

**Universidade do Porto**  
**Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar**  
**Mestrado Integrado em Medicina**

# ***Fertilidade na Síndrome de Turner***

Dissertação - Artigo de Revisão Bibliográfica

**Catarina Ribeiro Costa**

**Orientadora: Dra. Márcia Barreiro**

Porto, Junho de 2015

## **AGRADECIMENTOS**

Com certeza este espaço seria pequeno para agradecer como deveria a quem me acompanhou durante este percurso, ainda assim gostaria de aqui deixar algumas palavras em sinal do meu profundo agradecimento.

Aos *meus pais*, por acreditarem sempre no meu esforço e nunca desistirem de mim, pela vossa luta diária, por todo o apoio, por toda o carinho e dedicação. Levo comigo o que tenho de mais valioso, os valores que me transmitiram. Espero honrar-vos sempre.

Ao *meu irmão*, pela paciência, pela ternura, pelos abraços e por todos os momentos em que me fazes rir e sorrir. Preenches o meu coração de orgulho.

À *Tia Paula e ao Tio Dudu*, por me proporcionarem uma vida tão mais leve e feliz, pelo vosso afeto e generosidade, por fazerem parte da minha vida e com isso me tornarem uma pessoa melhor.

À *Tia Nanda*, por me fazeres acreditar, por me dares alento e por me reconfortares.

A *todos os meus outros familiares e amigos* que percorreram comigo este caminho, pelos momentos difíceis que superei convosco, pela força, pela partilha e também pelos momentos felizes.

À *minha orientadora, a Dra. Márcia Barreiro*, antes de mais por ter despertado em mim o interesse pela área da infertilidade e, do mesmo modo, por me ter orientado nesse sentido e contribuído ativamente para a concretização deste trabalho.

A *ti, meu ICBAS*, pela experiência, pelo conhecimento, pelo crescimento profissional e pessoal e, sobretudo, por me tornares mais capaz.

## **RESUMO**

A Síndrome de Turner é uma monossomia total ou parcial do cromossoma X, expressa em indivíduos fenotipicamente femininos. Apresenta um espectro clínico heterogêneo caracterizado, sobretudo, por baixa estatura e disgenesia gonadal, pelo que a terapêutica com hormona de crescimento e estroprogestativos está recomendada. Devido a um processo de falência ovárica prematura, apenas 30% desenvolve puberdade espontânea, 10% atinge a menarca e 2-10% alcança gravidez espontânea.

Esta revisão tem como objetivos o estudo da fertilidade e dos métodos desenvolvidos para a preservação desta na Síndrome de Turner.

A evidência de sinais de puberdade espontânea, a presença de mosaïcismo ou de deleções distais do cromossoma X, a existência de útero e ovários normais, os níveis normais de hormona folículo estimulante e o doseamento sérico mensurável de hormona anti Mülleriana, inibina B e inibina A têm sido propostos como preditores de função ovárica.

As opções de parentalidade na Síndrome de Turner englobam a gravidez espontânea, a fertilização homóloga e a heteróloga, a maternidade de substituição e a adoção.

A gravidez espontânea é mais frequente em cariótipos mosaicos, estando associada a maior taxa de abortamentos do que a doação de ovócitos.

Como fertilização homóloga destacam-se a criopreservação de ovócitos e a de tecido ovárico, que só têm interesse em ser realizadas enquanto houver função ovárica residual. A criopreservação de ovócitos tem sido proposta em adolescentes, enquanto a criopreservação de tecido ovárico pode ser realizada em qualquer idade.

A doação de ovócitos é o método mais amplamente estudado nestas mulheres, apresentando alguns resultados animadores. Recentemente, a transplantação de tecido ovárico heterólogo também foi sugerida como opção de parentalidade.

A gravidez na Síndrome de Turner é alvo de elevada morbidade e mortalidade obstétrica e neonatal pelo que o aconselhamento, a orientação e a vigilância antes, durante e após a gravidez são cruciais na prevenção de complicações.

**Palavras-chave:** Síndrome de Turner, preservação da fertilidade, criopreservação, ovócitos, tecido ovárico

## **ABSTRACT**

Turner Syndrome is a complete or partial X monosomy that only affects females. It is associated to different clinical features, but the most common are short stature and gonadal dysgenesis, so growth hormone treatment and hormone replacement therapy are recommended. Because of premature ovarian failure, only 30% have spontaneous puberty, menarche appears in 10% and spontaneous pregnancy been reported in 2-10%.

The aims of this review article are the study of fertility and of methods to preserve fertility in Turner`s Syndrome patients.

The signs of spontaneous puberty, the presence of mosaicism or distal deletions of X chromosome, the presence of normal uterus and ovaries, the normal levels of follicle-stimulating hormone and the detectable levels of anti-Mullerian hormone, inhibin B and inhibin A have been proposed as predictors of ovarian function.

For women with Turner Syndrome the parental options are spontaneous pregnancy, homologous and heterologous fertilization, surrogate motherhood and adoption.

Spontaneous pregnancy is more frequent in mosaic karyotypes, and the miscarriage rate are higher among these women that in oocyte donation.

The homologous fertilization englobes oocyte and ovarian tissue cryopreservation, which have interest to realize if there is ovarian function. Oocyte cryopreservation had been proposed for adolescents, while cryopreservation of ovarian tissue can be realized at any age.

Oocyte donation is the most studied technique in these women and it presents some good results. Recently, the transplantation of heterologous ovarian tissue also have been suggested as a parental option.

The pregnancy in Turner Syndrome is associated with higher obstetric and neonatal morbidity and mortality, so the counseling, guidance and surveillance are crucial to prevent complications.

**Key-words:** Turner Syndrome, fertility preservation, cryopreservation, oocytes, ovarian tissue

## ÍNDICE

INTRODUÇÃO.....	1
SÍNDROME DE TURNER.....	2
PREDITORES DE FUNÇÃO OVÁRICA.....	4
FERTILIDADE.....	6
Gravidez espontânea.....	6
Fertilização homóloga.....	7
<i>Ovócitos frescos</i> .....	7
<i>Criopreservação de ovócitos</i> .....	8
<i>Criopreservação de tecido ovárico</i> .....	9
<i>Criopreservação de embriões</i> .....	12
Fertilização heteróloga.....	12
<i>Doação de ovócitos</i> .....	12
<i>Transplante ovárico</i> .....	14
ACONSELHAMENTO, RISCOS E VIGILÂNCIA.....	16
CONCLUSÃO.....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20

## **INTRODUÇÃO**

A infertilidade atinge a maioria das mulheres com Síndrome de Turner (ST), devido a um processo de falência ovárica prematura. Perante os avanços da medicina reprodutiva, novas técnicas de preservação da fertilidade têm sido propostas para crianças e adolescentes com esta síndrome. Por outro lado, o recurso à fertilização heteróloga é também uma opção de parentalidade a considerar nestas mulheres. Contudo, a gravidez na ST está associada a elevada morbilidade e mortalidade materno-fetal, que devem ser consideradas para uma tomada de decisão consciente e acertada.

A presente dissertação pretende fazer uma revisão da literatura publicada sobre a fertilidade e as técnicas disponíveis para preservação da mesma, na ST.

Num primeiro momento, faz-se uma breve referência a alguns aspetos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos desta síndrome.

Numa segunda fase, abordam-se potenciais indicadores de reserva ovárica.

