído aos tratamentos de fertilidade. Por outro lado, um tratamento de fertilidade bem sucedido, culminando numa ou várias gravidezes poderá levar a uma diminuição do risco de desenvolvimento de cancro numa mulher nuligesta. Numa perspectiva de aconselhamento, as doentes podem ser tranquilizadas quanto à possibilidade de desenvolvimento de neoplasias decorrentes dos tratamentos de fertilidade.

É importante manter-nos actualizados quanto a este tópico já que, evidentemente, estudos futuros podem indicar o contrário. Estão a decorrer estudos nos EUA, Israel e vários países escandinavos e seria também interessante iniciar um em Portugal.



Agradecimentos

A realização deste trabalho final de mestrado contou com o apoio e incentivo de diversas pessoas às quais estarei eternamente grata.

Em primeiro lugar, agradeço ao Dr. Joaquim Nunes não apenas a orientação, disponibilidade, a opinião, a crítica, as sugestões e correções e a total colaboração neste artigo mas também o entusiasmo e o gosto pelo excelente trabalho que faz, quer na prática clínica quer na docência.

Agradeço a toda a equipa do serviço de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital Santa Maria, em especial à equipa de Infertilidade, que me mostrou a aplicação prática de procedimentos e conhecimentos sobre os quais tanto li na execução deste trabalho. Agradeço à Dra. Sandra Sousa, em particular, que nunca se cansou de responder a todas as questões e dúvidas que lhe fui colocando ao longo do estágio no passado mês de Outubro.

Ao Professor Doutor Carlos Calhaz-Jorge e à Dra. Cátia Rodrigues agradeço, para além dos conhecimentos transmitidos, a disponibilidade para integrarem o júri da prova pública deste trabalho.

À minha família e amigos, pelo apoio incondicional, pela paciência, carinho e orgulho que demonstram em todos os momentos.



Bibliografia

- [1] Mathews TJ, Hamilton B. (2014). First births to older women continue to rise. *NCHS data brief, no 152*. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics.
- [2] Lerner-Geva L, Keinan-Boker L, Blumstein T, Boyko V, Olmar L, Mashiach S, et al. (2006). Infertility, ovulation induction treatments and the incidence of breast cancer--a historical prospective cohort of Israeli women. *Breast cancer research and treatment*.;100(2):201-12.
- [3] Saúde Reprodutiva INFERTILIDADE. Lisboa: Direcção-Geral da Saúde, 2008 978-972-675-186-1
- [4] Silva-Carvalho, JL., Santos A. (2009) – Estudo AFRODITE. Caracterização da Infertilidade em Portugal. *Estudo na Comunidade*; 9-73
- [5] Venn, A., Watson, L., Bruinsma, F., Giles, G., & Healy, D. (1999). Risk of cancer after use of fertility drugs with in-vitro fertilisation. *Lancet (London, England)*., 354(9190), 1586–90.
- [6] Konishi, I. (2006). Gonadotropins and ovarian carcinogenesis: A new era of basic research and its clinical implications. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society*., 16(1), 16–22.
- [7] Saso, S., Louis, L., Doctor, F., Hamed, A., Chatterjee, J., Yazbek, J., ... Thum, M. (2015). Does fertility treatment increase the risk of uterine cancer? A meta-analysis. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*., 195, 52–60.
- [8] Stewart, L., Holman, C., Hart, R., Bulsara, M., Preen, D., & Finn, J. (2012). In vitro fertilization and breast cancer: Is there cause for concern? *Fertility and sterility*., 98(2), 334–40.
- [9] Fathalla MF. (1971). Incessant ovulation—a factor in ovarian neoplasia? *Lancet*;2:163.
- [10] Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. II. Inference regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1983;71:717–21



- [11] Louis, L. S., Saso, S., Ghaem-Maghami, S., Abdalla, H., & Smith, J. R. (2013). The relationship between infertility treatment and cancer including gynaecological cancers. *The Obstetrician & Gynaecologist*, 15(3), 177–183. doi:10.1111/tog.12040
- [12] Cramer, D. (2012). The epidemiology of endometrial and ovarian cancer. *Hematology/oncology clinics of North America.*, 26(1), 1–12.
- [13] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2016). Fertility drugs and cancer: A guideline. *Fertility and sterility.*, 106(7), 1617–1626.
- [14] Hernandez-Hernandez OT, Camacho-Arroyo I. (2013). Regulation of gene expression by progesterone in cancer cells: effects on cyclin D1, EGFR and VEGF. *Mini Rev Med Chem*;13:635–42.
- [15] Diaz Flaqu_e MC, Vicario R, Proietti CJ, Izzo F, Schillaci R, Elizalde PV. (2013). Progestin drives breast cancer growth by inducing p21(CIP1) expression through the assembly of a transcriptional complex among Stat3, progesterone receptor and ErbB-2. *Steroids*;78:559–67.
- [16] Brinton LA, Scoccia B, Moghissi KS, Westhoff CL, Niwa S, Ruggieri D, et al. (2014). Long-term relationship of ovulation-stimulating drugs to breast cancer risk. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology.* ;23(4):584-93.
- [17] Brinton, L., Sahasrabudhe, V., & Scoccia, B. (2012). Fertility drugs and the risk of breast and gynecologic cancers. *Seminars in reproductive medicine.*, 30(2), 131–45.
- [18] Lerner-Geva L, Rabinovici J, Olmer L, Blumstein T, Mashiach S, Lunenfeld B. Are infertility treatments a potential risk factor for cancer development? Perspective of 30 years of follow-up. *Gynecol Endocrinol* 2012;28:809–14.
- [19] Zegers-Hochschild, F., Adamson, G., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., & Nygren, K. et al. (2009). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009*. *Fertility And Sterility*, 92(5), 1520-1524.