De seguida, discutem-se as opções de parentalidade que podem ser oferecidas a estas mulheres, dando particular ênfase aos métodos de fertilização homóloga e heteróloga. Embora se faça referência à maternidade de substituição e à adoção como opções de parentalidade, estas não serão debatidas nesta revisão bibliográfica.

Por fim, são evidenciados os riscos inerentes à gravidez, bem como, a importância do aconselhamento e da monitorização da gestação numa mulher com ST, no sentido da prevenção de potenciais complicações.

## **SÍNDROME DE TURNER**

A Síndrome de Turner define-se como um conjunto de manifestações clínicas associadas a uma monossomia total ou parcial do cromossoma X (1).

Esta síndrome constitui uma das cromossomopatias mais frequentes, atingindo aproximadamente 1:2500-4000 recém-nascidos do sexo feminino (1, 2).

Clinicamente, 95% dos casos manifestam-se por baixa estatura e disgenesia gonadal (3). Além disso, caracteriza-se por um espectro clínico amplo e variável de acordo com a idade, o qual engloba anomalias cardíacas, renais, endocrinológicas, osteoarticulares, autoimunes, entre outras (1, 3, 4). Por sua vez, o envolvimento multiorgânico e o aumento da mortalidade exigem um acompanhamento continuado por uma equipa multidisciplinar, de forma a garantir a prevenção e o tratamento adequados de eventuais complicações (1). As manifestações fenotípicas devem-se, na sua grande maioria, a haploinsuficiência de genes ligados ao X (2). Estudos citogenéticos sugerem que a haploinsuficiência do gene *SHOX* seja responsável pela baixa estatura, enquanto as regiões cromossômicas Xq13-q21, Xq23-q27 e Xp22.1-p11.2 estarão relacionadas com a função ovárica (5).

Durante o desenvolvimento intrauterino, os fetos parecem apresentar células germinais normais até à 18ª semana de gestação, mas a maioria delas sofre um processo de apoptose acelerada, com diminuição progressiva da formação e crescimento dos folículos ováricos (6). Isto origina ovários sem folículos ou com pequenos folículos atrésicos (gónadas em fita) e, conseqüentemente, falência ovárica prematura (2, 6). Ainda que a maioria destas mulheres seja infértil, estima-se que até cerca de 30% desenvolva puberdade espontânea e 10% atinja a menarca (2).

O diagnóstico pode ser pré ou pós-natal, sendo maioritariamente (42%) realizado na adolescência (3). Ainda assim, considerando que as manifestações muitas vezes são escassas, pensa-se que uma percentagem considerável das doentes com ST não é diagnosticada ou é tardiamente, salientando-se a importância de um diagnóstico precoce para uma monitorização apropriada (2, 4). O diagnóstico é realizado através da análise do cariótipo, geralmente de sangue periférico (2, 4). Quanto mais tecidos forem analisados e maior for a contagem de células, maior a probabilidade de diagnóstico de mosaicismo, já que alguns estudos têm constatado que a expressão do cariótipo pode ser variável de tecido para tecido, num mesmo indivíduo (3, 7).

Há uma grande variabilidade de genótipos associados a esta síndrome, sendo que 50% dos casos apresentam cariótipo 45,XO, 20 a 30% constituem mosaicos (definidos pela presença da linhagem 45,XO e outra(s) linhagem(ns) celular(es)) e os restantes apresentam anomalias estruturais do X (como deleções, isocromossoma, cromossoma em anel) (2). A ocorrência de monossomia deve-se, provavelmente, a um anormal emparelhamento dos cromossomas sexuais durante a meiose, ou, a perda cromossômica durante a gametogênese ou aquando da divisão do embrião. Por outro lado, o aparecimento de mosaicismo relaciona-se com a não disjunção cromossômica, nas primeiras divisões do zigoto (3).

Embora o espectro clínico individual não seja previsível pelo cariótipo, os mosaicos estão, por norma, associados a um fenótipo mais ligeiro (1). Enquanto que cerca de metade das meninas com mosaicismo apresenta, pelo menos, algum desenvolvimento pubertário e alguns ovócitos, apenas 5 a 7% das não-mosaico apresenta função ovárica (8). Os mosaicos 46,XY têm risco aumentado de desenvolver gonadoblastoma, pelo que a gonadectomia profilática está recomendada nestes casos (4).

Segundo as orientações de 2012 da American Society for Reproductive Medicine, está recomendado iniciar tratamento com hormona de crescimento logo que uma desaceleração do crescimento seja detetada. A escolha da dose deve ser individualizada e ajustada à velocidade de crescimento da paciente, do mesmo modo que a terapêutica deve ser continuada até que se obtenha uma altura satisfatória ou a velocidade de crescimento seja inferior a 2,0 cm/ano (4). A terapêutica com oxandrolona, um esteroide anabolizante usado para maximizar a estatura final, permanece controversa, devido aos seus efeitos laterais (virilização, intolerância à glicose, entre outros) e à falta de concordância de resultados entre diferentes estudos (3, 4).

Na ausência de sinais de puberdade espontânea e níveis de hormona folículo-estimulante (FSH) elevados está indicado começar terapêutica hormonal (TH) no momento em que seria de esperar um desenvolvimento pubertário feminino normal. Isto ocorre por volta dos 12-14 anos, a fim de se garantir um normal desenvolvimento físico e psicossocial com os pares, assim como um adequado desenvolvimento da massa óssea. Inicialmente, a TH é feita com estrogénio em dose baixa, por via oral ou transdérmica e em regime de monoterapia. A associação com progestativo é iniciada cerca de um a dois anos depois ou após a menarca (1, 4). As doses de estrogénio vão aumentando com a



idade, sendo que a TH deve ser realizada até à menopausa, de maneira a manter a feminização e a prevenir a osteoporose (3).

## **PREDITORES DE FUNÇÃO OVÁRICA**

Salienta-se que sinais de desenvolvimento pubertário espontâneo, nomeadamente, a menarca e a telarca, são importantes indicadores de função ovárica (8). No entanto, tendo em consideração que estes muitas vezes não estão presentes nas crianças e adolescentes com ST, têm-se vindo a investigar outros marcadores de reserva ovárica, com o propósito de se identificar potenciais candidatas à preservação da fertilidade.

Um estudo retrospectivo português de 2013 avaliou a clínica, o cariótipo, a função gonadal e as características ecográficas do útero e dos ovários de 79 mulheres com ST. Os autores concluíram que o cariótipo em mosaico (com maior expressão da linhagem celular 46,XX), os níveis normais ou ligeiramente aumentados de FSH e a existência de útero e ovários normais (dimensões e presença de folículos ováricos) associam-se, mais frequentemente, a existência de função gonadal e a desenvolvimento pubertário espontâneo (2). Hovatta *et al.* (2012) e Purushothaman *et al.* (2010) já haviam documentado conclusões semelhantes (8, 9).

Além do anteriormente mencionado, deleções distais do braço longo do cromossoma X (que poupam determinados locus relacionados com a função ovárica) também são associadas a menarca espontânea. Por outro lado, alguns cariótipos como 45,XO, cromossoma X em anel, isocromossoma do braço longo do X, outras deleções Xq, deleções Xp e mosaicismo para 46,XY foram relacionados com baixo potencial de fertilidade (9).

Outros marcadores de função ovárica têm vindo a ser estudados, destacando-se a hormona anti Mülleriana (HAM), a inibina B e a inibina A.

A HAM é expressa pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e dos pequenos folículos antrais, apresentando um papel inibitório em duas fases da foliculogénese: no recrutamento de folículos primordiais e na sensibilização dos folículos antrais à FSH. Desta forma, a HAM é um indicador bioquímico da reserva de folículos primordiais (9, 10). Os níveis séricos desta hormona aumentam ligeiramente durante a puberdade, permanecem constantes na adolescência, começam a decrescer na idade adulta e atingem níveis séricos não mensuráveis na menopausa. Além disso, tem-se

verificado que esses declínios precedem as alterações de marcadores tradicionais (como a FSH e a inibina B), o que permite concluir que a HAM é um marcador de função ovárica independente do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal feminino (10). Num coorte de 270 raparigas com ST publicado em 2013, verificou-se que os níveis séricos de HAM correlacionam-se positivamente com o cariótipo (os níveis de HAM foram detetados em 10% das doentes 45,XO, em 77% das doentes 45,XO/46,XX e em 25% das doentes com outros cariótipos) e com sinais de desenvolvimento pubertário (desenvolvimento mamário e menarca), e negativamente com os valores séricos de FSH e hormona luteinizante (LH) (10). Além disto, Borgstrom *et al.* (2009) documentaram a relação direta entre os níveis de HAM e o número de folículos ováricos encontrados após biópsia de tecido ovárico (11). Por isso, tem-se proposto que a HAM é um preditor de função ovárica útil na avaliação de meninas e adolescentes com ST (8-10, 12).

A inibina B é secretada por folículos primordiais, prevenindo a formação de folículos antrais. Portanto, o doseamento dos seus níveis séricos está associado à contagem de folículos totais (9, 12). Contudo, um nível sérico não detetável de inibina B não é um indicador específico de falência ovárica, já que pacientes saudáveis podem apresentar inibina B não doseável (12). Ainda assim, num estudo longitudinal que englobou 70 doentes com ST, Hagen *et al.* (2010) demonstraram que 9 em 10 pacientes com puberdade espontânea tiveram pelo menos um doseamento detetável de inibina B. Isto sugere que doseamentos consecutivos de inibina B aumentam a possibilidade de deteção de crianças com reserva ovárica e, do mesmo modo, níveis sucessivamente indetetáveis desta hormona durante a infância são altamente preditivos de falência ovárica e de falha na puberdade espontânea (12).

A inibina A é uma hormona libertada pelo corpo lúteo. Ainda que pouco estudada no âmbito da ST, Purushothaman *et al.* (2010) sugerem que o doseamento da inibina A pode ser útil na avaliação da função ovárica de raparigas com esta síndrome, inclusivamente em fase pré-pubertária (9).

Importa ainda referir que a idade por si só, não constitui um fator de prognóstico (8).

Apesar de existirem fatores preditores de reserva ovárica, destaca-se que já foram documentados casos de conceção em mulheres com ST sem estes marcadores, o que evidencia a dificuldade de predizer a existência de função ovárica nestas pacientes (8, 13-16).

## **FERTILIDADE**

A grande maioria destas doentes desenvolve falência ovárica prematura, pelo que a infertilidade é alvo de particular interesse e preocupação nestas mulheres (17).

Os avanços recentes das técnicas de procriação medicamente assistida (PMA), da criopreservação e da vitrificação vieram possibilitar a preservação da fertilidade em crianças, adolescentes e mulheres jovens com afeção da função ovárica. Posto isto, a preservação da fertilidade deve ser considerada em doentes submetidas a ooforectomia, a terapêuticas gonadotóxicas ou em caso de doença endócrina ou genética associada a falência ovárica prematura, tal como a ST (18, 19).

Entre as opções de parentalidade para mulheres com ST encontra-se a gravidez espontânea, a maternidade de substituição, a adoção, a fertilização homóloga e a heteróloga. Estas duas últimas englobam o recurso a ovócitos frescos, a ovócitos criopreservados e a tecido ovárico criopreservado, os quais provêm, respetivamente, da própria mulher ou de uma dadora (20, 21).

### **Gravidez espontânea**

Apenas 2 a 10% das gestações nas mulheres com ST resultam de conceção espontânea (8).

Num coorte sueco de 482 mulheres com ST documentado em 2011, 12% das pacientes ficaram grávidas, tendo 40% destas engravidado espontaneamente e 60% através de técnicas de PMA. Em 47% dos casos foram usados ovócitos da própria mulher e em 53% ovócitos de dadoras. Os investigadores verificaram que, tal como já havia sido relatado em estudos anteriores, a taxa de abortamentos espontâneos em mulheres que engravidaram a partir dos seus próprios ovócitos foi maior que a das mulheres em que foram usados ovócitos doados (45 vs 26%). Este dado vem suportar a hipótese de que fatores ovocitários poderão estar na origem das elevadas percentagens de abortamentos em mulheres com ST, que engravidam a partir de ovócitos próprios (15).

Um estudo retrospectivo norte-americano de 2011 analisou um coorte de 276 mulheres com ST, no decurso do qual apenas 12,3% das mulheres tiveram filhos. Destas 9,1% optaram pela adoção, 1,8% engravidaram espontaneamente e 1,8% recorreram a técnicas de PMA. Neste coorte, as gravidezes espontâneas foram associadas a menarca espontânea e a desenvolvimento pubertário. Os autores do referido estudo salientam que uma

apropriada educação e prevenção da gravidez devem fazer parte dos cuidados prestados a uma adolescente com ST que manifestou puberdade espontânea (22). Alguns estudos referem um elevado número de malformações e defeitos cromossômicos, como a trissomia 21, nas gravidezes espontâneas de mulheres com ST. Pensa-se no entanto que a elevada frequência de Síndrome de Down (SD) estará mais relacionado com a idade materna avançada do que com deficiências no cromossoma X. Neste coorte, das sete gravidezes espontâneas relatadas, nasceram sete crianças normais e sem anomalias cromossômicas (22).

Bryman *et al.* (2011) confirmaram que a maioria das gestações ocorre em doentes com cariótipo em mosaico, ainda que a diferença entre gestantes com mosaicismo e monossomia tenha vindo a decrescer, sobretudo devido ao tratamento com ovócitos doados (15). Ambos os estudos supracitados referem que a existência de gravidez em mulheres monossômicas demonstra que possivelmente existem muitos *loci* genéticos a contribuir para a geração e sobrevivência dos ovócitos, afetando assim a fertilidade global. Ou seja, é provável que existam alelos autossômicos que contribuam para o fenótipo ovárico, compensando, assim, a haploinsuficiência de genes desconhecidos ligados ao X envolvidos na função ovárica (15, 22). Por outro lado, também pode haver diferença entre o cariótipo do sangue periférico e dos ovários na mesma paciente, o que leva a suspeitar que algumas doentes identificadas inicialmente como monossômicas poderão, na realidade, constituir mosaicos (15).

### **Fertilização homóloga**

A fertilização homóloga, isto é, aquela em que são usados gâmetas da própria mulher, viabiliza a possibilidade de ter uma descendência que partilha da mesma informação genética (23).

Não obstante, as opções de preservação da fertilidade em crianças são limitadas, devido à sua imaturidade sexual e psicossocial (18).