- [20] Mascarenhas, M., Flaxman, S., Boerma, T., Vanderpoel, S., & Stevens, G. (2012). National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *Plos Medicine*, 9(12), e1001356.
- [21] Evers, J. (2002). Female subfertility. *The Lancet*, 360(9327), 151-159.
- [22] Boivin, J., Bunting, L., Collins, J., & Nygren, K. (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction*, 22(6), 1506-1512.
- [23] WHO,. (2011). *World report on disability 2011*. Retrieved from http://www.who.int/disabilities/world_report/2011/report.pdf
- [24] Slama, R., Hansen, O., Ducot, B., Bohet, A., Sorensen, D., & Giorgis Allemand, L. et al. (2012). Estimation of the frequency of involuntary infertility on a nation-wide basis. *Human Reproduction*, 27(5), 1489-1498.
- [25] Chandra, A. & Stephen, E. (1998). Impaired Fecundity in the United States: 1982-1995. *Family Planning Perspectives*, 30(1), 34.
- [26] Bayer, S., Alper, M., Penzias, A., & Berger, B. *The Boston IVF handbook of infertility* (1st ed.).
- [27] Balen, A. *Infertility in practice* (1st ed.).
- [28] Goldstein SR, Siddhanti S, Ciaccia AV, Plouffe L Jr: A pharmacological review of selective oestrogen receptor modulators. *Hum Reprod Update* 2000, 6(3):212–224
- [29] Von Hofe J, Ovulation Induction 2015; Practice Committee of the american society for reproductive m. use of clomifene citrate in infertile women 2013; Casper RF, aromatase inhibitors in ovarian stimulation 2007
- [30] Van Wely, M., Westergaard, L.G., Bossuyt, P.M., & Van der Veen, F. (2003). Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. 'Cochrane Database Syst Rev.>'; 2003;(1):CD003973
- [31] Zhao, J., Li, Y., Zhang, Q., & Wang, Y. (2015). Does ovarian stimulation for IVF increase gynaecological cancer risk? A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 31(1), 20-29.



- [32] Merviel, P., Cabry, R., Boulard, V., Lourdel, E., Oliéric, M., & Claeys, C. et al. (2009). Risques de la stimulation ovarienne et du prélèvement ovocytaire. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 37(11-12), 926-933.
- [33] Fishel, S. & Jackson, P. (1989). Follicular stimulation for high tech pregnancies: are we playing it safe?. *BMJ*, 299(6694), 309-311.
- [34] Howlander N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2010. National Cancer Institute
- [35] Ledermann JA, Raja FA, Fotopoulou C, Gonzalez-Martin A, Colombo N, Sessa C, et al. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2013;24 Suppl 6:vi24-32.
- [36] Kurta ML, Moysich KB, Weissfeld JL, Youk AO, Bunker CH, Edwards RP, et al. Use of fertility drugs and risk of ovarian cancer: results from a U.S.-based case-control study. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2012;21(8):1282-92.
- [37] Sueblinvong T, Carney ME. Current understanding of risk factors for ovarian cancer. *Current treatment options in oncology*. 2009;10(1-2):67-81.
- [38] Diergaard, B. & Kurta, M. (2014). Use of fertility drugs and risk of ovarian cancer. *Current Opinion In Obstetrics And Gynecology*, 26(3), 125-129.
- [39] Mohle J, Whittemore A, Pike M, Darby S. Gonadotrophins and ovarian cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 1985; 75(1):178–80.
- [40] Rossing, M., Daling, J., Weiss, N., Moore, D., & Self, S. (1994). Ovarian Tumors in a Cohort of Infertile Women. *New England Journal Of Medicine*, 331(12), 771-776.
- [41] Sanner, K., Conner, P., Bergfeldt, K., Dickman, P., Sundfeldt, K., & Bergh, T. et al. (2009). Ovarian epithelial neoplasia after hormonal infertility treatment: long-term follow-up of a historical cohort in Sweden. *Fertility And Sterility*, 91(4), 1152-1158.
- [42] Brinton, L. (2004). Breast cancer risk associated with ovulation-stimulating drugs. *Human Reproduction*, 19(9), 2005-2013.