### ***Ovócitos frescos***

Embora poucos casos tenham sido publicados, a fertilização *in vitro* de ovócitos frescos autólogos pode ser uma opção para pacientes que ainda apresentam função ovárica na idade adulta (15, 24). Ao contrário de outros estudos, num caso reportado por

Manno *et al.* (2009), a percentagem de monossomia do X parece não ser um fator de prognóstico decisivo no resultado da FIV homóloga, em pacientes com ST (24, 25). Posto isto, os autores consideram que este método deve ser proposto antes da fertilização heteróloga, mesmo em mulheres com elevado grau de mosaicismo e reserva ovárica diminuída (24).

### ***Criopreservação de ovócitos***

A preservação de ovócitos é um processo que compreende a colheita de ovócitos maduros, a encubação em ambiente crioprotetor e a criopreservação (20).

Tradicionalmente, a criopreservação era realizada segundo um método de congelação lento, todavia estudos mais recentes têm descrito uma nova técnica, a vitrificação (26). Esta última tem por base um processo de arrefecimento a grande velocidade que impede a formação de cristais de gelo, reduzindo assim, os danos a nível celular (20, 26, 27). Quando comparada com o método de congelação lenta, a vitrificação é uma técnica promissora, apresentando maior taxa de sobrevivência de ovócitos (84-100%), bem como melhores resultados (fertilização, clivagem e desenvolvimento do embrião, implantação e gravidez) (23, 26, 28). Além disto, a taxa de gravidez usando ovócitos vitrificados e fertilizados *in vitro* é equiparável à da FIV usando ovócitos frescos, em mulheres saudáveis e jovens (23, 26). Embora os dados sejam limitados, não têm sido reportados aumentos de anomalias cromossómicas, defeitos ao nascimento ou resultados adversos obstétricos e neonatais, em crianças nascidas a partir de ovócitos criopreservados em relação às nascidas a partir da injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) em ovócitos frescos, e à população em geral (18).

Para aumentar a produção de ovócitos é necessária estimulação ovárica, monitorização do crescimento folicular por ecografia e doseamentos hormonais, durante cerca de duas semanas. Posteriormente, é realizada a aspiração ecoguiada de ovócitos por via transvaginal (17, 18, 23). Dada a necessidade de monitorização e recuperação de ovócitos por via vaginal, esta abordagem requer algum grau de maturidade física e psicológica (23). Como esta técnica já não é considerada experimental e, uma vez que não se tem a certeza do sucesso da criopreservação de tecido ovárico, a criopreservação de ovócitos deve ser o método preferido para a preservação da fertilidade em meninas pós-púberes (18). Pelo facto de não exigir laparoscopia é tida como menos invasiva que

a criopreservação de tecido ovárico, sendo este ponto visto como uma vantagem pela comunidade científica (17).

Tendo em conta que a depleção de ovócitos nas pacientes com ST varia após o nascimento, pode ser difícil determinar quando deve ser oferecida a possibilidade de preservação da fertilidade nestas doentes. Posto isto, alguns autores sugerem que a criopreservação de ovócitos seja oferecida logo após o início do desenvolvimento pubertário. Num estudo recente desenvolvido por Oktay *et al.* (2014) foram colhidos cerca de 7 a 21 ovócitos por doente, dos quais 51,2% eram maduros. Dos ovócitos imaturos, 17,5% foram maturados *in vitro*, aumentando a percentagem de ovócitos maduros criopreservados para 59,7% (18). Assim sendo, propõe-se que a maturação *in vitro* (MIV) seja útil para aumentar a reserva de ovócitos preservados. No mesmo estudo ficou demonstrado que a estimulação ovárica e a criopreservação de ovócitos são clinicamente viáveis para meninas selecionadas que recentemente tiveram a menarca e que estão em risco de falência ovárica prematura (18).

Ainda são poucos os casos relatados de criopreservação de ovócitos em mulheres com ST, pelo que não há certeza de quantos ovócitos necessitam de ser criopreservados para garantir uma perspetiva realista da fertilidade futura (29).

São necessários estudos mais alargados que permitam descrever melhor o grupo de candidatas a esta técnica e determinem a taxa de sucesso da criopreservação de ovócitos nestas doentes (18).

Os casos publicados de criopreservação de ovócitos em doentes com ST, foram todos realizados em pacientes com mosaïcismo e com pelo menos alguns marcadores positivos de reserva ovárica.

Na literatura não existe, ainda, referência a casos de gravidez em mulheres com ST usando este método.

### ***Criopreservação de tecido ovárico***

A criopreservação de tecido ovárico tem vindo a ser proposta como método de preservação da fertilidade futura em raparigas com doenças genéticas como a ST (19).

Este procedimento engloba a colheita laparoscópica de tecido cortical ovárico contendo folículos primordiais e primários, seguida de criopreservação imediata, posterior descongelamento no momento requerido para a fertilização e, finalmente, autotransplante do tecido ovárico com maturação *in situ* (19). Originalmente, a

criopreservação era feita por congelação lenta, porém alguns estudos têm adotado a vitrificação como método *standard*. Este último parece possibilitar uma maior sobrevivência dos ovócitos, a qual é inclusivamente comparável à do tecido ovárico fresco (30). O tecido ovárico descongelado pode ser transplantado para o seu local anatómico habitual, a fossa ovárica – transplante ortotópico, ou para outro local, como a parede abdominal – transplante heterotópico. Enquanto o transplante ovárico ortotópico permite uma concepção espontânea, o recurso a técnicas de PMA é mandatário no transplante heterotópico (21, 30).

Embora um grande número de folículos possa ser preservado através desta técnica, uma perda significativa de folículos pode ocorrer, devido à atresia durante o processo de congelação e à isquemia pós-transplante ovárico (17, 18). No entanto, esta perda tem vindo a ser minimizada pelos avanços na vitrificação e na microcirurgia (20). Por outro lado, os folículos antrais pré-ovulatórios, que contém ovócitos imaturos no estadio de vesículas germinais, não costumam sobreviver ao processo de criopreservação (17). Além disso, em doentes em risco de falência ovárica prematura por condições genéticas, é exetável uma perda de células da linha germinativa após a transplantação. Pelos motivos supracitados, a criopreservação de tecido ovárico continua a ser considerada um método experimental (18).

Tal como a criopreservação de ovócitos, esta técnica não implica a necessidade imediata de espermatozoides, preservando deste modo a autonomia reprodutiva da mulher (20). Contudo, enquanto a criopreservação de ovócitos e de embriões são métodos que unicamente preservam a fertilidade, a criopreservação de tecido ovárico permite também restabelecer a função gonadal, possibilitando a menstruação espontânea e a ovulação (18, 19, 21).

Este tem sido o método experimental mais usado para preservação da fertilidade em raparigas pré e pós-púberes, pois não exige estimulação ovárica (18). Como facilmente se compreende, só tem interesse recorrer a esta técnica antes que a atresia folicular esteja completa (31).

Existem poucos estudos realizados em crianças, sobretudo versando a síndrome em debate no presente artigo. Ainda assim, é uma técnica passível de ser realizada em qualquer idade, sem registo de complicações documentadas (19). Apesar de não existir nenhum caso de gravidez concebida a partir de tecido ovárico criopreservado na infância, esta parece ser uma técnica promissora, tendo em conta que existem pelo menos trinta

casos de nascimentos resultantes da criopreservação deste tecido em mulheres adultas (19, 20, 32).

A principal questão que se coloca relaciona-se com as circunstâncias em que deve ser considerado este método, em crianças com ST. Um estudo sueco de 2009 realizado em 57 crianças com ST propõe que esta técnica deva ser oferecida a crianças com sinais de puberdade espontânea, cariótipo em mosaico e níveis séricos de FSH e HAM normais para a idade, sugerindo que os mesmos são fatores preditivos positivos para a presença de folículos ováricos (11). Tem sido sugerido que meninas entre os 12-14 anos constituem o grupo etário ideal para esta intervenção, pois a maioria delas são capazes de compreender as possibilidades e as limitações da criopreservação de tecido ovárico, tendo um papel ativo na decisão tomada (11, 17, 23, 31). Jadoul *et al.* (2010) referem que dois dos principais desafios e objetivos dos investigadores devem ser diagnosticar a ST o mais precocemente possível e desenvolver marcadores precisos de função ovárica, pois só fazendo uma avaliação adequada da reserva ovárica, se poderá definir o melhor momento para um tratamento de preservação da fertilidade como este (19). Neste sentido, são necessárias mais pesquisas que permitam compreender se, a criopreservação de tecido ovárico prévia à puberdade aumentará a hipótese de preservar ovócitos viáveis (20).

Huang *et al.* (2008) relataram uma nova abordagem para preservação da fertilidade em raparigas púberes e mosaicos, combinando a criopreservação de tecido ovárico com a recuperação de ovócitos imaturos do tecido ovárico excisado, seguida de MIV e vitrificação dos ovócitos maduros. Neste estudo, a taxa de maturação de ovócitos *in vitro* foi de 73%, o que permite sugerir que em pacientes com mosaicismo, uma elevada percentagem de ovócitos em estadios de vesícula germinativa pode ser maturado. O mesmo indica que a colheita laparoscópica pode ser uma opção adequada para doentes que recusam procedimentos vaginais ou, para aquelas em que existe alguma preocupação relacionada com os efeitos laterais da estimulação ovárica ou relacionada com os custos (31). A MIV tem verificado ser uma opção terapêutica eficaz em muitas mulheres inférteis, com 500 casos documentados de crianças saudáveis nascidas após aplicação desta técnica (17).

Mais estudos são necessários para melhorar a eficácia da técnica de criopreservação de tecido ovárico e o uso da mesma em pacientes com ST (17).

Têm vindo a ser desenvolvidos protocolos de cultura *in vitro* a longo-prazo de tecido ovárico. Resta referir que ainda não há relatos de gestações concebidas a partir de



folículos maturados *in vitro*, que tenham sido isolados de tecido ovárico previamente criopreservado (19).

### ***Criopreservação de embriões***

A criopreservação de embriões a partir de ovócitos autólogos não tem sido oferecida como forma de preservação da fertilidade em crianças e mulheres jovens, uma vez que exige o recurso a espermatozoides para a fertilização (20).

### **Fertilização heteróloga**

A fertilização heteróloga pode ser uma opção de parentalidade, para mulheres em que não foi possível recorrer a métodos de preservação de fertilidade homóloga ou em que a Síndrome de Turner só foi diagnosticada na idade adulta.

### ***Doação de ovócitos***

Desde 1984 que a doação de ovócitos se tornou uma opção viável para mulheres com ST (8). Os ovócitos são doados voluntariamente, por dadoras anónimas ou relacionadas com uma paciente em particular, de acordo com a legislação em vigor em cada país (6). Nos programas de doação de ovócitos, as dadoras são sujeitas a um processo de estimulação ovárica, os ovócitos são fertilizados *in vitro* e, posteriormente, é transferido um embrião fresco ou descongelado para a cavidade uterina da recetora (6, 20, 22). A recetora é submetida a terapêutica hormonal de substituição em elevada dose, de forma a garantir um aumento da espessura do endométrio adequado à implantação do embrião (6).

A taxa de gravidez clínica na doação de ovócitos é similar à observada noutros grupos de recetoras, variando entre os 17 e os 46% (6, 8, 33, 34).

Em relação aos abortamentos espontâneos, séries mais antigas relatam taxas mais elevadas que as da população em geral (40 a 60% vs 12,8%) (6, 8, 15). Isto leva alguns autores a sugerir que devido a perdas de genes presentes no cromossoma X, possa existir algum defeito no endométrio que comprometa a recetividade do embrião ou, então, um útero hipoplásico e/ou hipovascularizado ou bicórneo (6, 15, 35, 36). Hovatta *et al.* (2012) propõem que a causa seja um endométrio pouco funcionante, por doses de terapêutica hormonal de substituição deficientes (8). Num estudo sobre fatores que afetam o sucesso da doação de ovócitos na ST, Khastgir *et al.* (1997) concluíram que este depende do uso

de uma dose elevada de estradiol, de uma espessura do endométrio não inferior a 6,5mm e do número de ovócitos fertilizados (indicador da qualidade do ovócito) (36). Com a melhoria da técnica, estudos mais recentes têm vindo a obter taxas de 23 a 26% (6, 15).

Um elevado risco de complicações tem sido documentado, sendo que a incidência de doenças hipertensivas da gravidez varia entre 36 a 63%, em gestantes com ST recetoras de ovócitos (33, 34). Segundo Alvaro Mercadal *et al.* (2011), estes números estão relacionados com fatores de risco inerentes à própria síndrome (anomalias do endométrio e da placenta, aumento do índice de resistência da artéria uterina) assim como, com fatores independentes para doenças hipertensivas na gestação (nuliparidade, idade materna avançada, alteração/inadequação da imunoproteção conferida pela barreira fetoplacentar por curto tempo de exposição a antigénios não-maternos). Além disso, as malformações cardiovasculares e a hipertensão crónica predispõem a maior risco de desenvolvimento de pré-eclampsia durante a gestação (6).

Um estudo retrospectivo nórdico publicado em 2013, propôs analisar os resultados obstétricos e neonatais após doação de ovócitos, de um coorte de 106 mulheres com ST. Embora não tenham sido registadas mortes, 35% das gestantes desenvolveram doença hipertensiva e 3,3% estiveram sujeitas a complicações potencialmente ameaçadoras da vida. Foi documentado um aumento considerável da incidência de doenças hipertensivas durante a gestação, o que leva os investigadores a considerarem que há subnotificação destas doenças antes da gravidez. Na única mulher com disseção da aorta, não tinham sido detetadas alterações cardiovasculares na avaliação prévia. Posto isto, os autores evidenciam a dificuldade de prever o risco de disseção e rutura da aorta durante a gestação, bem como a dificuldade de diagnóstico da mesma (33).

Outras complicações raras foram documentadas pós-doação de ovócitos em gestantes com ST, nomeadamente hemorragia pós-parto e rutura uterina (33, 37).

Uma elevada frequência de partos pré-termo (38,3%) e recém-nascidos pequenos para a idade gestacional (27,5%) foi reportada por outros estudos. Contudo, Hagman *et al.* (2013) atingiram taxas bastante inferiores (12,3% e 17,6% respetivamente), apesar da elevada incidência de doenças hipertensivas (33). Uma debilidade na vascularização do útero é apontada por alguns autores como um fator intrínseco para o baixo peso ao nascer (6). No estudo nórdico anteriormente mencionado, não foram detetadas anomalias cromossómicas e a incidência de defeitos major ao nascimento foi comparável à da FIV convencional (33).