- [43] Jensen, A., Sharif, H., Frederiksen, K., & Kjaer, S. (2009). Use of fertility drugs and risk of ovarian cancer: Danish population based cohort study. *BMJ*, 338(feb05 2), b249-b249.
- [44] Kessous, R., Davidson, E., Meirovitz, M., Sergienko, R., & Sheiner, E. (2015). The risk of female malignancies after fertility treatments: a cohort study with 25-year follow-up. *Journal Of Cancer Research And Clinical Oncology*, 142(1), 287-293.
- [45] Venn, A., Watson, L., Lumley, J., Gilles, G., King, C., & Healy, D. (1995). Breast and ovarian cancer incidence after infertility and in vitro fertilisation. *The Lancet*, 346(8981), 995-1000.
- [46] Kallen, B., Finnstrom, O., Lindam, A., Nilsson, E., Nygren, K., & Otterblad Olausson, P. (2010). Malignancies among women who gave birth after in vitro fertilization. *Human Reproduction*, 26(1), 253-258.
- [47] Van Leeuwen, F., Klip, H., Mooij, T., Van de Swaluw, A., & Burger, C. (2011). Risk of borderline and invasive ovarian tumors after ovarian stimulation for in vitro fertilization in a large Dutch cohort. *Fertility And Sterility*, 90, S75.
- [48] Brinton, L., Trabert, B., Shalev, V., Lunenfeld, E., Sella, T., & Chodick, G. (2013). In vitro fertilization and risk of breast and gynecologic cancers: a retrospective cohort study within the Israeli Maccabi Healthcare Services. *Fertility And Sterility*, 99(5), 1189-1196.
- [49] Siristatidis, C., Sargentanis, T., Kanavidis, P., Trivella, M., Sotiraki, M., & Mavromatis, I. et al. (2012). Controlled ovarian hyperstimulation for IVF: impact on ovarian, endometrial and cervical cancer--a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 19(2), 105-123.
- [50] Trabert, B., Lamb, E., Scoccia, B., Moghissi, K., Westhoff, C., Niwa, S., & Brinton, L. (2013). Ovulation-inducing drugs and ovarian cancer risk: results from an extended follow-up of a large United States infertility cohort. *Fertility And Sterility*, 100(6), 1660-1666.
- [51] Gronwald, J., Glass, K., Rosen, B., Karlan, B., Tung, N., & Neuhausen, S. et al. (2016). Treatment of infertility does not increase the risk of ovarian cancer among women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Fertility And Sterility*, 105(3), 781-785.



[52] dos Santos Silva, I., Wark, P., McCormack, V., Mayer, D., Overton, C., & Little, V. et al. (2009). Ovulation-stimulation drugs and cancer risks: a long-term follow-up of a British cohort. *British Journal Of Cancer*, 100(11), 1824-1831.

[53] Calderon-Margalit, R., Friedlander, Y., Yanetz, R., Kleinhaus, K., Perrin, M., & Manor, O. et al. (2008). Cancer Risk After Exposure to Treatments for Ovulation Induction. *American Journal Of Epidemiology*, 169(3), 365-375.

[54] Althuis, M. (2005). Uterine Cancer after Use of Clomiphene Citrate to Induce Ovulation. *American Journal Of Epidemiology*, 161(7), 607-615.

[55] Reigstad, M., Larsen, I., Myklebust, T., Robsahm, T., Oldereid, N., & Omland, A. et al. (2015). Cancer risk among parous women following assisted reproductive technology. *Human Reproduction*, 30(8), 1952-1963.

[56] Rossing, M., Daling, J., Weiss, N., Moore, D., & Self, S. (1996). Risk of Breast Cancer in a Cohort of Infertile Women. *Gynecologic Oncology*, 60(1), 3-7.

[57] Gauthier, E. (2004). Breast cancer risk associated with being treated for infertility: results from the French E3N cohort study. *Human Reproduction*, 19(10), 2216-2221.

[58] Sergentanis, T., Diamantaras, A., Perlepe, C., Kanavidis, P., Skalkidou, A., & Petridou, E. (2013). IVF and breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 20(1), 106-123.

[59] Kotsopoulos, J., Librach, C., Lubinski, J., Gronwald, J., Kim-Sing, C., & Ghadirian, P. et al. (2008). Infertility, treatment of infertility, and the risk of breast cancer among women with BRCA1 and BRCA2 mutations: a case-control study. *Cancer Causes & Control*, 19(10), 1111-1119.

[60] Comissão Nacional para a Procriação Medicamente Assistida . (2011). *Relatório da Actividade em PMA 2009*. Retrieved from http://www.cnpma.org.pt/Docs/RELATORIO_ACTIVIDADE_PMA2009.pdf

[61] Comissão Nacional para a Procriação Medicamente Assistida . (2015). *Relatório da Actividade em PMA 2013*. Retrieved from http://www.cnpma.org.pt/Docs/RELATORIO_ATIVIDADE_PMA2013.pdf

[62] Cannistra SA. (2004) Cancer of the ovary. *NEJM*; 351:2519-29.