Ainda que não tenham sido demonstradas diferenças estatisticamente significativas entre cariótipos no que diz respeito às complicações obstétricas e neonatais, considerando que existem poucas publicações sobre a gravidez na ST, poderia ser interessante determinar se o cariótipo é um fator de risco intrínseco para resultados obstétricos e neonatais.

Nas gestações espontâneas e nas que recorrem a técnicas de PMA, incluindo a doação de ovócitos, têm sido relatadas taxas de cesarianas entre os 63 e os 82% (15, 22, 33). Como principal indicação para cesariana aponta-se a desproporção fetopélvica, a qual é exetável, dada a baixa estatura e estreitamento pélvico presentes na maioria das doentes com esta síndrome (22, 35).

A doação de ovócitos apresenta um benefício relevante pelo facto de não sujeitar crianças e adolescentes a procedimentos invasivos, como os implicados na criopreservação de tecido ovárico ou ovócitos autólogos. A grande limitação deste método é que a procura de gâmetas excede a oferta. Estas circunstâncias levam muitos casais a procurar dadores familiares, o que permite que sejam mantidas algumas características da linhagem, além de que reduz a ansiedade dos retores em relação ao anonimato. Por outro lado, pode levantar algumas questões relativas ao parentesco (28). Gidoni *et al.* (2008) publicaram o primeiro caso de criopreservação de ovócitos de uma mãe, de 33 anos, para futuramente poderem ser usados pela filha, de 6 anos, com ST. Neste caso, 93,75% dos ovócitos colhidos foram vitrificados (28).

O recurso a ovócitos criopreservados tem a vantagem de não exigir sincronização entre os ciclos da dadora e da recetora, ao contrário do que é necessário quando se usam ovócitos frescos. Estudos recentes sobre doação de ovócitos em mulheres com ST mostram taxas de gravidez de 31-33% usando embriões frescos e 40-46% recorrendo a embriões descongelados, com taxas de implantação similares (17-20%) (6, 8).

### ***Transplante ovárico***

Mhatre *et al.* (2005 e 2006) descreveram dois casos de alotransplante ovárico em adolescentes com cariótipo 45, XO. No primeiro caso, foi realizado um transplante vascular ortotópico, a partir de um ovário doado pela irmã. Nesta técnica é selecionada uma grande veia ovárica, capaz de garantir uma drenagem venosa mais adequada, reduzindo, deste modo, a estase sanguínea e o risco de trombose pós-transplante. No segundo caso, dada a anatomia da vascularização (sistema de drenagem composto por

anastomose de vénulas), os investigadores optaram por realizar um transplante avascular ortotópico, cuja dadora foi a mãe da doente. Em ambos os casos, foi usada terapêutica imunossupressora, tendo sido documentado após o transplante desenvolvimento folicular, elevação significativa dos níveis prévios hormonais e menstruação espontânea. Posto isto, os autores expõem que considerando as vantagens da transplantação vascular ortotópica, este deve ser o procedimento preferido. Mas, nos casos em que tal não for possível devido à inviabilidade da vascularização, o transplante avascular pode ser realizado (21, 38).

Mais recentemente, Donnez *et al.* (2011) documentaram a primeira gravidez após transplante ortotópico de córtex ovárico entre gémeas monozigóticas com ST. Ambas as irmãs apresentavam mosaicismo 45,XO/46,XX (recetora com 12% de monossomia do cromossoma X; dadora com 23% de monossomia do cromossoma X), embora com função ovárica discordante (recetora com falência ovárica prematura antes dos 15 anos, dadora com ovários funcionantes pelo menos até aos 37 anos). Como já havia sido demonstrado, o referido estudo verificou que num transplante entre gémeas geneticamente semelhantes não é necessária imunossupressão. Além disto, os autores concluíram que a primeira menstruação ocorre mais precocemente (cerca de 1 mês) após transplante de tecido fresco do que de tecido descongelado. Com o nascimento de uma menina saudável às 38 semanas, os autores validaram o uso desta técnica em irmãs monozigóticas com ST e discordante função ovárica (13).

Como é proposto pelos casos anteriormente mencionados, o recurso a tecido ovárico viável doado por familiares pode ser uma opção a considerar nestas doentes. Além disso, Mhatre *et al.* (2006) colocam também a possibilidade de se recorrer a dadores cadáveres, ainda que a sensibilidade do ovário à anóxia limite o tempo de doação do órgão. Outra hipótese que se coloca é a transplantação de ovário proveniente de abortamentos eletivos, na medida em que os ovários fetais têm não só um elevado número de folículos primordiais ou de ovócitos, como também capacidade de maturação quando transplantados para o adulto. Ressalta-se que em qualquer uma destas últimas hipóteses é fulcral excluir doenças genéticas e infecciosas (21).

## **ACONSELHAMENTO, RISCOS E VIGILÂNCIA**

O aconselhamento sobre preservação da fertilidade, opções de parentalidade e riscos associados à gravidez deve fazer parte do acompanhamento das doentes com ST, de forma a permitir uma tomada de decisão consciente e bem informada. (23, 39).

É fundamental informar acerca dos potenciais riscos e benefícios das diferentes técnicas de preservação da fertilidade e de PMA, assim como esclarecer que o recurso a estas técnicas não constitui uma garantia da conceção (23, 39). Estes métodos devem ser realizados somente em centros especializados, e o aconselhamento deve ser individualizado (20).

Importa também reconhecer que as anomalias do cromossoma X podem ser transmitidas à descendência, resultando em maior risco de abortamento, nados-mortos, malformações congénitas ou anomalias cromossómicas (18, 40). Portanto, sempre que a opção de parentalidade envolva o uso de ovócitos autólogos deve ser considerado aconselhamento genético e diagnóstico pré-natal (40). Além disso, sempre que se recorra a técnicas de PMA em mulheres com esta síndrome, deve ser efetuado diagnóstico genético pré-implantatório (18, 23, 39).

Independentemente do método de conceção, a gestação numa mulher com ST comporta maiores riscos, que se traduzem em morbidade e mortalidade maternas e fetais acrescidas (39). Tal como já foi referido, os fetos têm maior risco de restrição de crescimento uterino, baixo peso ao nascer e prematuridade, provavelmente devido a fatores relacionados com a própria síndrome, a úteros de pequenas dimensões e ao início tardio de terapia materna com estrogénios (20). Nas mulheres com ST, a prevalência de malformações cardíacas é de cerca de 25 a 55% (28, 41). Além disso, tem sido demonstrado que o diâmetro da aorta é, em média, maior nestas doentes relativamente à população em geral. Estas anomalias cardiovasculares, a hipertensão arterial, o estado hipervolémico e hiperdinâmico, e a libertação de estrogénios induzida pela gravidez aumentam o risco de disseção da aorta. Este está estimado em cerca de 2%, o que aumenta o risco de morte para 100 vezes, sendo maior no início e no 3º trimestre da gestação (41, 42). As doenças hipertensivas da gravidez, a diabetes gestacional e o hipotireoidismo são outras das complicações mais comuns nestas gestações (39).

Posto isto, a monitorização antes e após a conceção é imperativa para excluir anomalias cardíacas e minimizar complicações durante a gravidez (6, 13).

Assim sendo, qualquer mulher com ST que manifeste desejo de engravidar deve ser avaliada e seguida por uma equipa multidisciplinar especializada, composta por um obstetra, um cardiologista, um endocrinologista, etc. (39, 43). Antes da concepção, a paciente deve ser referenciada a um cardiologista familiarizado com as anomalias cardíacas congénitas mais frequentes nesta síndrome, para ser submetida a um ecocardiograma, a uma ressonância magnética (RMN) cardíaca e a monitorização ambulatória da pressão arterial. Além disso, deve ser monitorizada a função tiroideia, hepática e renal, assim como deve ser realizado exame ginecológico, citologia cervico-vaginal e ecografia pélvica, seguida de histeroscopia em caso de suspeita de malformação (42, 43). A gravidez está contraindicada em mulheres com história de cirurgia da aorta, história de disseção da aorta, presença de dilatação da aorta com diâmetro superior a 25mm/m<sup>2</sup> ou 35mm, coartação da aorta, doença hipertensiva que não responde à terapêutica ou hipertensão portal com evidência de varizes esofágicas (43).

A fim de se evitar os riscos adicionais relacionados com gravidezes múltiplas, a transferência eletiva de um único embrião tem sido recomendada para este grupo de pacientes (17, 33). Contudo, Bodri *et al.* (2009) num estudo preliminar concluíram que a transferência eletiva de um único embrião em estado de divisão não traz resultados favoráveis, recomendando que outras estratégias, como a transferência de um único blastocisto, sejam avaliadas no futuro (44). Por outro lado, outros autores relataram taxas de nascimento por embrião transferido entre 30-33%, sendo estas comparáveis à doação de ovócitos na população em geral (33).

Durante a gravidez deve-se manter uma vigilância apertada com realização de: ecocardiograma no fim do 1º e 2º trimestres, e mensalmente no 3º trimestre; RMN cardíaca em caso de suspeita de aumento do diâmetro da aorta  $\geq 10\%$ ; tratamento agressivo da hipertensão (43).

No pós-parto, uma vez que o risco cardíaco persiste, a puérpera deve ser submetida a novo ecocardiograma. Em caso de gravidez a partir de ovócitos autólogos, o pediatra deve estar atento a sinais que indiquem ST ou SD (43).

## CONCLUSÃO

Devido a um processo de atresia folicular precoce, que se traduz em falência ovárica prematura, a maioria das doentes com ST sofre de infertilidade na idade adulta.

Das que engravidam espontaneamente, uma grande parte constituem mosaicos. A gravidez em mulheres monossômicas sugere, por um lado, que existem alelos autossômicos capazes de compensar a haploinsuficiência de genes ligados ao X envolvidos na função ovárica e, por outro lado, a hipótese de que, num mesmo indivíduo, diferentes tecidos podem expressar diferentes cariótipos. A elevada taxa de abortamentos relatada nas gestações espontâneas está, provavelmente, relacionada com fatores ovocitários.

Perante os avanços na medicina reprodutiva, têm vindo a ser propostas duas técnicas de preservação da fertilidade em meninas com esta síndrome. Para a seleção das candidatas a estes procedimentos têm sido apontados como preditores de função ovárica, sinais de puberdade espontânea, cariótipo em mosaico ou com deleções terminais do cromossoma X, presença de útero e ovários de características normais, níveis normais de FSH para a idade e níveis séricos de HAM, inibina B e/ou inibina A doseáveis. Ainda assim, são conhecidos casos de gravidez em mulheres sem estes biomarcadores. Tendo em conta que a criopreservação de ovócitos já não é considerada experimental, deve ser a técnica recomendada para preservação da fertilidade em meninas pós-púberes. Por outro lado, e ainda que como método experimental, a criopreservação de tecido ovárico pode ser realizada antes ou após a puberdade, já que não exige estimulação ovárica, sendo porém mais invasivo. Em qualquer um deles, a MIV tem sido usada para aumentar o número de ovócitos maduros vitrificados. Considerando que não existem casos de gestação em mulheres com ST com recurso a estas técnicas, salienta-se a necessidade de mais estudos que permitam selecionar melhor as candidatas bem como determinar as taxas de sucesso.

Quando as técnicas de fertilização homóloga não estão disponíveis, a doação de ovócitos e o transplante heterólogo podem constituir opções de parentalidade para estas mulheres. Inclusivamente, a taxa de gravidez recorrendo a ovócitos doados é semelhante à expetável em outros grupos de recetoras.

A coartação da aorta, as doenças hipertensivas, a prematuridade e o baixo peso ao nascer são algumas das complicações associadas à gravidez na ST, pelo que em cada caso

individual é necessário pesar os riscos e os benefícios inerentes ao desenvolvimento de uma gestação. Do mesmo modo, a avaliação por uma equipa multidisciplinar e a monitorização antes, durante e após a gravidez são mandatórias para excluir anomalias e prevenir complicações.



## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Santos V, Marcal M, Amaral D, Pina R, Lopes L, Fonseca G. [Turner syndrome. From child to adult... A multidisciplinary approach]. *Acta medica portuguesa*. 2010;23(5):873-82.
2. Alves M, Bastos M, Almeida Santos T, Carrilho F. [Gonadal function in Turner syndrome]. *Acta medica portuguesa*. 2013;26(6):655-63.
3. Laranjeira C, Cardoso H, Borges T. Síndrome de Turner. *Acta Pediátrica Portuguesa*. 2010;41(1):38-43.
4. Gonzalez L, Witchel SF. The patient with Turner syndrome: puberty and medical management concerns. *Fertility and sterility*. 2012;98(4):780-6.
5. Castronovo C, Rossetti R, Rusconi D, Recalcati MP, Cacciatore C, Beccaria E, et al. Gene dosage as a relevant mechanism contributing to the determination of ovarian function in Turner syndrome. *Human reproduction*. 2014;29(2):368-79.
6. Alvaro Mercadal B, Imbert R, Demeestere I, Englert Y, Delbaere A. Pregnancy outcome after oocyte donation in patients with Turner's syndrome and partial X monosomy. *Human reproduction*. 2011;26(8):2061-8.
7. Sybert VP. Phenotypic effects of mosaicism for a 47,XXX cell line in Turner syndrome. *Journal of medical genetics*. 2002;39(3):217-20.
8. Hovatta O. Ovarian function and in vitro fertilization (IVF) in Turner syndrome. *Pediatric endocrinology reviews : PER*. 2012;9 Suppl 2:713-7.
9. Purushothaman R, Lazareva O, Oktay K, Ten S. Markers of ovarian reserve in young girls with Turner's syndrome. *Fertility and sterility*. 2010;94(4):1557-9.
10. Visser JA, Hokken-Koelega AC, Zandwijken GR, Limacher A, Ranke MB, Fluck CE. Anti-Mullerian hormone levels in girls and adolescents with Turner syndrome are related to karyotype, pubertal development and growth hormone treatment. *Human reproduction*. 2013;28(7):1899-907.
11. Borgstrom B, Hreinsson J, Rasmussen C, Sheikhi M, Fried G, Keros V, et al. Fertility preservation in girls with turner syndrome: prognostic signs of the presence of ovarian follicles. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94(1):74-80.

12.Hagen CP, Main KM, Kjaergaard S, Juul A. FSH, LH, inhibin B and estradiol levels in Turner syndrome depend on age and karyotype: longitudinal study of 70 Turner girls with or without spontaneous puberty. *Human reproduction*. 2010;25(12):3134-41.

13.Donnez J, Dolmans MM, Squifflet J, Kerbrat G, Jadoul P. Live birth after allografting of ovarian cortex between monozygotic twins with Turner syndrome (45,XO/46,XX mosaicism) and discordant ovarian function. *Fertility and sterility*. 2011;96(6):1407-11.

14.Livadas S, Xekouki P, Kafiri G, Voutetakis A, Maniati-Christidi M, Dacou-Voutetakis C. Spontaneous pregnancy and birth of a normal female from a woman with Turner syndrome and elevated gonadotropins. *Fertil Steril*. 2005;83(3):769-72.

15.Bryman I, Sylven L, Berntorp K, Innala E, Bergstrom I, Hanson C, et al. Pregnancy rate and outcome in Swedish women with Turner syndrome. *Fertil Steril*. 2011;95(8):2507-10.

16.El-Shawarby SA, Steer CV. Spontaneous monozygotic monochorionic twin pregnancy in non-mosaic Turner's syndrome. *Int J Gynaecol Obstet*. 2007;97(2):155.

17.El-Shawarby SA, Sharif F, Conway G, Serhal P, Davies M. Oocyte cryopreservation after controlled ovarian hyperstimulation in mosaic Turner syndrome: another fertility preservation option in a dedicated UK clinic. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2010;117(2):234-7.

18.Oktay K, Bedoschi G. Oocyte cryopreservation for fertility preservation in postpubertal female children at risk for premature ovarian failure due to accelerated follicle loss in Turner syndrome or cancer treatments. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*. 2014;27(6):342-6.

19.Jadoul P, Dolmans MM, Donnez J. Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed? *Human reproduction update*. 2010;16(6):617-30.

20.Hewitt JK, Jayasinghe Y, Amor DJ, Gillam LH, Warne GL, Grover S, et al. Fertility in Turner syndrome. *Clinical endocrinology*. 2013;79(5):606-14.

21.Mhatre P, Mhatre J. Orthotopic ovarian transplant--review and three surgical techniques. *Pediatric transplantation*. 2006;10(7):782-7.

22.Hadnott TN, Gould HN, Gharib AM, Bondy CA. Outcomes of spontaneous and assisted pregnancies in Turner syndrome: the U.S. National Institutes of Health experience. *Fertility and sterility*. 2011;95(7):2251-6.

23. Oktay K, Rodriguez-Wallberg KA, Sahin G. Fertility preservation by ovarian stimulation and oocyte cryopreservation in a 14-year-old adolescent with Turner syndrome mosaicism and impending premature ovarian failure. *Fertility and sterility*. 2010;94(2):753 e15-9.
24. Manno M, Tomei F, Cervi M, Gaspardo G, Antonini-Canterin F, Nicolosi G. Homologous in vitro fertilization in Turner syndrome: insights from a case report. *Fertility and sterility*. 2009;91(4):1294 e1-4.
25. Moore AK, Lynch K, Army MJ, Grow DR. Turner mosaicism (45,X/46,XX) diagnosed in a young woman subsequent to low oocyte maturity and failed ICSI. *Fertility and sterility*. 2008;90(5):2012 e13-5.
26. Herrero L, Martinez M, Garcia-Velasco JA. Current status of human oocyte and embryo cryopreservation. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2011;23(4):245-50.
27. Rudick B, Opper N, Paulson R, Bendikson K, Chung K. The status of oocyte cryopreservation in the United States. *Fertility and sterility*. 2010;94(7):2642-6.
28. Gidoni YS, Takefman J, Holzer HE, Elizur SE, Son WY, Chian RC, et al. Cryopreservation of a mother's oocytes for possible future use by her daughter with Turner syndrome: case report. *Fertility and sterility*. 2008;90(5):2008 e9-12.
29. Balen AH, Harris SE, Chambers EL, Picton HM. Conservation of fertility and oocyte genetics in a young woman with mosaic Turner syndrome. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2010;117(2):238-42.
30. Silber SJ. Ovary cryopreservation and transplantation for fertility preservation. *Molecular human reproduction*. 2012;18(2):59-67.
31. Huang JY, Tulandi T, Holzer H, Lau NM, Macdonald S, Tan SL, et al. Cryopreservation of ovarian tissue and in vitro matured oocytes in a female with mosaic Turner syndrome: Case Report. *Human reproduction*. 2008;23(2):336-9.
32. Donnez J, Jadoul P, Pirard C, Hutchings G, Demylle D, Squifflet J, et al. Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertility and sterility*. 2012;98(3):720-5.
33. Hagman A, Loft A, Wennerholm UB, Pinborg A, Bergh C, Aittomaki K, et al. Obstetric and neonatal outcome after oocyte donation in 106 women with Turner syndrome: a Nordic cohort study. *Human reproduction*. 2013;28(6):1598-609.
34. Bodri D, Vernaev V, Figueras F, Vidal R, Guillen JJ, Coll O. Oocyte donation in patients with Turner's syndrome: a successful technique but with an accompanying high

risk of hypertensive disorders during pregnancy. *Human reproduction*. 2006;21(3):829-32.

35.Foudila T, Soderstrom-Anttila V, Hovatta O. Turner's syndrome and pregnancies after oocyte donation. *Human reproduction*. 1999;14(2):532-5.

36.Khastgir G, Abdalla H, Thomas A, Korea L, Latarche L, Studd J. Oocyte donation in Turner's syndrome: an analysis of the factors affecting the outcome. *Human reproduction*. 1997;12(2):279-85.

37.Masia F, Zoric L, Ripart-Neveu S, Mares P, Ripart J. Spontaneous uterine rupture at 14 weeks gestation during a pregnancy consecutive to an oocyte donation in a woman with Turner's syndrome. *Anaesthesia critical care & pain medicine*. 2015.

38.Mhatre P, Mhatre J, Magotra R. Ovarian transplant: a new frontier. *Transplantation proceedings*. 2005;37(2):1396-8.

39.Karnis MF. Fertility, pregnancy, and medical management of Turner syndrome in the reproductive years. *Fertility and sterility*. 2012;98(4):787-91.

40.Abir R, Fisch B, Nahum R, Orvieto R, Nitke S, Ben Rafael Z. Turner's syndrome and fertility: current status and possible putative prospects. *Human reproduction update*. 2001;7(6):603-10.

41.Chalas Boissonnas C, Davy C, Marszalek A, Duranteau L, de Ziegler D, Wolf JP, et al. Cardiovascular findings in women suffering from Turner syndrome requesting oocyte donation. *Human reproduction*. 2011;26(10):2754-62.

42.Boissonnas CC, Davy C, Bornes M, Arnaout L, Meune C, Tsatsatris V, et al. Careful cardiovascular screening and follow-up of women with Turner syndrome before and during pregnancy is necessary to prevent maternal mortality. *Fertility and sterility*. 2009;91(3):929 e5-7.

43.Cabanès L, Chalas C, Christin-Maitre S, Donadille B, Felten ML, Gaxotte V, et al. Turner syndrome and pregnancy: clinical practice. Recommendations for the management of patients with Turner syndrome before and during pregnancy. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2010;152(1):18-24.

44.Bodri D, Guillen JJ, Schwenn K, Casadesus S, Vidal R, Coll O. Poor outcome in oocyte donation after elective transfer of a single cleavage-stage embryo in Turner syndrome patients. *Fertility and sterility*. 2009;91(4 Suppl):1489-92.